

Università degli studi di Verona

Scuola di Dottorato Scienze della Vita e della Salute
Corso di Dottorato in Scienze Biomediche Cliniche e Sperimentali
XXXIV Ciclo/aa 2018

**LA FISIOPATOLOGIA DELLA NEUROFLOGOSI ED IL
RUOLO DEL TESSUTO OSSEO NELLA PATOGENESI
DELLA SINDROME ALGODISTROFICA**

S.S.D MED/16 REUMATOLOGIA

Coordinatore: Chiar. mo Prof. **Giovanni Targer**

Tutor: Chiar. mo Prof. **Davide Gatti**

Dottorando:

Dr.ssa **Chiara Crotti**

Matricola n. VR431381



Indice

1. Abstract	2
2. Introduzione	4
3. Materiale e Metodi	7
4. Risultati	7
5. Discussione	9
6. Conclusioni	12
7. Figure	13
8. Tabella	15
9. Bibliografia	16

Abstract

Scopo del lavoro: Il dolore è una delle caratteristiche peculiari della Sindrome Algodistrofica (Complex Regional Pain Syndrome 1; CRPS1). Il Nerve Growth Factor (NGF) è un mediatore della percezione dolorosa. Nei modelli murini di CRPS1, è stata rilevata un'aumentata espressione locale di NGF e la somministrazione di anticorpi monoclonali anti-NGF è efficace nel ridurre l'entità del dolore e i livelli di NGF a livello cutaneo e osseo. Il tessuto osseo avrebbe un ruolo fondamentale nell'innescare di malattia attraverso alcuni mediatori: sclerostina (SOST) e Dickkopf-related protein-1 (DKK-1). Lo scopo di questo lavoro è stato valutare i livelli sierici di NGF, SOST, e DKK-1 prelevati dall'arto affetto dei pazienti con CRPS1 e di confrontarlo con i livelli del lato non affetto e quelli di una popolazione di soggetti sani.

Materiali e metodi: Da Novembre 2018 ad Aprile 2022 sono stati arruolati i pazienti di età ≥ 18 anni, affetti da CRPS1 all'arto superiore (diagnosi clinica formulata secondo i criteri IASP 2012), afferenti ad un Centro di Terzo livello e sottoposti a prelievo di sangue refluo dalla vena basilica dell'arto affetto e non affetto. I livelli sierici di NGF, SOST e DKK-1 dei pazienti e di una popolazione sana di controllo pareggiata per sesso ed età sono stati dosati mediante ELISA. I confronti tra pazienti e controlli sono stati effettuati con test T Student, il confronto tra lato affetto e non affetto con il Wilcoxon test per dati appaiati e la correlazione di Pearson è stata usata per indagare le relazioni tra NGF, SOST e DKK-1 e le variabili cliniche e demografiche.

Risultati: Sono stati arruolati 114 pazienti: 70.2% donne, età media alla diagnosi [\pm deviazione standard] 61.9 ± 8.4 anni, durata mediana di malattia 67 giorni [range interquartile 14.0; 22.5]; 65.8% avevano una frattura quale evento predisponente, lo score VAS dolore medio (0-100) era 57.8 ± 18.6 mm. I livelli di NGF erano 12.0 ± 28.8 e 11.4 ± 35.5 (pg/mL) nel lato affetto e non affetto e 13.5 ± 55.0 nei controlli sani. NGF è risultato indosabile in molti pazienti. Anche se non sono state trovate differenze significative tra pazienti e controlli sani, i livelli di NGF erano significativamente correlati allo score VAS dolore ($p=0.04$). I livelli medi di SOST sono risultati

significativamente più alti rispetto ai controlli sani pareggiati per sesso ed età ($28,6 \pm 14,5$ vs $20,5 \pm 7,9$ pmol/L, $p=0,003$, Figura 2a). Analogamente, i livelli medi di DKK1 sono risultati significativamente più alti rispetto ai controlli sani ($18,6 \pm 21,2$ vs $9,4 \pm 3,8$ pmol/L, $p=0,0001$). Nei pazienti che riconoscevano quale evento predisponente una frattura, i livelli di SOST e DKK1 ($21,5 \pm 24,0$ vs $9,4 \pm 3,8$ pmol/L, $p=0,0001$) sono risultati significativamente più alti rispetto ai controlli sani, rispettivamente $27,7 \pm 13,3$ vs $20,5 \pm 7,9$ pmol/L, $p=0,008$ e $21,5 \pm 24,0$ vs $9,4 \pm 3,8$ pmol/L, $p=0,0001$. Nei pazienti che riconoscevano quale evento predisponente un evento traumatico, i livelli di SOST e DKK1 sono risultati significativamente più alti rispetto ai controlli sani, rispettivamente $28,2 \pm 14,0$ vs $20,5 \pm 7,9$ pmol/L, $p=0,005$ e $20,2 \pm 23,2$ vs $9,4 \pm 3,8$ pmol/L, $p=0,0001$.

Conclusioni: Questo è il primo lavoro che valuta i livelli sierici di NGF, SOST e DKK-1 nella CRPS1 umana. NGF si conferma un mediatore della sintomatologia dolorosa, correlando con lo score VAS dolore. Il nostro lavoro per primo documenta livello sierici elevati di SOST e DKK1, a conferma del ruolo centrale del tessuto scheletrico nell'innescare del processo fisiopatologico in corso di CRPS1. Ulteriori studi sono necessari per chiarire questi risultati preliminari e per valutarne il ruolo di un potenziale target terapeutico.

Introduzione

La sindrome algodistrofica (Complex Regional Pain Syndrome, CRPS) è una patologia caratterizzata da un'intensa sintomatologia dolorosa più spesso a carico di un'estremità (mano o piede), accompagnata da segni locali di flogosi (edema, calore, eritema), alterazioni sensitive (allodinia, iperalgesia) e limitazione funzionale. Secondo l'attuale classificazione, la CRPS è riconosciuta in due forme: la CRPS1, la sindrome algodistrofica secondo la classica definizione, e la CRPS2, che riconosce come evento patogenetico una lesione neurologica individuabile strumentalmente e precedentemente denominata causalgia (1, 2). Generalmente, la CRPS1 è più frequente nella popolazione femminile, con un rapporto variabile tra 2:1 e 4:1 e nella fascia d'età compresa tra la IV e VI decade di vita, con un'incidenza di 26,2/100.000/nuovi casi/anno (3). Circa i ¾ dei casi (dal 50 al 75%) riconosce un trauma quale evento scatenante (per es. frattura, distorsione, intervento chirurgico, microtraumatismo reiterato), indipendentemente dalla gravità dello stesso, e che può interessare il tessuto osseo, l'apparato tendineo-legamentoso o i tessuti molli (3). La frattura che più frequentemente si associa alla comparsa di una CRPS1 è la frattura del radio distale (frattura di Colles), che epidemiologicamente è più di frequente riscontro nelle donne nelle due decadi immediatamente successive alla menopausa (4). È dibattuto il ruolo ricoperto dall'immobilizzazione protratta, che può seguire il traumatismo quale evento predisponente (5), in una percentuale variabile (10-26% a seconda delle casistiche), non si riconosce un evento patogeneticamente connesso con l'esordio di malattia.

I meccanismi eziopatogenetici ipotizzati sono molteplici, complessi e non ancora perfettamente conosciuti. Attualmente le evidenze più rilevanti identificano i processi di neuroflogosi locale quali eventi patogeneticamente connessi con le manifestazioni cliniche iniziali di malattia, e cioè l'edema, l'alterato microcircolo, l'aumento della temperatura locale e della sudorazione. In particolare, è stato dimostrato che in modelli murini di CRPS-1 vi sia anche un'elevata concentrazione locale di Nerve Growth Factor (NGF), potenzialmente implicato nei meccanismi di genesi e trasmissione del dolore (6, 7) e nell'induzione della produzione citochinica locale (8). Il

rilascio locale di neuropeptidi e di alcune citochine proinfiammatorie può rappresentare l'evento che successivamente innesca e mantiene le prime fasi di malattia (9). In seguito, il disturbo del microcircolo mediato dalla liberazione retrodromica di neuromediatori polipeptidici (sostanza P - SP- e calcitonin gene related peptide -CGRP-) e il l'alterato microcircolo sembrano essere i responsabili dell'evoluzione clinica verso la riduzione dell'edema, la comparsa della subcianosi e la riduzione del termotatto. Oltre al sopracitato coinvolgimento del sistema nervoso e del microcircolo, il tessuto osseo sembra rivestire un ruolo di primaria importanza nelle fasi iniziali di malattia (10). Ad oggi, l'unico trattamento per il quale vi sono solide dimostrazioni di efficacia è quello che prevede la somministrazione di bisfosfonati (BPS) endovenosi (11, 12) e la loro efficacia non è legata alla nota attività anti-riassorbitiva diretta contro gli osteoclasti, riscontro non osservabile in corso di CRPS1, quanto piuttosto ad altri meccanismi di azione interferenti con il processo di neuroflogosi che i BPS sono in grado di esercitare quando raggiungono elevate concentrazioni locali, come accade in corso di CRPS1 durante la fase iniziale di malattia (13). Grazie infatti allo sviluppo dei modelli animali sufficientemente evocativi di CRPS1 umana, è stato possibile individuare come il rilascio di neuropeptidi e la liberazione locale di citochine proinfiammatorie rappresenti l'evento in grado di innescare e mantenere le prime fasi di malattia, quando l'iperalgisia, l'allodinia, l'edema e l'aumento del termotatto sono le caratteristiche peculiari (14) e di come i BPS siano in grado di interferire con tali manifestazioni.

Uno studio condotto su modelli murini di CRPS1 ha documentato come in corso di malattia vi sia un'aumentata espressione locale di NGF mRNA in concentrazioni sei volte maggiori nel gruppo con CRPS1 indotta da frattura rispetto ad un gruppo di controllo; inoltre, gli stessi autori hanno riscontrato elevati livelli di NGF sia nel tessuto osseo, nell'omogenizzato di nervo sciatico e localmente nella cute dei ratti affetti da CRPS. Infine, la somministrazione di anticorpi monoclonali anti-NGF si è dimostrata efficace nel ridurre i livelli di NGF nei due tessuti analizzati, cute e osso (6). Inoltre, uno studio su modelli animali di CRPS ha dimostrato che i BPS sono in grado di ridurre

significativamente l'espressione tissutale di NGF, parallelamente ai segni di flogosi legati alla malattia (7).

Un altro aspetto ampiamente dibattuto riguardo alla patogenesi della CRPS è il ruolo ricoperto dal tessuto osseo; pur non conoscendo appieno i meccanismi fisiopatologici che sottendono la CRPS, è forte il convincimento che il tessuto osseo giochi un ruolo preponderante, soprattutto durante le fasi iniziali di malattia (10). A supporto di questa teoria, ci sono alcune segnalazioni circa una maggiore frequenza di CRPS nei soggetti con fragilità scheletrica (es. *osteogenesis imperfecta*) (15) e nei soggetti affetti da osteoporosi (16) ove, l'elevata incidenza di CRPS può essere riferita alla fragilità scheletrica e alla più elevata incidenza di eventi (micro)fratturativi. Ancora, l'osteoprotegerina, molecola coinvolta nella regolazione del RANK/RANKL, è iperespressa in corso di CRPS1 (17). È pertanto ipotizzabile che in corso di CRPS si possa osservare un'alterazione locale del metabolismo osseo e quindi dei sistemi di regolazione del rimodellamento scheletrico.

Un aspetto a tutt'oggi inesplorato è una possibile alterazione della produzione locale di Sclerostina (SOST) e di Dickkopf-related protein 1 (DKK1), mediatori coinvolti nella regolazione del metabolismo osseo mediata dal sistema Wnt. Dati su modelli animali hanno documentato un incremento dell'espressione di SOST a livello osseo in assenza di carico, con conseguente sviluppo di osteopenia locale (18). I pochi studi istopatologici documentano una precoce apoptosi della popolazione osteocitaria locale e tale riscontro potrebbe rappresentare il substrato anatomopatologico di un'interferenza con il sistema SOST/DKK1.

Lo scopo di questo studio è stato di analizzare il ruolo della neuroflogosi e di possibile alterato metabolismo osseo nella patogenesi della CRPS1 valutando le concentrazioni plasmatiche di NGF, DKK1 e SOST in corso di CRPS, confrontandole con quelle riscontrate nell'arto affetto rispetto all'antimero non affetto ed infine confrontando tali riscontri con una popolazione di soggetti sani.

Materiali e Metodi

Da Novembre 2018 ad Aprile 2022 sono stati arruolati i pazienti di età ≥ 18 anni, affetti da CRPS1 all'arto superiore (diagnosi clinica formulata secondo i criteri IASP 2012) (1), in terapia con solo analgesici minori e/o FANS (paracetamolo, ibuprofene, ketoprofene, naprossene, diclofenac, indometacina, celecoxib) per la patologia in studio e afferenti ad un Centro di terzo livello per lo studio e il trattamento della CRPS1. Sono stati esclusi i pazienti con precedente diagnosi di CRPS1, precedente terapia con BPS, anamnesi positiva per patologie metaboliche dell'osso, reumatologiche e neurologiche e pazienti incapaci di esprimere un consenso informato valido. I pazienti sono stati sottoposti a prelievo di sangue refluo dalla vena basilica dell'arto affetto e dell'arto non affetto. Sono stati dosati i livelli sierici di NGF, SOST e DKK1 dei pazienti e di soggetti sani pareggiati per sesso ed età.

Le concentrazioni sieriche di NGF, SOST e DKK1 sono state dosate con kit ELISA, rispettivamente RayBio, Norcross, GA e Biomedica Medizinprodukte GmbH & Co Kg, Wien, Austria.

Nella letteratura scientifica l'espressione di NGF in corso di CRPS1 è stata valutata solo su modelli animali. Pertanto, in assenza di valori di riferimento nell'uomo (distribuzione normale e deviazione standard), non si è potuto effettuare un calcolo di numerosità campionaria e si è quindi deciso di includere nello studio in via preliminare, a scopo esplorativo, almeno 40 pazienti sulla stima presunta delle potenzialità di reclutamento e delle dimensioni del bacino di utenza.

I confronti tra pazienti e controlli sono stati effettuati con test T Student, il confronto tra lato affetto e non affetto con il Wilcoxon test per dati appaiati e la correlazione di Pearson è stata usata per indagare le relazioni tra NGF, SOST e DKK-1 e le variabili cliniche e demografiche.

Risultati

Sono stati arruolati 114 pazienti in totale. L'età media (\pm deviazione standard, DS) era di $61,9 \pm 8,4$ anni, maschi/femmine 34/80. La durata di malattia mediana (\pm range interquartile, IQR), intesa

come data dall'esordio dei sintomi la data del prelievo, era di 67 giorni (IQR: 14; 22,5). Tutti i pazienti sono stati arruolati in fase precoce di malattia, ovvero con caratteristiche cliniche compatibili con una forma in fase flogistica. La Tabella 1 descrive le caratteristiche della popolazione in studio. Sono stati inoltre reclutati 45 soggetti sani, pareggiati per sesso ed età con i pazienti affetti da CRPS1 (età media $62 \pm 7,2$ anni, 13 maschi (28,9%)).

La concentrazione di NGF è stata condotta esplorativamente su 41 pazienti ed è risultata al di sotto del limite minimo di detezione del kit impiegato in 20 pazienti e in 24 controlli sani. Il valore di NGF medio della popolazione malata è stato di $12,0 \pm 28,8$ pg/mL nel lato affetto (mediana \pm IQR: $0,03 \pm 0-7,2$) e di $11,4 \pm 35,5$ nel lato non affetto ($0,0 \pm 0-5,9$). Il dosaggio medio di NGF nel gruppo di controllo è stato di $13,5 \pm 55,0$ pg/mL ($0,0 \pm 0-3,4$). Non sono state osservate differenze significative di concentrazione tra lato affetto e non affetto ($p=0,81$), né tra pazienti e controlli sani ($p=0,54$), né tra lato sano di pazienti affetti e popolazione di controllo ($p=0,86$). La concentrazione di NGF è stata valutata in relazione alla durata di malattia, senza riscontro di una significativa correlazione (Spearman's rank correlation coefficient= $0,24$, $p=0,12$).

I livelli di NGF sono stati documentati significativamente correlati allo score VAS dolore ($p=0,04$), come riportato in Figura 1.

I livelli di SOST e DKK1 sono stati dosati sull'intera popolazione. I livelli medi di SOST sono risultati significativamente più alti rispetto ai controlli sani pareggiati per sesso ed età ($28,6 \pm 14,5$ vs $20,5 \pm 7,9$ pmol/L, $p=0,003$, Figura 2a). Analogamente, i livelli medi di DKK1 sono risultati significativamente più alti rispetto ai controlli sani ($18,6 \pm 21,2$ vs $9,4 \pm 3,8$ pmol/L, $p=0,0001$, Figura 2b).

Nei pazienti che riconoscevano quale evento predisponente una frattura, i livelli di SOST e DKK1 ($21,5 \pm 24,0$ vs $9,4 \pm 3,8$ pmol/L, $p=0,0001$) sono risultati significativamente più alti rispetto ai controlli sani, rispettivamente $27,7 \pm 13,3$ vs $20,5 \pm 7,9$ pmol/L, $p=0,008$ e $21,5 \pm 24,0$ vs $9,4 \pm 3,8$ pmol/L, $p=0,0001$ (Figura 2c e 2d).

Nei pazienti che riconoscevano quale evento predisponente una frattura e/o un trauma, i livelli di SOST e DKK1 sono risultati significativamente più alti rispetto ai controlli sani, rispettivamente $28,2 \pm 14,0$ vs $20,5 \pm 7,9$ pmol/L, $p=0,005$ e $20,2 \pm 23,2$ vs $9,4 \pm 3,8$ pmol/L, $p=0,0001$ (Figura 2e e 2f).

Discussione

Il nostro è stato lo studio che per la prima volta ha indagato i livelli sierici di NGF nei pazienti affetti da CRPS1 dimostrando la possibile correlazione tra i livelli sierici di NGF e l'intensità della sintomatologia dolorosa. Inoltre, documenta un dato mai segnalato precedentemente in Letteratura, ovvero il coinvolgimento e un possibile ruolo patogenetico di due mediatori del metabolismo osseo, SOST e DKK1, in corso di CRPS1.

Sebbene non si siano dimostrati valori significativamente incrementati di NGF né a livello del lato affetto dei soggetti con CRPS1, né confrontando i valori tra pazienti e controlli sani, rimane forte il razionale che suggerisce un'azione di tale neurotrofina in corso di CRPS1 per diverse ragioni.

Innanzitutto, il dolore rimane il sintomo cardine e fondamentale in questa malattia e, per tale ragione, ipotizzare un coinvolgimento dell'NGF appare giustificato. NGF è in grado di innescare e mantenere lo stimolo doloroso: regola a livello trascrizionale numerosi geni coinvolti nel processo nocicettivo sia livello recettoriale (trpV1 e ASIC3), a livello dei canali ionici per il Sodio e il Calcio; possiede inoltre un ruolo regolatore della sintesi di neurotrasmettitori come SP e CGRP (19) il cui coinvolgimento nelle dinamiche patogenetiche della CRPS è ampiamente documentato (17, 20, 21). Infine, NGF possiede la capacità di stimolare la crescita assonale col processo definito *sprouting*, fenomeno reputato di importanza fondamentale nell'induzione e nella persistenza degli stimoli dolorosi (22); tale ruolo può essere altresì desunto dal riscontro locale di concentrazioni elevate di NGF in corso di patologie ad impronta flogistica o autoimmune (23). Anche in corso di CRPS1 ci sono dati derivanti dai modelli sperimentali che confermano un incremento significativo

di NGF in corso di malattia (6, 24, 25). Sebbene il razionale che sottende il ruolo fisiopatologico di NGF in corso di CRPS1 sia forte, occorre confrontare tali risultanze con i risultati ottenuti dal nostro studio. Va considerata come prima cosa la quota di pazienti in cui NGF è risultato indosabile, forse in ragione del materiale biologico usato per il campionamento. Nei modelli murini, infatti, il dosaggio di NGF non era effettuato su siero, come nel nostro studio, bensì derivava da biopsie cutanee dell'arto affetto, utilizzando metodiche di real-time PCR per ottenere livelli di mRNA adeguati, oppure direttamente dal tessuto osseo ottenuto dall'arto affetto, o su omogenizzato di nervo sciatico (6, 7, 24). In ragione di ciò, non è possibile escludere che la sensibilità dei kit impiegati per il dosaggio di NGF non presenti livelli tali da consentirne l'individuazione per concentrazioni molto verosimilmente inferiori in ragione della diluizione che tale molecola presenta una volta immessa nel torrente circolatorio.

Un altro punto da analizzare riguarda la cinetica di produzione di NGF.

Un lavoro su modelli murini di CRPS indotta da frattura di tibia ha dimostrato che l'iperpressione locale di NGF si associava ad una significativa variazione della sintomatologia dolorosa a 4 settimane dall'esordio di malattia, non più evidente a 16 settimane (24). Sempre in modelli murini si è dimostrato che l'iniezione di sostanza P nella cute della zampa posteriore di un ratto normale induceva una sensitivizzazione nocicettiva persistente, con attivazione dei cheratinociti, successiva iperpressione di TNF α , IL-1 e IL-6 (tra la 1 e la 3 ora dopo l'iniezione), e di neurotrofine come NGF (entro le 6-24 ore successive all'iniezione) (25). Pertanto, pur non essendo al momento possibile conoscere la cinetica di produzione dell'NGF nell'uomo in corso di CRPS1, dai modelli animali disponibili in letteratura NGF appare come un mediatore estremamente precoce nella dinamica patogenetica della malattia, destinato a regredire precocemente nelle settimane successive all'esordio. A tal proposito, la nostra casistica raccoglieva una popolazione con durata di malattia breve, ma con una mediana di almeno un paio di mesi, forse un intervallo troppo lungo per individuare livelli ancora dosabili di tale mediatore.

Nella nostra casistica NGF si conferma comunque un mediatore coerente con l'entità della sintomatologia dolorosa; i suoi livelli infatti correlano significativamente con il punteggio VAS dolore, ovvero a tutt'oggi lo strumento più attendibile per misurare l'intensità della sintomatologia dolorosa.

In ragione dell'assenza di valori di riferimento e nell'assenza di riscontri nonostante l'arruolamento di oltre 40 pazienti, si è deciso di non estendere ulteriormente il dosaggio di NGF a tutta la popolazione oggetto dello studio.

Quali mediatori del metabolismo osseo in corso di CRPS1, la nostra attenzione si è concentrata su SOST e DKK-1, inibitori naturali del sistema Wnt- β catenina. Secondo alcuni dati sperimentali vi è un incremento di SOST e DKK1 in corso di immobilizzazione, che è un evento comune anche in corso di CRPS1, soprattutto nei pazienti che sviluppano la malattia a seguito di un evento scatenante traumatico (26). L'aumento di SOST e DKK-1 genera un'inibizione della neoformazione ossea, mediata dal sistema Wnt, che si esprime con un quadro di osteoporosi, coerentemente con il dato della radiologia tradizionale e degli studi densitometrici riportato in corso di CRPS (27, 28).

Infine, dati su modelli sperimentali di artrite suggeriscono un incremento della produzione locale di SOST e DKK-1, come conseguenza della flogosi (29, 30); infatti, in corso di CRPS1, è riscontrata un'iperproduzione di citochine proflogogene (31, 32). Ad oggi non sono disponibili dati sui livelli di SOST e DKK1 in corso di CRPS1 né su modelli animali, né sull'uomo. Un altro stimolo alla produzione di SOST potrebbe essere rappresentato dal milieu citochinico proflogogeno che viene documentato in corso di CRPS, analogamente a quanto già riscontrato in altre patologie come l'artrite sperimentale (24, 31). Anche per DKK1 esistono evidenze provenienti da modelli animali di un suo aumento in ambiente infiammatorio (30), come ribadito esser presente in corso di CRPS1. Il nostro studio presenta alcuni limiti. Innanzitutto, vi è il dato che in alcuni pazienti NGF è risultato indosabile: questo potrebbe dipendere dalla scelta di dosare questo mediatore su siero, anziché su cute, tessuto osseo o nervoso. Questo limite va tuttavia considerato insieme alle inevitabili difficoltà a proporre un'indagine invasiva e dolorosa in pazienti che già presentano un elevato impegno

algico. Rimangono quindi i limiti connessi all'impossibilità di ottenere analogo campionamento rispetto ai modelli sperimentali nella popolazione di malati affetti da CRPS1. Si potrebbe tuttavia ipotizzare in futuro un dosaggio di NGF su biopsia cutanea di pazienti affetti da CRPS1 o per il tramite di una microdialisi transcutanea. In subordine, la scelta di effettuare un prelievo di sangue refluo dall'arto affetto e dall'arto non affetto ha limitato la nostra casistica alla sola localizzazione all'arto superiore, impedendo quindi eventuali inferenze alle forme di CRPS1 di piede. Da ultimo, il disegno cross-sectional dello studio non ha permesso una valutazione longitudinale dell'andamento dei mediatori testati nel singolo paziente e nella popolazione in studio, in ragione del fatto che avrebbe imposto un intervallo di osservazione in assenza di trattamento non consono ai principi della buona pratica clinica.

Conclusioni

Il nostro studio analizza per la prima volta nell'uomo i livelli sierici di NGF, SOST e DKK-1 in corso di CRPS1. Seppur non significativamente incrementato rispetto ai controlli sani, NGF si conferma un mediatore della sintomatologia dolorosa, correlando con lo score VAS dolore. Il nostro lavoro per primo documenta livello sierici elevati di SOST e DKK1, a conferma del ruolo centrale del tessuto scheletrico nell'innescare del processo fisiopatologico in corso di CRPS1. Ulteriori studi sono necessari per chiarire questi risultati preliminari e per valutarne il ruolo di un potenziale target terapeutico.

Figure

Figura 1. Correlazione dei livelli di NGF e VAS dolore

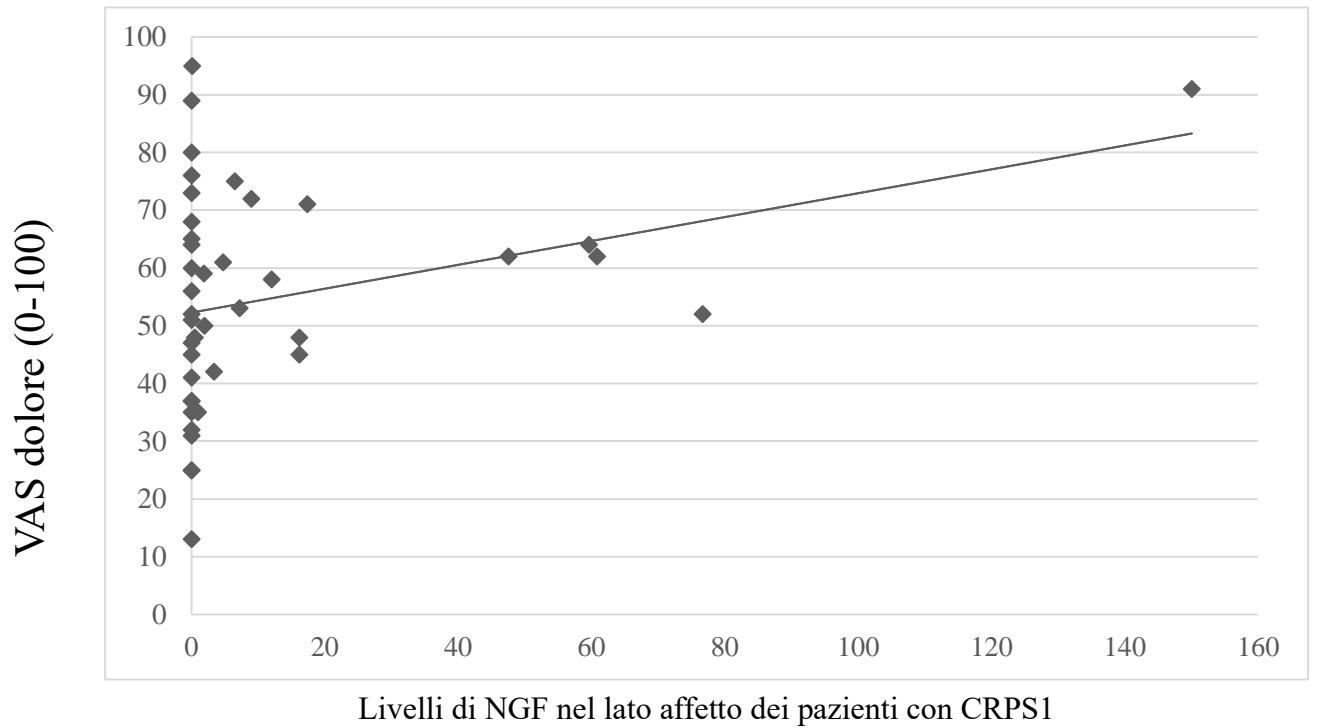
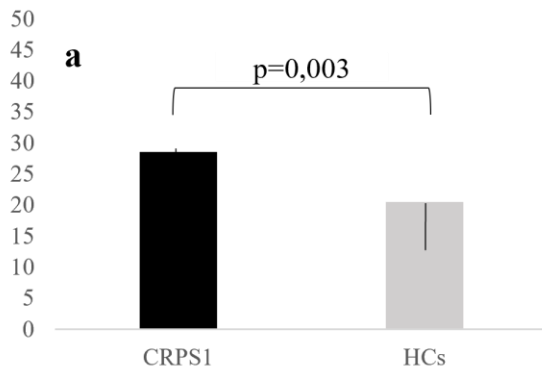
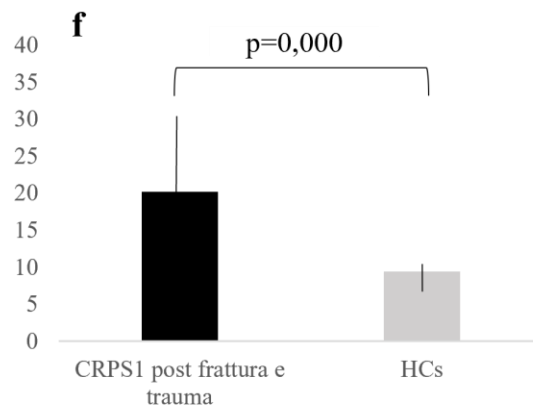
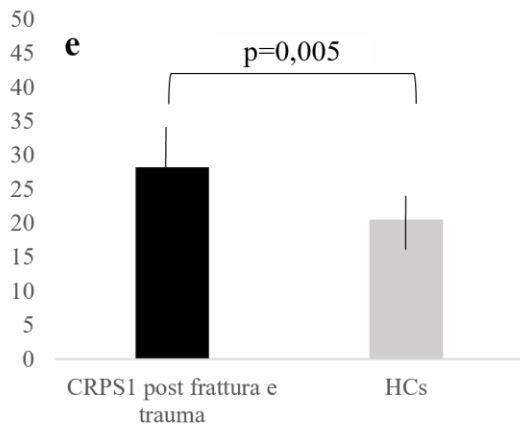
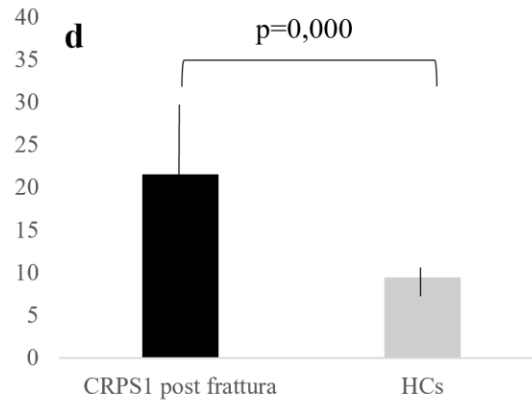
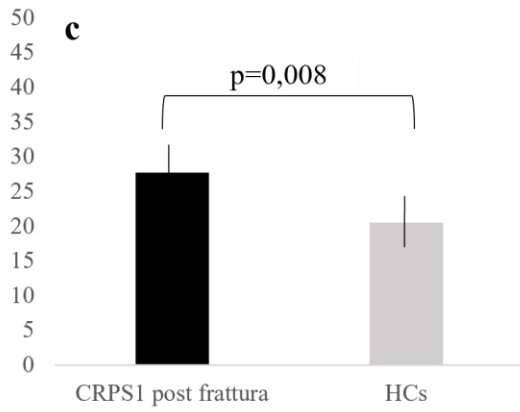
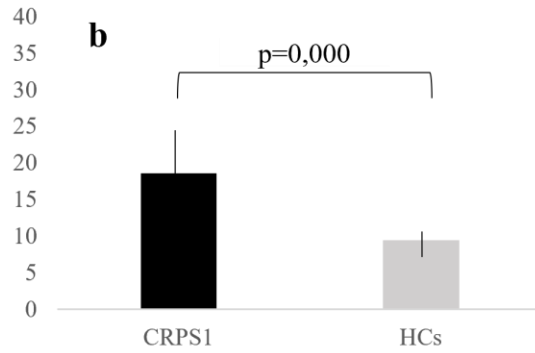


Figura 2 Livelli medi di sclerostina (SOST) e DKK1 nella popolazione affetta da CRPS-1 rispetto alla popolazione di controllo (HCs) (Figura 2 a,b), nei soggetti affetti da CRPS post frattura (Figura 2 c,d) e nei pazienti affetti da CRPS1 post frattura e trauma (Figura 2 e, f).

SOST pmol/L



DKK1 pmol/L



Tabella

Tabella 1. Caratteristiche demografiche e cliniche della popolazione di 114 pazienti affetti da CRPS-1.

Caratteristiche dei pazienti	
Età, anni (media±DS)	60,3±9,8
Maschi/Femmine, N (%)	34 (29,8%)/80 (70,2%)
Durata di malattia, giorni (mediana, IQR)	67 (14; 22,5)
Evento predisponente, N (%)	
- frattura	75 (65,8%)
- trauma	9 (7,9%)
- sconosciuto	8 (7,0%)
- altro	22 (19,3%)
Intensità del dolore, VAS, (media±DS) (0-100 mm)	57,8 ± 18,6

DS: deviazione standard; N: numero, IQR: range interquartile; CRPS-1: complex regional pain syndrome tipo 1; VAS: visual analogic scale.

Bibliografia

1. Harden RN, Oaklander AL, Burton AW, Perez RS, Richardson K, Swan M, et al. Complex regional pain syndrome: practical diagnostic and treatment guidelines, 4th edition. *Pain Med.* 2013;14(2):180-229.
2. Harden NR, Bruehl S, Perez R, Birklein F, Marinus J, Maihofner C, et al. Validation of proposed diagnostic criteria (the "Budapest Criteria") for Complex Regional Pain Syndrome. *Pain.* 2010;150(2):268-74.
3. de Mos M, de Bruijn AG, Huygen FJ, Dieleman JP, Stricker BH, Sturkenboom MC. The incidence of complex regional pain syndrome: a population-based study. *Pain.* 2007;129(1-2):12-20.
4. Dijkstra PU, Groothoff JW, ten Duis HJ, Geertzen JH. Incidence of complex regional pain syndrome type I after fractures of the distal radius. *Eur J Pain.* 2003;7(5):457-62.
5. Field J, Protheroe DL, Atkins RM. Algodystrophy after Colles fractures is associated with secondary tightness of casts. *J Bone Joint Surg Br.* 1994;76(6):901-5.
6. Sabsovich I, Wei T, Guo TZ, Zhao R, Shi X, Li X, et al. Effect of anti-NGF antibodies in a rat tibia fracture model of complex regional pain syndrome type I. *Pain.* 2008;138(1):47-60.
7. Wang L, Guo TZ, Hou S, Wei T, Li WW, Shi X, et al. Bisphosphonates Inhibit Pain, Bone Loss, and Inflammation in a Rat Tibia Fracture Model of Complex Regional Pain Syndrome. *Anesth Analg.* 2016;123(4):1033-45.
8. Seidel MF, Herguijuela M, Forkert R, Otten U. Nerve growth factor in rheumatic diseases. *Semin Arthritis Rheum.* 2010;40(2):109-26.
9. Maihofner C, Seifert F, Markovic K. Complex regional pain syndromes: new pathophysiological concepts and therapies. *Eur J Neurol.* 2010;17(5):649-60.
10. Varena M, Crotti C. Bisphosphonates in the treatment of complex regional pain syndrome: is bone the main player at early stage of the disease? *Rheumatol Int.* 2018;38(11):1959-62.

11. Fassio A, Mantovani A, Gatti D, Rossini M, Viapiana O, Gavioli I, et al. Pharmacological treatment in adult patients with CRPS-I: A systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials. *Rheumatology (Oxford)*. 2022.
12. Varena M, Adami S, Rossini M, Gatti D, Idolazzi L, Zucchi F, et al. Treatment of complex regional pain syndrome type I with neridronate: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Rheumatology (Oxford)*. 2013;52(3):534-42.
13. Varena M, Zucchi F. Algodystrophy: recent insight into the pathogenic framework. *Clin Cases Miner Bone Metab*. 2015;12(1):27-30.
14. Kingery WS. Role of neuropeptide, cytokine, and growth factor signaling in complex regional pain syndrome. *Pain Med*. 2010;11(8):1239-50.
15. Bouvier M, Colson F, Noel E, Tebib JG, Felman C. Two new case-reports of reflex sympathetic dystrophy syndrome in patients with osteogenesis imperfecta. Review of the literature. *Rev Rhum Engl Ed*. 1997;64(3):202-4.
16. de Mos M, Huygen F, Dieleman JP, Koopman J, Stricker CBH, Sturkenboom M. Medical history and the onset of complex regional pain syndrome (CRPS). *Pain*. 2008;139(2):458-66.
17. Coderre TJ, Bennett GJ. A hypothesis for the cause of complex regional pain syndrome-type I (reflex sympathetic dystrophy): pain due to deep-tissue microvascular pathology. *Pain Med*. 2010;11(8):1224-38.
18. Robling AG, Niziolek PJ, Baldrige LA, Condon KW, Allen MR, Alam I, et al. Mechanical stimulation of bone in vivo reduces osteocyte expression of Sost/sclerostin. *J Biol Chem*. 2008;283(9):5866-75.
19. Khan N, Smith MT. Neurotrophins and Neuropathic Pain: Role in Pathobiology. *Molecules*. 2015;20(6):10657-88.
20. Birklein F, Schmelz M, Schifter S, Weber M. The important role of neuropeptides in complex regional pain syndrome. *Neurology*. 2001;57(12):2179-84.

21. Schinkel C, Gaertner A, Zaspel J, Zedler S, Faist E, Schuermann M. Inflammatory mediators are altered in the acute phase of posttraumatic complex regional pain syndrome. *Clin J Pain*. 2006;22(3):235-9.
22. Zhou XF, Deng YS, Chie E, Xue Q, Zhong JH, McLachlan EM, et al. Satellite-cell-derived nerve growth factor and neurotrophin-3 are involved in noradrenergic sprouting in the dorsal root ganglia following peripheral nerve injury in the rat. *Eur J Neurosci*. 1999;11(5):1711-22.
23. Skaper SD. Nerve growth factor: a neuroimmune crosstalk mediator for all seasons. *Immunology*. 2017;151(1):1-15.
24. Wei T, Guo TZ, Li WW, Kingery WS, Clark JD. Acute versus chronic phase mechanisms in a rat model of CRPS. *J Neuroinflammation*. 2016;13:14.
25. Wei T, Guo TZ, Li WW, Hou S, Kingery WS, Clark JD. Keratinocyte expression of inflammatory mediators plays a crucial role in substance P-induced acute and chronic pain. *J Neuroinflammation*. 2012;9:181.
26. Guo TZ, Wei T, Li WW, Li XQ, Clark JD, Kingery WS. Immobilization contributes to exaggerated neuropeptide signaling, inflammatory changes, and nociceptive sensitization after fracture in rats. *J Pain*. 2014;15(10):1033-45.
27. Goldring SR, Goldring MB. Eating bone or adding it: the Wnt pathway decides. *Nat Med*. 2007;13(2):133-4.
28. Arriagada M, Arinovic R. X-ray bone densitometry in the diagnosis and followup of reflex sympathetic dystrophy syndrome. *J Rheumatol*. 1994;21(3):498-500.
29. Chen XX, Baum W, Dwyer D, Stock M, Schwabe K, Ke HZ, et al. Sclerostin inhibition reverses systemic, periarticular and local bone loss in arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2013;72(10):1732-6.
30. Heiland GR, Zwerina K, Baum W, Kireva T, Distler JH, Grisanti M, et al. Neutralisation of Dkk-1 protects from systemic bone loss during inflammation and reduces sclerostin expression. *Ann Rheum Dis*. 2010;69(12):2152-9.

31. Sabsovich I, Guo TZ, Wei T, Zhao R, Li X, Clark DJ, et al. TNF signaling contributes to the development of nociceptive sensitization in a tibia fracture model of complex regional pain syndrome type I. *Pain*. 2008;137(3):507-19.
32. Harden NR. Cytokine imbalance/activity as a unifying hypothesis for the pathogenesis and pathophysiology of Complex Regional Pain Syndrome? *Pain*. 2011;152(2):247-8.