

REGOLAZIONE DEL DOLORE ATTRAVERSO IL MICROBIOTA INTESTINALE: POTENZIALI MECCANISMI E STRATEGIE DI INTERVENTO

Alessandra Graziottin

Professore ac, Dipartimento di Ostetricia e Ginecologia, Università di Verona

Docente, Corso di "Endocrinologia ginecologica, menopausa e sessualità femminile",

Scuola di Specializzazione in Endocrinologia e Malattie Metaboliche, Università Federico II di Napoli

Direttore, Centro di Ginecologia, H. San Raffaele Resnati, Milano

Presidente, Fondazione Alessandra Graziottin per la cura del dolore nella donna Onlus

«Tutte le malattie iniziano dall'intestino»
Ippocrate di Coo (V-IV sec a.C.)

Introduzione

Il dolore è definito come **un'esperienza sensoriale ed emotiva spiacevole associata a un danno tissutale**, che attiva un processo infiammatorio, locale e sistemico (Fang et al, 2023).

Il dolore è un'esperienza soggettiva, che coinvolge non solo la nocicezione, ma anche componenti emotive, affettive, cognitive, relazionali e sociali.

La **percezione finale del dolore** è la risultante dell'effetto sommatorio tra **sensazione di dolore**, stimolata dall'infiammazione e dal danno tissutale periferico, e **integrazione e modulazione del segnale doloroso** a livello di cervello viscerale, midollo spinale e sistema nervoso centrale, con meccanismo neuro-chimico e cellulare che coinvolge la **memoria** del dolore, il suo **significato** e i molti **risvolti** affettivi, emotivi e relazionali, mediati a vari livelli di integrazione, con massima risonanza nel sistema nervoso centrale.

Sulla base dell'eziologia e del tempo di insorgenza, il dolore può essere classificato come **nocicettivo, nociplastico, o neuropatico**. Il dolore neuropatico e nociplastico sono tipicamente cronici e si manifestano frequentemente come dolore persistente o ricorrente. In queste condizioni la sensazione spiacevole del dolore è accompagnata da importanti **disturbi neurovegetativi**, che interessano *in primis* il triumvirato costituito dal cervello viscerale, dall'intestino e dal microbiota intestinale, con disturbi del sonno, stanchezza e alterazioni emotivo-affettive che impattano in maniera importante su lavoro, tempo libero e relazioni familiari. Il sonno disturbato non è solo conseguenza del dolore: esso può diventare un potente amplificatore del dolore stesso, attraverso un dimostrato aumento di citochine pro-infiammatorie, in risposta ad alterazioni del sonno, causate anche da fattori esogeni, con perdita sia della fase N3, a onde lente, sia della fase di sonno con sogni (sonno REM, da *rapid eyes movements*) (Irwin et al, 2023).

Il dolore è uno dei cinque sintomi cardinali dell'infiammazione, così ben descritti dagli antichi medici: **rubor** (rossore), **tumor** (gonfiore), **calor** (calore, con aumentata temperatura locale), **dolor** (dolore), **functio laesa** (lesione funzionale).

Infiammazione e dolore

L'infiammazione sottende **tutte le forme di dolore associato a danno tissutale**, con eccezione forse del dolore psicogeno. Fattori infettivi, termici, chimici, meccanici, autoimmuni, post-traumatici, post-chirurgici, degenerativi, oncologici, e così via, attivano l'apparato difensivo, il **sistema immunitario**, che coordina il processo infiammatorio (Fang et al, 2023).

Una sofisticata risposta immunitaria può riuscire ad affrontare le cause e superare il danno, con ricostruzione tissutale fino alla *restitutio ad integrum*, ossia fino alla normalità anatomica e funzionale. In tal caso l'**infiammazione fisiologica**, associata al dolore nocicettivo, segue un raffinato e complesso progetto di eliminazione delle parti lese e di ricostruzione tissutale istologicamente e funzionalmente adeguata. E' detta perciò **risolutiva** (*resolving*). Proprio perché segue un progetto ricostruttivo preciso, l'infiammazione risolutiva, che utilizza molecole specifiche fra cui le *resolvine*, è di durata limitata e di intensità adeguata a una ricostruzione ottimale ed efficace (Ji 2022).

Nella donna, esempi di infiammazione fisiologica e risolutiva includono l'ovulazione, la mestruazione e il parto (quando il processo non venga alterato da fattori intercorrenti). Siamo vivi perché abbiamo superato bene migliaia di eventi dannosi, di varia eziologia, grazie a un'infiammazione fisiologica e risolutiva.

L'infiammazione diventa progressivamente **patologica**, e si cronicizza, quando non viene rimossa la causa del danno tissutale, che può includere appunto fattori diversi, in particolare infettivi, termici, chimici, meccanici, autoimmuni, post-traumatici, post-chirurgici, degenerativi e oncologici. Continua con variabile intensità, progressiva estensione del danno tissutale e crescente coinvolgimento di altri organi e tessuti, fino a interessare l'intero organismo (**infiammazione sistemica**). In parallelo cambia il **volto del dolore**, che diventa più complesso poiché, accanto all'aspetto nocicettivo, aumentano anche la componente **neuropatica** e quella **nociplastica**.

All'interno del già citato triumvirato che regola i fondamentali della vita, costituito dal cervello viscerale, dall'intestino e dal microbiota intestinale, quest'ultimo sta mostrando un ruolo di crescente potenza, anche sul fronte della genesi e della modulazione del dolore. Recenti evidenze, infatti, dimostrano chiaramente che **il microbiota intestinale è un modulatore cruciale del dolore viscerale e può svolgere un ruolo fondamentale in molti altri tipi di dolore cronico, fra cui il dolore neuropatico e il dolore nociplastico**, oltre a influenzare la tolleranza agli oppioidi (Guo et al, 2019; Ustianowska et al, 2022). Di particolare interesse è il ruolo del microbiota intestinale nel modulare l'attività delle cellule gliali attraverso la produzione di metaboliti e variazioni del livello di acidi grassi a catena corta (*short chain fatty acids*, SCFAs) essenziali per il metabolismo anche delle cellule nervose, con specifica azione sul fronte della modulazione del dolore (Magni et al, 2023).

Comunicazione microbiota-intestino-cervello

Negli esseri umani, il tratto gastrointestinale è una comunità ecologica microbica enorme, popolosa e intricata che contiene principalmente batteri, *archaea*, funghi, protozoi e virus. L'alterazione del microbiota intestinale o

l'esposizione a specifici batteri nell'intestino possono influenzare sostanzialmente il sistema nervoso periferico e centrale, così come determinati stati emotivi come stress e depressione possono indurre profonde modifiche del microbiota intestinale, con disbiosi di progressiva gravità. Emerge dunque l'esistenza di **un asse bidirezionale microbiota-intestino-cervello** che coinvolge molteplici vie immunitarie, neurali, endocrine e metaboliche (Magni et al, 2023).

Questo asse include ghiandole, cellule immunitarie, sistema nervoso autonomo, cervello, intestino e microbiota intestinale, che interagiscono in modo bidirezionale per mantenere l'omeostasi. Negli ultimi decenni, è stato svolto molto lavoro per definire il ruolo delle interazioni intestino-cervello nel contesto dei disturbi funzionali del tratto gastrointestinale, come la sindrome dell'intestino irritabile (*irritable bowel syndrome*, IBS) e le malattie infiammatorie intestinali (*inflammatory bowel disease*, IBD).

Sul fronte dei rapporti tra microbioma intestinale e dolore, si è verificato un netto incremento di studi specifici dopo il 2016 (Mao et al, 2022).

Più recentemente è stato dimostrato che anche molti altri disturbi possono essere correlati alla disregolazione della comunicazione intestino-cervello. Tra questi la demenza di Alzheimer, il morbo di Parkinson, l'autismo, la depressione e, appunto, il dolore (Rea et al, 2017).

La **sensibilizzazione periferica e centrale** al dolore ha nel microbiota intestinale un regista potente e insospettato, nell'ombra della consapevolezza clinica, anche attraverso molecole di segnalazione prodotte dallo stesso microbiota. I mediatori derivati dal microbiota intestinale (*pathogen associated molecular patterns*, PAMP) possono infatti comportarsi da modulatori critici per l'induzione della sensibilizzazione periferica, regolando direttamente o indirettamente l'eccitabilità dei neuroni nocicettivi primari. Nel sistema nervoso centrale, i PAMP possono regolare la neuroinfiammazione, l'intensità del micro-incendio biochimico che interessa sia i neuroni, sia le cellule gliali, e che concorre a modulare l'induzione e il mantenimento della sensibilizzazione centrale (Roversi et al, 2021; Fang et al, 2023).

Signaling immunitario associato al microbioma

L'intestino è l'organo immunocompetente più importante del corpo umano. Citochine e chemochine sono prodotte principalmente dalle cellule del sistema immunitario, che risiede per l'80% nell'intestino dove prende il nome di tessuto linfoide associato all'intestino (*gut-associated lymphoid tissue*, GALT). Queste molecole funzionano da trasmettitori di segnale e ricoprono un ruolo chiave nella comunicazione fra intestino e cervello, soprattutto per quanto riguarda l'insorgenza e la sensibilizzazione al dolore cronico. L'alterazione del delicato equilibrio del network chemochine-citochine, infatti, provoca e peggiora la sensibilizzazione periferica associata all'elaborazione nocicettiva periferica e centrale (Fang et al, 2023).

Il dolore è sotteso, e può essere potenziato, da **reazioni infiammatorie**. Queste possono concorrere sia a una diminuzione della soglia del dolore, con aumentata percezione, sia ad un aumento della risposta al dolore. In condizioni infiammatorie, gli stimoli nocivi possono causare un aumento del dolore (**iperalgisia**),

mentre gli stimoli non nocivi (come un tocco leggero) possono causare dolore (**allodinia**) (Lin et al, 2020), soprattutto quando esista una dislocazione delle fibre nervose del dolore, che si superficializzano, come ben evidenziato a livello del vestibolo vulvare (Graziottin e Murina, 2017).

Questo si riscontra in condizioni di infiammazione acuta, ma è amplificato in modo esponenziale in condizioni di infiammazione cronica, come in alcune patologie autoimmuni (artrite reumatoide, IBD), nella IBS, nell'endometriosi, nelle cistiti e nelle vaginiti recidivanti.

In questi casi vengono cronicamente rilasciate grandi quantità di chemochine e citochine pro-infiammatorie, come il *tumor necrosis factor* alfa (TNF- α), l'interferone gamma (IFN- γ) e molte interleuchine (IL-1 β , IL-12, IL-8, IL-17), che attivano o sensibilizzano i nocicettori periferici (fibre A delta e C) causando ipersensibilità al dolore periferico e amplificazione dei segnali di dolore a livello del cervello viscerale, del midollo spinale, e del sistema nervoso centrale.

L'attivazione cronica dell'infiammazione, spesso collegata all'incapacità del sistema immunitario di tenerla sotto controllo, è associata anche alla proliferazione, all'iperattivazione e alla degranolazione dei **mastociti**. Questi, mediante la liberazione del *nerve growth factor* (NGF) e di altre neurotrofine, inducono una proliferazione delle fibre nervose nel sito di infiammazione, con iperalgesia. Possono anche causare una loro superficializzazione, fino a oltrepassare la membrana basale degli epitelii, lungo tunnel scavati da eparanasi e triptasi prodotte dai mastociti iperattivati, con ulteriore sensibilizzazione al dolore e viraggio della sensazione tattile a dolore urente, come evidenziato in modo paradigmatico nella vestibolodinia (Graziottin e Murina, 2017).

Disbiosi intestinale e dolore

L'alterazione del microbiota intestinale e dei suoi metaboliti gioca un ruolo cardinale in questi meccanismi. La disbiosi causa perdita della capacità della parete intestinale di comportarsi da frontiera dinamica e selettiva, con aumento della permeabilità intestinale (*leaky gut*) e conseguente attivazione del GALT. La destrutturazione della barriera epiteliale intestinale, infatti, facilita la traslocazione di virus, batteri, allergeni e tossine, come lipopolisaccaride (LPS) e peptidoglicani, e la conseguente attivazione del nostro sistema di difesa che peggiora l'infiammazione e il dolore associato.

Finora, sono stati principalmente condotti studi preclinici sugli animali, che indicano che il microbiota intestinale può svolgere un ruolo importante nel dolore infiammatorio. Amaral e colleghi (Amaral et al, 2008) hanno scoperto che il dolore infiammatorio indotto da carragenina, LPS, TNF- α , IL-1 β e chemochina CXCL1 era ridotto nei ratti *germ-free* (GF) rispetto ai ratti convenzionali. In particolare, la ridotta ipersensibilità al dolore nei ratti GF è stata associata a una maggiore espressione di interleuchina 10 (IL-10) dopo stimolazione. Tale ridotta ipersensibilità al dolore dei ratti GF era significativamente aumentata dopo il trapianto con le feci dei topi convenzionali.

Probiotici per la modulazione del dolore

Ridurre l'infiammazione agendo sul microbiota e sui linfociti T regolatori può portare a un miglioramento nella percezione dolorosa. E' stato ben dimostrato

che alcuni specifici ceppi batterici probiotici, come il *Lactobacillus fermentum* CECT5716 e ancor di più *Escherichia coli* Nissle 1917 (EcN), possono aumentare notevolmente la produzione della citochina antinfiammatoria IL-10, con successiva inibizione dell'espressione di altre citochine e chemochine pro-infiammatorie, come TNF- α e IL- β (Algieri et al, 2021). *Escherichia coli* Nissle 1917 modula anche il rilascio di chemochine, inibendo la migrazione di neutrofili e mastociti al sito di infiammazione (Rodriguez-Nogales et al, 2018).

La possibilità di **modulare il dolore con prebiotici, probiotici e simbiotici** sta ricevendo crescente attenzione, anche in malattie molto dolorose e invalidanti a genesi e localizzazione intestinale, come la colite ulcerosa (Roy e Dhaneshwar, 2023).

Queste evidenze indicano che l'alterazione del microbiota intestinale potrebbe portare sia alla *up-regulation* che alla *down-regulation* di citochine e chemochine, e che il *targeting* del microbiota intestinale o l'utilizzo di probiotici specifici può essere promettente per attenuare l'ipersensibilità al dolore in molti contesti infiammatori.

Ad esempio, in un modello murino di sclerosi multipla (SM), una malattia infiammatoria cronica del sistema nervoso centrale, il trattamento orale quotidiano con EcN ha ridotto la gravità dell'encefalomielite autoimmune sperimentale indotta. Questo effetto benefico è stato associato a una ridotta secrezione di citochine infiammatorie e a un aumento della produzione della citochina antinfiammatoria IL-10 da parte delle cellule T CD4 autoreattive, sia nei linfonodi periferici che nel sistema nervoso centrale. Inoltre, è stato dimostrato che l'EAE è associato a un profondo difetto nella funzione della barriera intestinale e che il trattamento con EcN ha ripristinato la disfunzione della permeabilità intestinale (Secher et al, 2017).

Per quanto riguarda il **dolore neuropatico**, un ruolo importante è ricoperto anche dai *Toll-like Receptor* (TLR). Ampiamente distribuiti sulla maggior parte delle cellule immunitarie e su altri tipi di cellule, i TLR attivano i sistemi immunitari innati e adattivi, in particolare i macrofagi. I TLR sono classificati in due tipi: il TLR-4 riconosce i PAMP, come l'LPS derivato dal microbiota, mentre il TLR-5 riconosce gli acidi nucleici di virus, batteri e ospiti. Quando TLR-4 riconosce LPS, parte una serie di segnali che promuovono l'attivazione delle cellule gliali. Quando stimolato, TLR-5 facilita anche il rilascio di mediatori pro-infiammatori dalle cellule immunitarie, che contribuisce allo sviluppo del dolore neuropatico. È interessante però notare che l'attivazione di TLR-5 si traduce simultaneamente anche nel blocco delle correnti di sodio principalmente nelle fibre A delta dei gangli delle radici dorsali (*dorsal root ganglia*, DRG) di ratto e inibisce con successo l'allodinia meccanica dopo chemioterapia, neuropatia diabetica e lesioni nervose.

Oltre ai PAMP, ci sono diversi altri metaboliti nel microbiota intestinale. Ad esempio, è dimostrato che i già citati **acidi grassi a catena corta (SCFAs)** regolano la sensazione di dolore attraverso molteplici meccanismi.

Gli SCFAs (che comprendono principalmente acido propionico, butirrico, lattico e acetico) derivano principalmente dalla fermentazione batterica di carboidrati indigeribili (definiti "prebiotici") contenuti principalmente in alcuni tipi di vegetali. Sebbene il ruolo degli SCFAs nel controllo delle risposte immunitarie sia

stato ben riconosciuto, il loro legame con i disturbi neurologici, e in particolare con il dolore cronico, è stato apprezzato solo di recente. Gli SCFAs, agendo sui loro recettori (FFAR2/3), regolano le funzioni dei leucociti, come la produzione di citochine (TNF- α , IL-2, IL-6 e IL-10), eicosanoidi e chemochine (per esempio, CCL2). Uno studio recente ha mostrato che il butirrato è altamente efficace nell'alleviare la sensibilizzazione del nervo periferico e il dolore addominale in pazienti con IBS e IBD (Banasiewicz et al, 2013).

Secondo recenti studi, anche alcuni **acidi grassi a catena lunga** come il C18-3OH (LCFA-3OH), sempre prodotti dai batteri della flora autoctona, possono intervenire nella regolazione dell'infiammazione e del dolore a essa correlato in pazienti con IBD (Pujo et al, 2021).

Da queste evidenze emerge come semplici interventi nutrizionali, mirati ad aumentare l'introito di fibre prebiotiche, associati a una buona integrazione, possano costituire passi semplici ed efficaci nella riduzione della percezione del dolore cronico.

Signaling neurale associato al microbiota

La percezione del dolore coinvolge una varietà di neurotrasmettitori, che possono essere principalmente suddivisi in mediatori infiammatori e mediatori non infiammatori. I più specifici sono il **glutammato** e il **GABA**, che sono rispettivamente il neurotrasmettitore eccitatorio e quello inibitore più ampiamente distribuiti nel corpo. Sia l'ospite che i batteri possono convertire il glutammato in GABA. (Strandwitz et al, 2019). Studi dimostrano che alcune sostanze promuovono il rilascio di GABA attivando i recettori GABA, e alleviando così efficacemente il dolore neuropatico (Dicks 2022; Miri et al, 2023). Recentemente, è stato confermato che alcuni ceppi di batteri ambientali impiegati nella fermentazione degli alimenti possono produrre glutammato, mentre diversi ceppi batterici, come *Escherichia coli* e *Lactobacillus*, sintetizzano GABA. È interessante notare che il ceppo probiotico *Escherichia coli* Nissle 1917 può generare un lipopeptide analgesico legato al GABA che, dopo aver attraversato la barriera epiteliale intestinale, inibisce le risposte a valle causate dall'attivazione dei nocicettori, alleviando così efficacemente il dolore neuropatico (Deng e Chiu, 2021).

Anche la **serotonina** (5-HT) è un importante neurotrasmettitore che potrebbe modulare in modo efficace la risposta nocicettiva e funzionare come regolatore nel dolore cronico. Quando la 5-HT agisce sui suoi recettori, l'attivazione del recettore 5-HT1 crea un effetto iperpolarizzante; mentre l'attivazione di 5-HT2 e 5-HT3 porta alla depolarizzazione dei neuroni nocicettivi primari.

Oltre il 90% della 5-HT nell'organismo è sintetizzato dalle cellule enteroendocrine (*enteroendocrine cell*, EEC). Una crescente letteratura rivela che il microbiota è correlato con il livello di 5-HT dell'ospite. In particolare, la 5-HT può essere prodotta da diversi ceppi di batteri, tra cui *Escherichia coli*, *Streptococcus spp.* ed *Enterococcus spp.* È interessante notare che alcuni ceppi di *Escherichia coli*, come il Nissle 1917, sono in grado di aumentare la biodisponibilità di 5-HT nei tessuti intestinali, attraverso la modulazione di diversi aspetti distinti del sistema serotoninergico, intervenendo sia sulla sintesi che sulla *clearance* di questo neurotrasmettitore (Nazakizwanayo et al, 2015).

Questi risultati suggeriscono come l'alterazione del microbiota intestinale possa fare una differenza nella nocicezione, che è potenzialmente coinvolta nella progressione della percezione del dolore.

Signaling endocrino e metabolico associato al microbiota

Poiché il tratto gastrointestinale è il più grande organo endocrino del corpo umano, gli ormoni intestinali prodotti dal sistema enteroendocrino hanno un'ampia gamma di bersagli sia all'interno che all'esterno del lume intestinale. A oggi, sono stati identificati diversi tipi di cellule enteroendocrine, e sono tutti cellule sensoriali. Diversi ormoni intestinali pleotropici rilasciati dalle EEC sono coinvolti nella modulazione del dolore, fra cui il peptide glucagone-simile 1 (GLP-1), il neuropeptide Y (NPY) e il peptide YY (PYY). Dato che le EEC sono integrate nella rete di segnalazione correlata al dolore che coinvolge il sistema immunitario e il sistema nervoso, questi ormoni intestinali sono probabilmente non solo mediatori endocrini, ma anche mediatori immunitari e neurali.

Dato il dialogo diretto fra EEC e microbiota intestinale, la loro interazione influenza il **metabolismo degli ormoni intestinali**. Ad esempio, il recettore degli acidi biliari (TGR5) distribuito sulle cellule L è attivato dagli acidi biliari secondari derivati dai batteri, facilitando così il rilascio di GLP-1 e PYY. Anche il *signaling* degli SCFAs promuove la generazione di PYY e GLP-1. L'LPS batterico e l'indolo prodotto dai batteri, invece, regolano negativamente la secrezione di GLP-1. D'altra parte, il microbiota intestinale influisce anche sul metabolismo degli acidi biliari nell'ospite. Quando gli acidi biliari si legano al TGR5 espresso nei macrofagi e nei neuroni sensoriali primari, si notano due esiti radicalmente diversi: l'attivazione dei neuroni nel DRG porta all'ipereccitabilità, mentre l'attivazione dei macrofagi periferici contribuisce all'analgesia. Attraverso i suoi metaboliti e la sua influenza sul metabolismo dell'ospite, il microbiota intestinale costituisce un sistema metabolico microbiota-endocrino.

Gestione emotiva

Depressione e ansia accompagnano spesso chi soffre di malattie croniche intestinali (IBS, IBD), ma anche chi soffre di altre tipologie di patologie infiammatorie croniche, come l'endometriosi e la cistite ricorrente e interstiziale, e anche di patologie neurovegetative.

Prove convincenti hanno documentato che i comportamenti di tipo ansioso possono essere influenzati dal microbiota intestinale alterato (correlato a un aumento della permeabilità intestinale) e che, di conseguenza, la modulazione del microbiota intestinale influisce anche su tali comportamenti (Park et al, 2013).

Recentemente, un team coordinato dalla professoressa Maria Rescigno ha pubblicato su *Science* i risultati di uno studio che apre nuovi sorprendenti scenari nella conoscenza della correlazione fra microbiota e ansia/depressione. I ricercatori hanno individuato una nuova barriera (o interfaccia) fra circolo sanguigno e cervello: il **plesso coroideo** (Carloni et al, 2021).

Il plesso coroideo è una struttura presente nel cervello dove viene prodotto il liquido che avvolge l'encefalo e il midollo spinale, a protezione delle delicate

strutture del sistema nervoso centrale. Inoltre, il plesso coraideo è un veicolo per l'ingresso di sostanze nutritive e l'eliminazione di quelle di scarto, e svolge un ruolo di difesa immunitaria.

All'interno del plesso coraideo, oltre alla nota barriera epiteliale, esiste un'ulteriore barriera vascolare, in grado di aprirsi e di chiudersi, come un "cancello", a seconda dello scenario circostante. In condizioni normali questo cancello consente l'ingresso di molecole derivate dal sangue, come nutrienti e alcuni farmaci. In caso di infiammazione, anche in organi distanti, o di aumentata permeabilità intestinale, come nei pazienti con IBS e IBD, ma anche in pazienti con infezioni delle vie urinarie ricorrenti, endometriosi e malattie neurovegetative, la barriera vascolare del plesso coraideo si riorganizza e si chiude per bloccare l'ingresso nel cervello di segnali infiammatori originati nell'intestino e migrati verso altri organi grazie al flusso sanguigno. A tale risposta di difesa è associato **un isolamento del cervello** dal resto dell'organismo che è responsabile di alterazioni comportamentali, fra cui l'insorgenza di stati di ansia e depressione (Carloni et al, 2021; Montagnani et al, 2023).

Queste nuove evidenze, che si aggiungono e integrano quelle già note della teoria delle barriere infrante, impongono un cambiamento di prospettiva: ansia e depressione devono essere considerate come parte integrante della patologia, e non solo come manifestazioni secondarie.

Conclusioni

Il microbiota intestinale, grazie al suo ruolo nella complessa rete sistemica immuno-neuro-endocrino-metabolica, svolge un ruolo chiave nello sviluppo di malattie neurologiche e del dolore cronico. Sebbene la nostra comprensione del ruolo del microbiota intestinale nel dolore sia ancora nelle sue fasi iniziali, le evidenze disponibili suggeriscono come la disregolazione del microbiota intestinale:

- moduli e aumenti l'infiammazione che sottende il dolore nocicettivo, neuropatico e nociplastico, con particolare coinvolgimento nel dolore viscerale;
- possa regolare in maniera diretta e indiretta l'eccitabilità neuronale del sistema nervoso periferico;
- possa intervenire nella modulazione di sintomi finora ritenuti secondari, come l'insonnia, l'ansia e la depressione.

Lo studio del ruolo del microbiota umano nella salute e nella malattia è in rapida crescita. Future ricerche in grado di chiarire meglio i meccanismi molecolari alla base della modulazione del dolore da parte del microbiota intestinale potrebbero portare alla scoperta di nuovi bersagli farmacologici per alleviare il dolore.

La modulazione del microbiota intestinale, finalizzata a mantenere o recuperare lo stato di eubiosi, è realizzabile mediante l'alimentazione, l'integrazione con sostanze ad attività prebiotica, come frutto-oligosaccaridi (FOS), inulina, galatto-oligosaccaridi (GOS) e amido resistente (*resistant starch*, RS). Può essere ottimizzata, grazie all'intervento farmacobiotico con ceppi probiotici specifici, come alcune specie di Lattobacilli e Bifidobatteri, e *Escherichia coli* Nissle 1917. Questi interventi ci offrono un approccio efficace e promettente nella gestione sia del dolore cronico sia dell'ansia e della depressione a esso correlate.

Key points

- Il microbiota intestinale influenza l'infiammazione loco-regionale e sistemica che sottende tutti i tipi di dolore.
- Il microbiota intestinale può modulare direttamente l'eccitabilità neuronale dei gangli delle radici dorsali e regolare la neuroinfiammazione nel sistema nervoso periferico e centrale in condizioni di dolore cronico.
- Mirare al microbiota intestinale attraverso interventi dietetici, approcci farmacobiotici specifici o trapianto di microbiota fecale rappresenta una strategia nuova e potenzialmente fruttuosa per la gestione del dolore cronico, e dell'ansia e della depressione a esso correlate.

Bibliografia

- Algieri F, Garrido-Mesa J, Vezza T, Rodríguez-Sojo MJ, Rodríguez-Cabezas ME, Olivares M, García F, Gálvez J, Morón R, Rodríguez-Nogales A. Intestinal anti-inflammatory effects of probiotics in DNBS-colitis via modulation of gut microbiota and microRNAs. *Eur J Nutr.* 2021 Aug;60(5):2537-2551. doi: 10.1007/s00394-020-02441-8. Epub 2020 Nov 20. PMID: 33216193.
- Amaral FA, Sachs D, Costa VV, Fagundes CT, Cisalpino D, Cunha TM, Ferreira SH, Cunha FQ, Silva TA, Nicoli JR, Vieira LQ, Souza DG, Teixeira MM. Commensal microbiota is fundamental for the development of inflammatory pain. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2008 Feb 12;105(6):2193-7. doi: 10.1073/pnas.0711891105. Epub 2008 Feb 11. PMID: 18268332; PMCID: PMC2538897.
- Banasiewicz T, Krokowicz Ł, Stojcev Z, Kaczmarek BF, Kaczmarek E, Maik J, Marciniak R, Krokowicz P, Walkowiak J, Drews M. Microencapsulated sodium butyrate reduces the frequency of abdominal pain in patients with irritable bowel syndrome. *Colorectal Dis.* 2013 Feb;15(2):204-9. doi: 10.1111/j.1463-1318.2012.03152.x. PMID: 22738315.
- Carloni S, Bertocchi A, Mancinelli S, Bellini M, Erreni M, Borreca A, Braga D, Giugliano S, Mozzarelli AM, Manganaro D, Fernandez Perez D, Colombo F, Di Sabatino A, Pasini D, Penna G, Matteoli M, Lodato S, Rescigno M. Identification of a choroid plexus vascular barrier closing during intestinal inflammation. *Science.* 2021 Oct 22;374(6566):439-448. doi: 10.1126/science.abc6108. Epub 2021 Oct 21. PMID: 34672740.
- Deng L, Chiu IM. Microbes and pain. *PLoS Pathog.* 2021 Apr 1;17(4):e1009398. doi: 10.1371/journal.ppat.1009398. PMID: 33793668; PMCID: PMC8016104.
- Dicks LMT. Gut Bacteria and Neurotransmitters. *Microorganisms.* 2022 Sep 14;10(9):1838. doi: 10.3390/microorganisms10091838. PMID: 36144440; PMCID: PMC9504309.
- Fang XX, Zhai MN, Zhu M, He C, Wang H, Wang J, Zhang ZJ. Inflammation in pathogenesis of chronic pain: Foe and friend. *Mol Pain.* 2023 Jan-Dec;19:17448069231178176. doi: 10.1177/17448069231178176. PMID: 37220667; PMCID: PMC10214073.
- Graziottin A, Murina F. *Vulvar pain from childhood to old age.* Springer Verlag 2017
- Guo R, Chen LH, Xing C, Liu T. Pain regulation by gut microbiota: molecular mechanisms and therapeutic potential. *Br J Anaesth.* 2019 Nov;123(5):637-654. doi: 10.1016/j.bja.2019.07.026. Epub 2019 Sep 21. PMID: 31551115.
- Irwin MR, Olmstead R, Bjurstrom MF, Finan PH, Smith MT. Sleep disruption and activation of cellular inflammation mediate heightened pain sensitivity: a randomized clinical trial. *Pain.* 2023 May 1;164(5):1128-1137. doi: 10.1097/j.pain.0000000000002811. Epub 2022 Oct 27. PMID: 36314570; PMCID: PMC10106531.
- Ji RR. Specialized Pro-Resolving Mediators as Resolution Pharmacology for the Control of Pain and Itch. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2023 Jan 20;63:273-293. doi: 10.1146/annurev-pharmtox-051921-084047. Epub 2022 Sep 13. PMID: 36100219; PMCID: PMC10290889.
- Lin B, Wang Y, Zhang P, Yuan Y, Zhang Y, Chen G. Gut microbiota regulates neuropathic pain: potential mechanisms and therapeutic strategy. *J Headache Pain.* 2020 Aug 17;21(1):103. doi: 10.1186/s10194-020-01170-x. PMID: 32807072; PMCID: PMC7433133.
- Magni G, Riboldi B, Ceruti S. Modulation of Glial Cell Functions by the Gut-Brain Axis: A Role in Neurodegenerative Disorders and Pain Transmission. *Cells.* 2023 Jun 13;12(12):1612. doi: 10.3390/cells12121612. PMID: 37371082; PMCID: PMC10297219.
- Mao M, Zhou Y, Jiao Y, Yin S, Cheung C, Yu W, Gao P, Yang L. Bibliometric and visual analysis of research on the links between the gut microbiota and pain from 2002 to 2021. *Front Med (Lausanne).* 2022 Nov 15;9:975376. doi: 10.3389/

- fmed.2022.975376. PMID: 36457577; PMCID: PMC9705792.
- Miri S, Yeo J, Abubaker S, Hammami R. Neuromicrobiology, an emerging neurometabolic facet of the gut microbiome? *Front Microbiol.* 2023 Jan 17;14:1098412. doi: 10.3389/fmicb.2023.1098412. PMID: 36733917; PMCID: PMC9886687.
 - Montagnani M, Bottalico L, Potenza MA, Charitos IA, Topi S, Colella M, Santacroce L. The Crosstalk between Gut Microbiota and Nervous System: A Bidirectional Interaction between Microorganisms and Metabolome. *Int J Mol Sci.* 2023 Jun 19;24(12):10322. doi: 10.3390/ijms241210322. PMID: 37373470; PMCID: PMC10299104.
 - Nzakizwanayo J, Dedi C, Standen G, Macfarlane WM, Patel BA, Jones BV. *Escherichia coli* Nissle 1917 enhances bioavailability of serotonin in gut tissues through modulation of synthesis and clearance. *Sci Rep.* 2015 Nov 30;5:17324. doi: 10.1038/srep17324. PMID: 26616662; PMCID: PMC4663480.
 - Park AJ, Collins J, Blennerhassett PA, Ghia JE, Verdu EF, Bercik P, Collins SM. Altered colonic function and microbiota profile in a mouse model of chronic depression. *Neurogastroenterol Motil.* 2013 Sep;25(9):733-e575. doi: 10.1111/nmo.12153. Epub 2013 Jun 17. PMID: 23773726; PMCID: PMC3912902.
 - Pujo J, Petitfils C, Le Faouder P, Eeckhaut V, Payros G, Maurel S, Perez-Berezo T, Van Hul M, Barreau F, Blanpied C, Chavanas S, Van Immerseel F, Bertrand-Michel J, Oswald E, Knauf C, Dietrich G, Cani PD, Cenac N. Bacteria-derived long chain fatty acid exhibits anti-inflammatory properties in colitis. *Gut.* 2021 Jun;70(6):1088-1097. doi: 10.1136/gutjnl-2020-321173. Epub 2020 Sep 25. PMID: 32978245.
 - Rea K, O'Mahony SM, Dinan TG, Cryan JF. The Role of the Gastrointestinal Microbiota in Visceral Pain. *Handb Exp Pharmacol.* 2017;239:269-287. doi: 10.1007/164_2016_115. PMID: 28035535.
 - Rodríguez-Nogales A, Algieri F, Garrido-Mesa J, Vezza T, Utrilla MP, Chueca N, Fernández-Caballero JA, García F, Rodríguez-Cabezas ME, Gálvez J. The Administration of *Escherichia coli* Nissle 1917 Ameliorates Development of DSS-Induced Colitis in Mice. *Front Pharmacol.* 2018 May 11;9:468. doi: 10.3389/fphar.2018.00468. PMID: 29867475; PMCID: PMC5958303.
 - Roversi K, Callai-Silva N, Roversi K, Griffith M, Boutopoulos C, Prediger RD, Talbot S. Neuro-Immunity and Gut Dysbiosis Drive Parkinson's Disease-Induced Pain. *Front Immunol.* 2021 Nov 18;12:759679. doi: 10.3389/fimmu.2021.759679. PMID: 34868000; PMCID: PMC8637106.
 - Roy S, Dhaneshwar S. Role of prebiotics, probiotics, and synbiotics in management of inflammatory bowel disease: Current perspectives. *World J Gastroenterol.* 2023 Apr 14;29(14):2078-2100. doi: 10.3748/wjg.v29.i14.2078. PMID: 37122604; PMCID: PMC10130969.
 - Secher T, Kassem S, Benamar M, Bernard I, Boury M, Barreau F, Oswald E, Saoudi A. Oral Administration of the Probiotic Strain *Escherichia coli* Nissle 1917 Reduces Susceptibility to Neuroinflammation and Repairs Experimental Autoimmune Encephalomyelitis-Induced Intestinal Barrier Dysfunction. *Front Immunol.* 2017 Sep 14;8:1096. doi: 10.3389/fimmu.2017.01096. PMID: 28959254; PMCID: PMC5603654.
 - Strandwitz P, Kim KH, Terekhova D, Liu JK, Sharma A, Levering J, McDonald D, Dietrich D, Ramadhar TR, Lekbua A, Mroue N, Liston C, Stewart EJ, Dubin MJ, Zengler K, Knight R, Gilbert JA, Clardy J, Lewis K. GABA-modulating bacteria of the human gut microbiota. *Nat Microbiol.* 2019 Mar;4(3):396-403. doi: 10.1038/s41564-018-0307-3. Epub 2018 Dec 10. PMID: 30531975; PMCID: PMC6384127.
 - Ustianowska K, Ustianowski Ł, Machaj F, Gorący A, Rosik J, Szostak B, Szostak J, Pawlik A. The Role of the Human Microbiome in the Pathogenesis of Pain. *Int J Mol Sci.* 2022 Oct 31;23(21):13267. doi: 10.3390/ijms232113267. PMID: 36362056; PMCID: PMC9659276.

MICROBIOTA, INFIAMMAZIONE E DOLORE NELLA DONNA



**“L'essenziale
è invisibile agli occhi”**

*(Antoine de Saint-Exupéry,
Il piccolo Principe)*

MILANO 13 settembre 2023

**ATTI E APPROFONDIMENTI
DI FARMACOLOGIA**

A cura di Annamaria Colao, Alessandra Graziottin, Vincenzo Stanghellini

P R O G R A M M A

08:45-09:00 Presentazione del corso e benvenuto ai partecipanti
Annamaria Colao, Alessandra Graziottin, Vincenzo Stanghellini

09:00-11:05 Microbiota intestinale e salute della donna: lo scenario chiave in dieci letture - Parte prima

Introducono: Alessandra Graziottin, Vincenzo Stanghellini, Linda Vignozzi

09:00-09:25 **Microbiota intestinale: dalla ricerca alla rivoluzione nella pratica clinica**
Vincenzo Stanghellini (Bologna)

09:25-09:50 **Microbiota intestinale e contraccezione ormonale**
Giovanni Grandi (Modena)

09:50-10:15 **Microbiota intestinale e sindrome metabolica**
Annamaria Colao (Napoli)

10:15-10:40 **Microbiota intestinale e disendocrinie**
Linda Vignozzi, Elisa Maseroli (Firenze)

10:40-11:05 **Microbiota intestinale, bioritmi e dolore**
Alessandra Graziottin (Milano)

11:05-11:30 **Coffee-break**

11:30-13:00 Tavola rotonda: Microbiota e metabolismo ormonale

Moderatori: Giovanni Grandi, Anna Maria Paoletti

11:30-11:45 **Adolescenti, junk food, disbiosi e policistici ovarica: quali legami**
Alessandra Graziottin (Milano)

11:45-12:00 **Disbiosi ed endometriosi**
Silvia Baggio (Verona)

12:00-12:15 **Microbiota vulvovaginale e contraccezione ormonale**
Angela Cuccarollo (Verona)

12:15-12:30 **Microbiota vulvovaginale e testosterone: quali relazioni**
Elisa Maseroli (Firenze)

12:30-12:45 **Microbiota intestinale e terapie ormonali sostitutive**
Anna Maria Paoletti (Cagliari)

12:45-13:00 **Discussione**

13:00-13:45 **Lunch**

13:45-15:50 Microbiota intestinale e salute della donna: lo scenario chiave in dieci letture - Parte seconda

Introducono: Sabrina Giglio, Filippo Murina, Alberto Revelli

13:45-14:10 **Microbiota e genomica**
Sabrina Giglio (Cagliari)

14:10-14:35 **Microbiota intestinale, vaginale, endometriale: impatto sulla fertilità**
Alberto Revelli (Torino)

- 14:35-15:00 **Disbiosi e gravidanza**
Nicoletta Di Simone (Milano)
- 15:00-15:25 **Disbiosi: la sfida della candidiasi recidivante vaginale**
Filippo Murina (Milano)
- 15:25-15:50 **Probiotici pre- e post-operatori e outcome chirurgico**
Stefano Uccella (Verona)

15:50-16:50 Tavola Rotonda: Disbiosi uroginecologiche e infezioni recidivanti. Con flash sull'igiene intima

Moderatori: Nicoletta Di Simone, Filippo Murina

- 15:50-16:05 **Disbiosi intestinale e biofilm patogeni nelle cistiti**
Daniele Grassi (Modena)
- 16:05-16:20 **Herpes recidivante, HPV vulvovaginale e disbiosi: quale legame**
Francesco De Seta (Trieste)
- 16:20-16:35 **Microbiota vulvovaginale e perineale: ruolo dell'igiene intima**
Alice Guarano (Milano)
- 16:35-16:50 **Discussione**

16:50-19:05 Tavola Rotonda: Disbiosi, menopausa e impatto clinico

Moderatori: Alessandra Graziottin, Francesco De Seta, Stefano Uccella

Parte prima - Dopo un tumore al seno: come curare la sindrome genitourinaria della menopausa

- 16:50-17:05 **Microbiota vaginale e terapie biofisiche**
Filippo Murina (Milano)
- 17:05-17:20 **Atrofia, disbiosi vulvovaginale e ossigenoterapia**
Maggiorino Barbero (Torino)
- 17:20-17:35 **Disbiosi e atrofia vulvovaginale / GSM: ruolo dell'ospemifene**
Dario Recalcati (Milano)
- 17:35-17:50 **Disbiosi vulvovaginale e riabilitazione uroginecologica**
Fabiana Giordano (Napoli)

Parte seconda - Post menopausa: disbiosi e fragilità

- 17:50-18:05 **Disbiosi e fragilità: inquadramento generale**
Roberta Scairati (Napoli)
- 18:05-18:20 **Diagnostica integrata per sarcopenia e osteopenia**
Antonio Gianluca Castellaneta (Milano)
- 18:20-18:35 **I probiotici come alleati sistemici anti-fragilità**
Francesco De Seta (Trieste)
- 18:35-18:50 **Probiotici, integratori e strategie anti-age**
Alessandra Graziottin (Milano)

- 18:50-19:05 **Discussione**

-
- 19:05-19:15 **Conclusioni e compilazione questionario ECM**

Presentazione	<i>Pag. 06</i>
Ringraziamenti	<i>Pag. 09</i>
Microbiota intestinale: dalla ricerca alla rivoluzione nella pratica clinica	<i>Pag. 10</i>
Microbiota intestinale e disendocrinie	<i>Pag. 15</i>
Microbiota intestinale, bioritmi e dolore	<i>Pag. 19</i>
Adolescenti, junk food, disbiosi e policistici ovarica: quali legami	<i>Pag. 27</i>
Endometriosi e disbiosi	<i>Pag. 39</i>
Microbiota vulvo-vaginale e contraccezione ormonale	<i>Pag. 45</i>
Microbiota vulvovaginale e testosterone: quali relazioni	<i>Pag. 57</i>
Microbiota intestinale e terapie ormonali sostitutive	<i>Pag. 61</i>
Microbiota e genomica	<i>Pag. 65</i>
Microbiota intestinale, vaginale, endometriale: impatto sulla fertilità	<i>Pag. 69</i>
Disbiosi e gravidanza	<i>Pag. 74</i>
Disbiosi: la sfida della candidiasi recidivante vaginale	<i>Pag. 79</i>
Probiotici pre- e post-operatori e outcome chirurgico	<i>Pag. 82</i>
Disbiosi intestinale e biofilm patogeni nelle cistiti	<i>Pag. 86</i>
Herpes recidivante, HPV vulvovaginale e disbiosi: quale legame	<i>Pag. 92</i>
Microbiota vulvovaginale e perineale: ruolo dell'igiene intima	<i>Pag. 96</i>
Microbiota vaginale e terapie biofisiche	<i>Pag. 102</i>
Atrofia vaginale da carenza estrogenica: trattamento coniugato con ossigeno normobarico e acido ialuronico	<i>Pag. 105</i>

Disbiosi vulvovaginale e sindrome genitourinaria della menopausa: ruolo dell'ospemifene	<i>Pag. 109</i>
Disbiosi vaginale: ruolo della riabilitazione uroginecologica	<i>Pag. 112</i>
Disbiosi e fragilità nella donna	<i>Pag. 114</i>
I probiotici come alleati sistemici anti-fragilità	<i>Pag. 119</i>
Probiotici, integratori e strategie anti-age: focus sui connettivi	<i>Pag. 125</i>

APPROFONDIMENTI DI FARMACOLOGIA

Microbioma intestinale: evoluzione dei metodi di studio e indicazioni per il clinico	<i>Pag. 135</i>
Microbiota vaginale e disbiosi permissivi	<i>Pag. 143</i>
Regolazione del dolore attraverso il microbiota intestinale: potenziali meccanismi e strategie di intervento	<i>Pag. 151</i>
Disbiosi e PCOS: ruolo dell'alfa-lattoalbumina	<i>Pag. 161</i>
Dolore genitale e sessuale dopo il parto: il ruolo del timolo nell'igiene intima	<i>Pag. 174</i>