



ACUFENE: NOVITA' NELLA RICERCA IN NEUROSCIENZE

Paola Perin

*Dipartimento di Scienze del Sistema Nervoso e del Comportamento Università
di Pavia*

Nuovi approcci, nuove domande

Varianti genetiche

Ruolo dell'infiammazione

Circuiti neurali coinvolti

Genetica degli acufeni

Gli acufeni sono molto eterogenei
Studi sulle famiglie hanno mostrato una
possibile componente ereditaria

Genetic Inheritance and Its Contribution to Tinnitus

Sana Amanat, Alvaro Gallego-Martinez, and Jose A. Lopez-Escamez

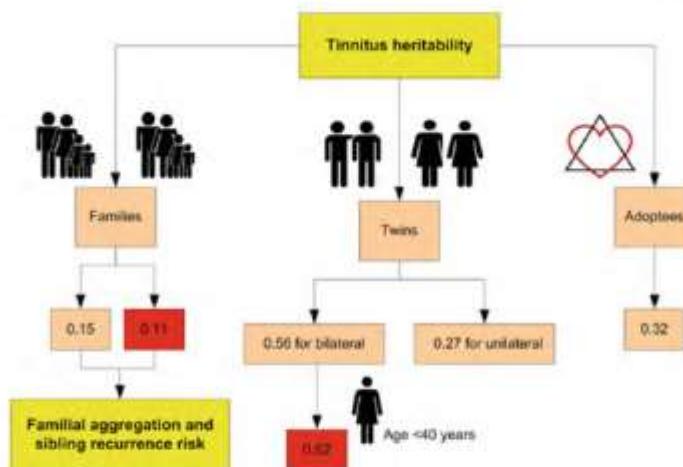


Fig. 3 Tinnitus familial aggregation and sex differences in genetic heritability. Familial aggregation is estimated by calculating the tinnitus recurrence risk ratio between siblings that shared the same familial environment. Heritability has been estimated in twins and adoptees studies by comparing the concordance rate between monozygotic vs. dizygotic twins and between adoptees with biological parents. Red box under families indicates low heritability, and red box under twins indicates increased risk of bilateral tinnitus in young females

Genetica degli acufeni

Nessuno dei geni candidati si è rivelato associato significativamente all'acufene

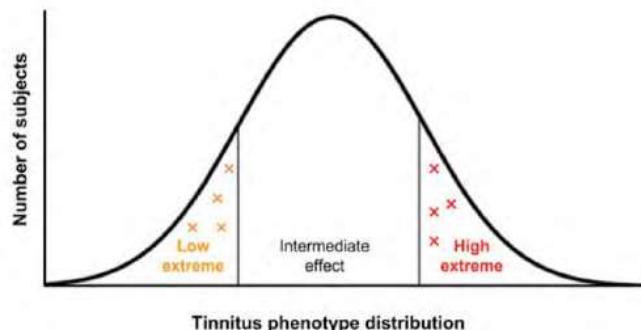
Table 1 Genetic studies on chronic tinnitus and suggested candidate genes

Reference	Population	Sample	Sex		Sequencing method	Candidate genes
			F	M		
Deniz et al. (2010)	Turkish	54	33	21	Genotyping	<i>SLC6A4</i>
Sand et al. (2010)	Caucasian	201	49	152	Genotyping	<i>KCNE1</i>
Sand et al. (2011)	Caucasian	288	86	202	Genotyping	<i>KCNE3</i>
Sand et al. (2012b) ^a	Caucasian	240	69	171	Genotyping	<i>GDNF</i> , <i>BDNF</i>
Sand et al. (2012a) ^b	Caucasian	95	28	67	Genotyping	<i>KCTD12</i>
Orenay-Boyacioglu et al. (2016)	Turkish	52	19	33	Genotyping	<i>GDNF</i>
Gilles et al. (2017)	Belgium	167	67	100	GWAS	Metabolic pathway
Orenay-Boyacioglu et al. (2019)	Turkish	60	21	39	Methylation of 12 CpG sites in the promoter	<i>GDNF</i> , <i>BDNF</i>

Genetica degli acufeni estremi

I fenotipi estremi possono avere più facilmente componenti genetiche
Acufeni severi ($\text{THI} \geq 56$) o estremi: ($\text{THI} \geq 76$) con MD o nonsindromici

Varianti rare concentrate in alcuni geni: i più conservati sono ANK2, AKAP9 e TSC2



Research paper

Burden of rare variants in synaptic genes in patients with severe tinnitus:
An exome based extreme phenotype study

Sana Amanat^a, Alvaro Gallego-Martinez^a, Joseph Sollini^b, Patricia Perez-Carpena^{a,c},
Juan M. Espinosa-Sanchez^{a,c}, Ismael Aran^d, Andres Soto-Varela^e, Angel Batuecas-Caletro^f,
Barbara Canlon^g, Patrick May^h, Christopher R. Cederroth^{b,g,i}, Jose A. Lopez-Escamez^{a,c,j,*}



Infiammazione nell'acufene

Salicilato come induttore di acufene in modello animale:

- in alte dosi per tempi prolungati modifica lo stato infiammatorio (aumento TNF-alfa e IL-1beta nella coclea e SNC uditivo)
- L'aumento delle citochine proinfiammatorie è parallelo ai segni comportamentali di acufene

Acufene correlato a TNF-alfa in modello animale

- Topi in cui si inattiva il recettore per TNFalfa non sviluppano acufene

Nell'uomo sono stati misurati marcatori dell'infiammazione nel sangue

- le citochine misurate nel sangue danno risultati contrastanti in diversi studi
- Segnalata da più studi alterazione delle piastrine nell'acufene

Infiammazione nell'acufene

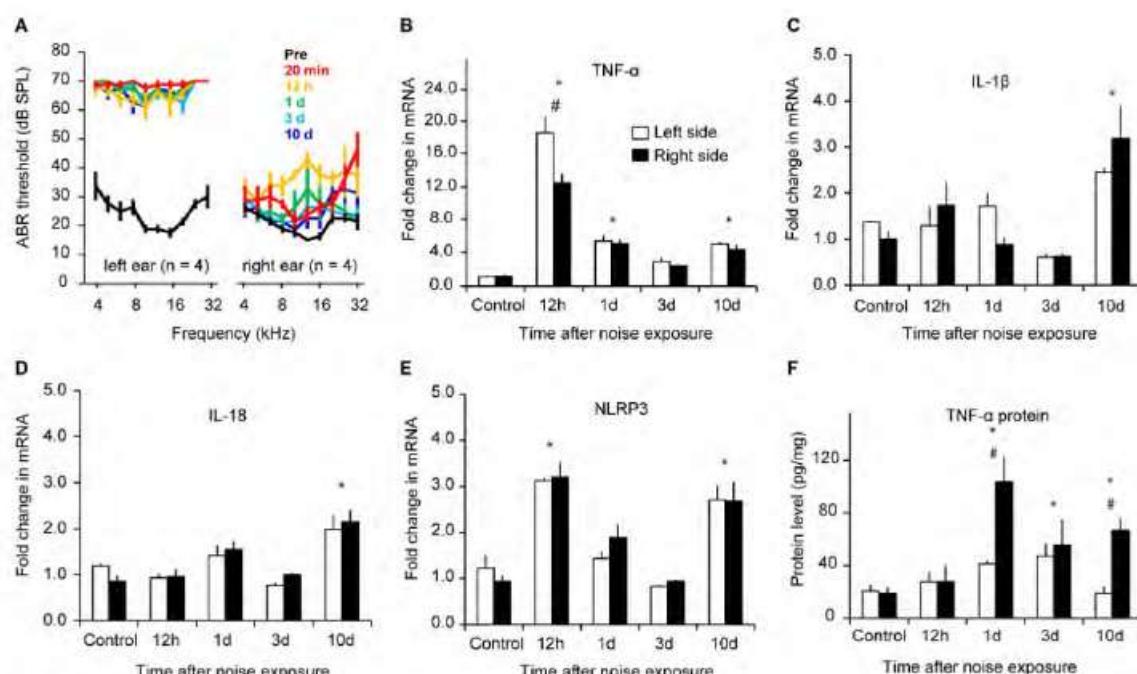
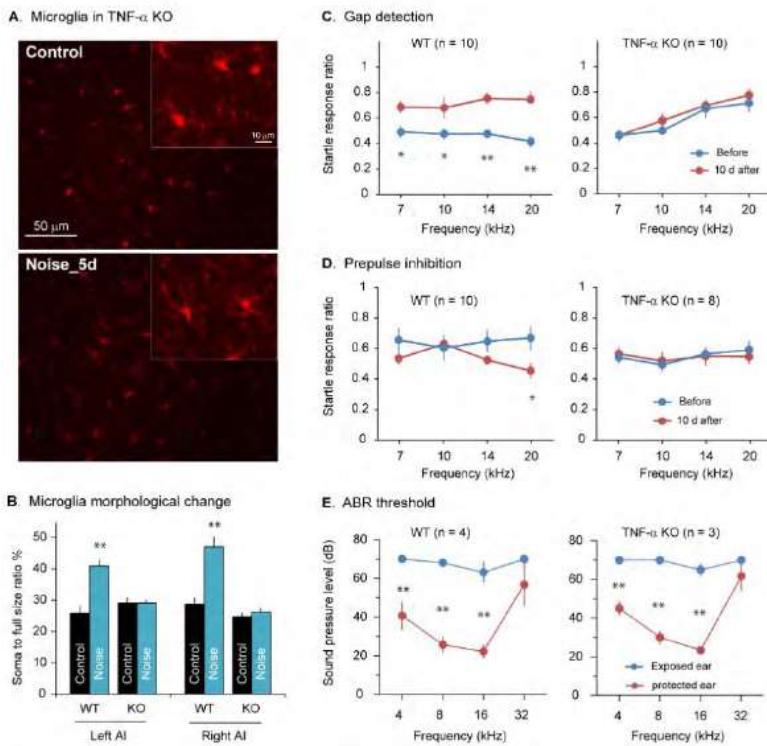


Fig 1. Noise exposure results in elevated expression of proinflammatory cytokines in AI. A. Monaural exposure to loud noises caused long-lasting ABR threshold increases of up to 50 dB in the exposed left ear and temporary threshold increases in the protected right ear that recovered to less than 10 dB in 10 days. B, TNF- α mRNA level increased rapidly within 12 hours of noise exposure, with a stronger ipsilateral than contralateral increase. The increase was also significant at 1 day and 10 days post noise exposure. C–D, IL-1 β and IL-18 mRNA levels both increased in bilateral AI 10 days post noise exposure. E, NLRP3 mRNA level showed biphasic increases at 12 hours and 10 days post noise exposure. F, TNF- α protein levels increased in AI of the right hemisphere 1 day after noise exposure, and the increase persisted to at least 10 days post exposure. Data associated with this figure can be found in S1 Data. Error bars represent SEM. * depicts $P < 0.01$ compared to control; # indicates $P < 0.01$ comparing left and right hemispheres. $n = 4$ mice for each time point in B–F. ABR, auditory brainstem response; AI, primary auditory cortex; IL, interleukin; NLRP3, nod-like receptor protein 3; TNF- α , tumor necrosis factor alpha.

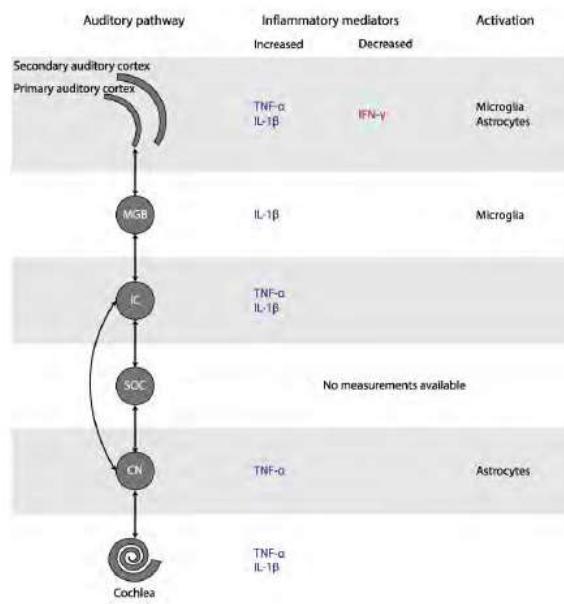
Infiammazione nell'acufene



Nei topi KO per TNFalpha il trauma da rumore monolaterale:

- induce perdita di udito come nei topi wild-type
- **Non** modifica la gap-detection (marcatore di acufene), al contrario dei topi wild-type

Infiammazione nell'acufene



Negli studi su modello animale, la presenza di acufene è correlata a modifiche dello stato infiammatorio **in tutte le stazioni del sistema uditivo**

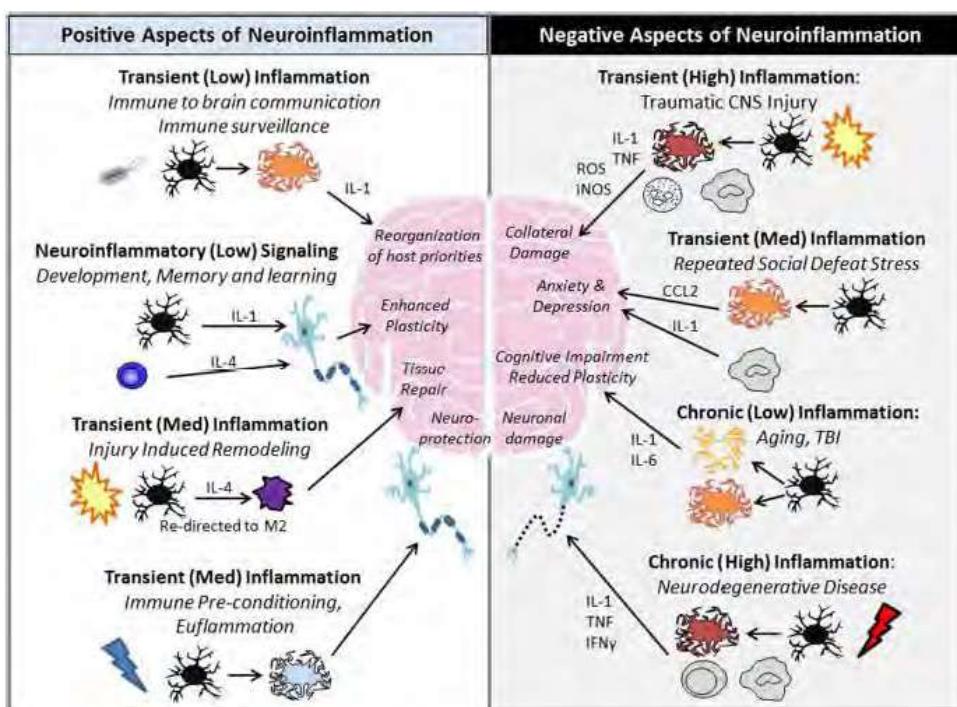
Astrociti e microglia presentano modifiche nei nuclei cocleari, talamo e corteccia uditiva

RESEARCH ARTICLE

Neuroinflammation mediates noise-induced synaptic imbalance and tinnitus in rodent models

Weihua Wang¹, Li S. Zhang^{1,2}, Alexander K. Zinsmaier¹, Genevieve Patterson¹, Emily Jean Leptich¹, Savannah L. Shoemaker¹, Tatiana A. Yatskiewych¹, Robert Gibbons^{1,2}, Edward Pace³, Hao Luo³, Jinsheng Zhang^{3,4}, Sungchil Yang^{2,5}, Shaowen Bao^{1,2*}

Neuroinfiammazione adattativa e maladattativa



DiSabato et al. 2016

Infiammazione nell'orecchio interno

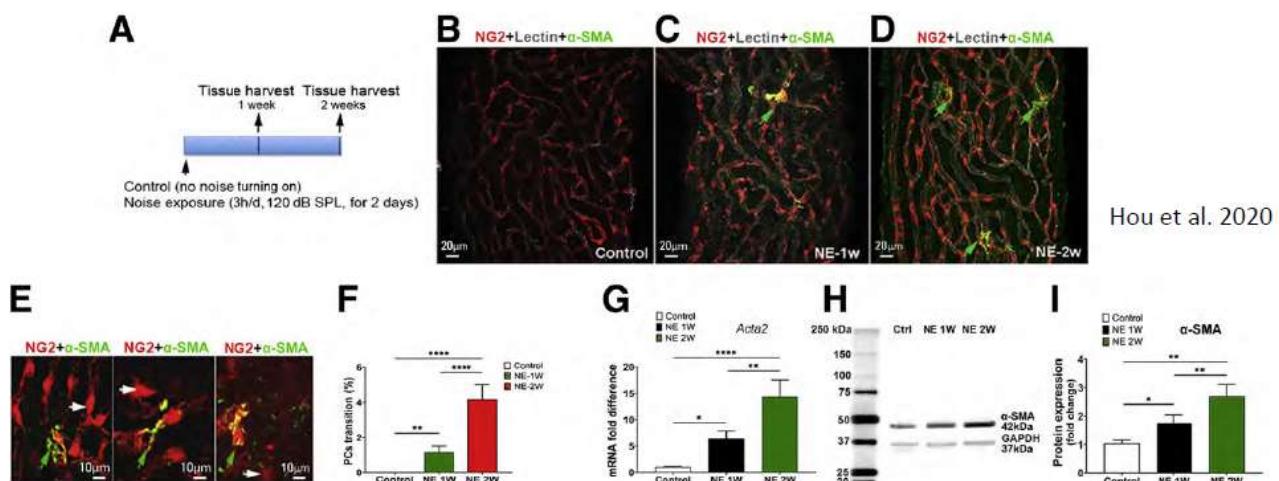
Cause

- Patogeni
- Farmaci ototossici
- Ischemia
- Attacco autoimmune
- Trauma da rumore
- Invecchiamento
- Menière*
- Infiammazione sistemica

Meccanismi

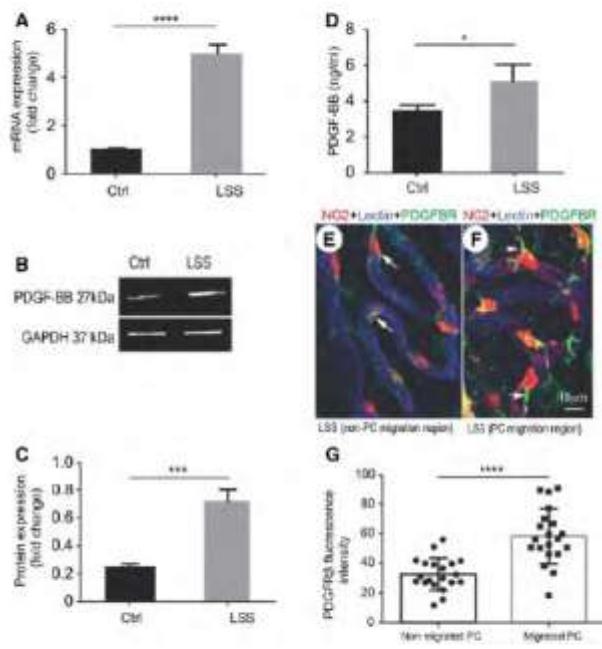
- Macrfagi (diverse popolazioni)
- Periciti (stria)
- Cellule di supporto
- Neutrofili (perilinfa)
- Coclina (perilinfa, endolinfa*)
- Linfociti nel sacco endolinfatico

Regolazione infiammatoria della stria vascolare

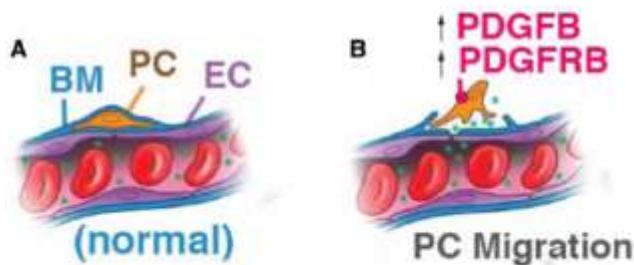


- I periciti si modificano da NG2+ a contrattili/fibrocelli dopo trauma da rumore
- Alterazioni del microcircolo striale

PDGF e periciti cocleari



- Le alterazioni dei periciti dopo trauma da rumore sono medicate dal PDGF-B
- Il PDGF-B viene anche prodotto dalle piastrine



Hou et al. 2018

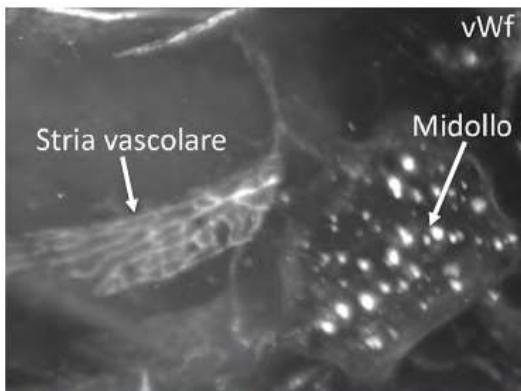
Infiammazione cocleare e piastrine

I fattori prodotti dalla coclea in risposta a danno (es. Trauma da rumore) possono venire prodotti o regolati anche dal sistema immunitario

PDGF è prodotto dalla stria vascolare ma anche dalle piastrine

Cosa succede quando ho un trauma cocleare se la risposta immunitaria è compromessa?

Infiammazione cocleare e piastrine

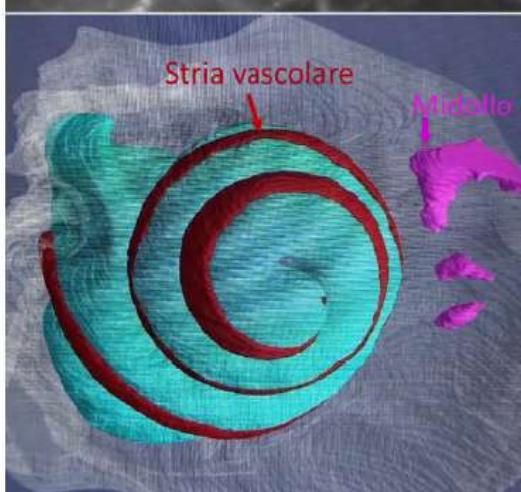


Visualizzazione del midollo nell'osso temporale di ratto

Cluster midollari:

- in associazione con la coclea
- In associazione con il labirinto
- In associazione con il sacco endolinfatico

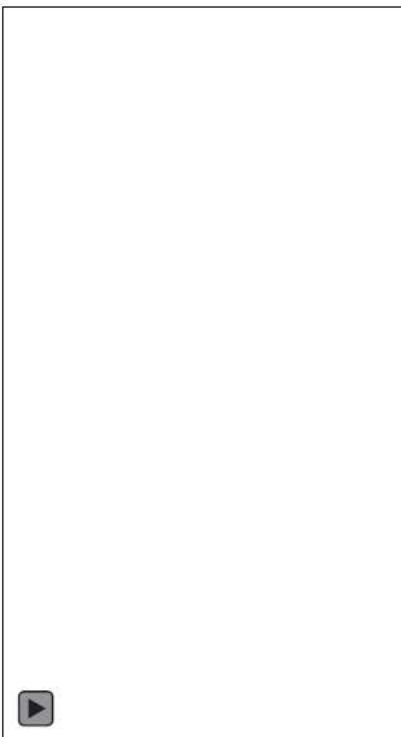
Cellule vWf+: megacariociti



Stimolazione del midollo locale da parte della coclea?

Perin, unpublished data

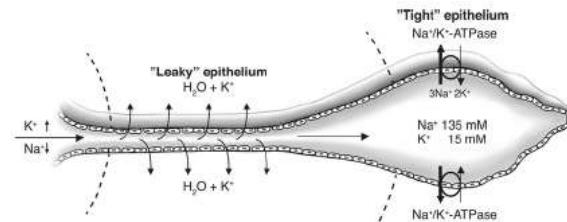
Da dove provengono gli elementi immunitari nell'orecchio?



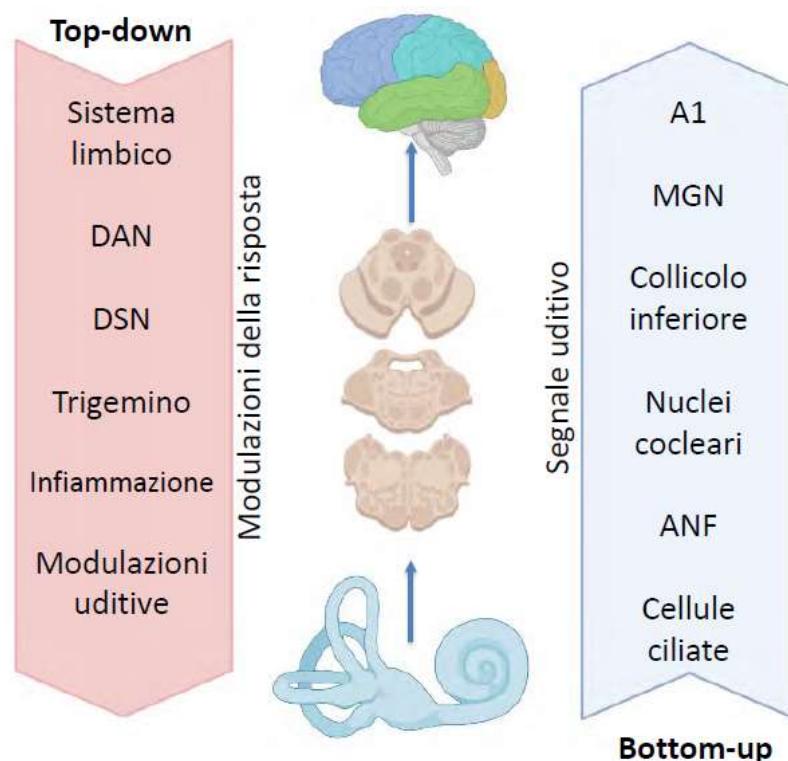
Lo studio del labirinto con chiarificazione tissutale ossea ha mostrato la presenza di canali che collegano il labirinto con altre strutture.

Attorno al dotto e sacco endolinfatico ci sono vasi sanguigni connessi al midollo osseo

Il sacco endolinfatico è il principale organo immunitario dell'orecchio



Alterazioni funzionali nell'acufene



Continuum di modulazione: ogni stazione sensoriale riceve segnali bottom-up e top-down

Alterazioni funzionali nell'acufene

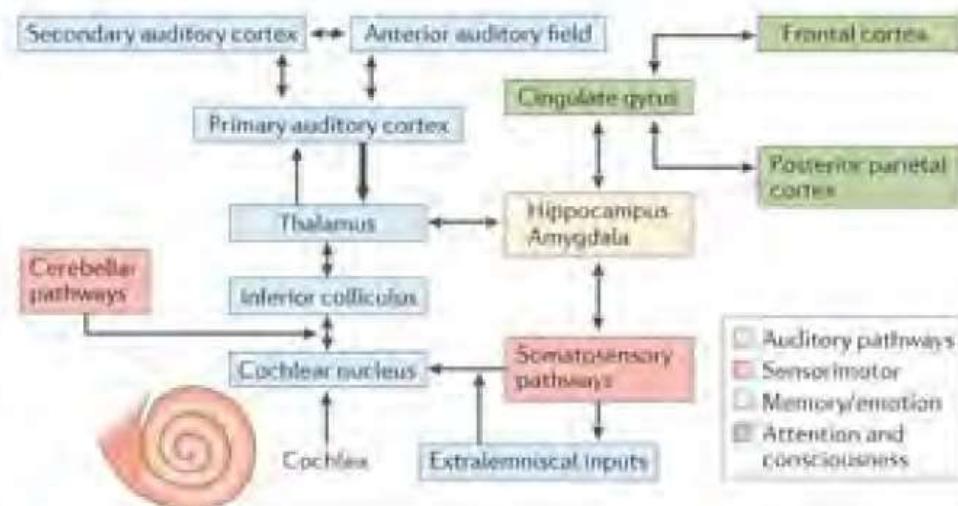
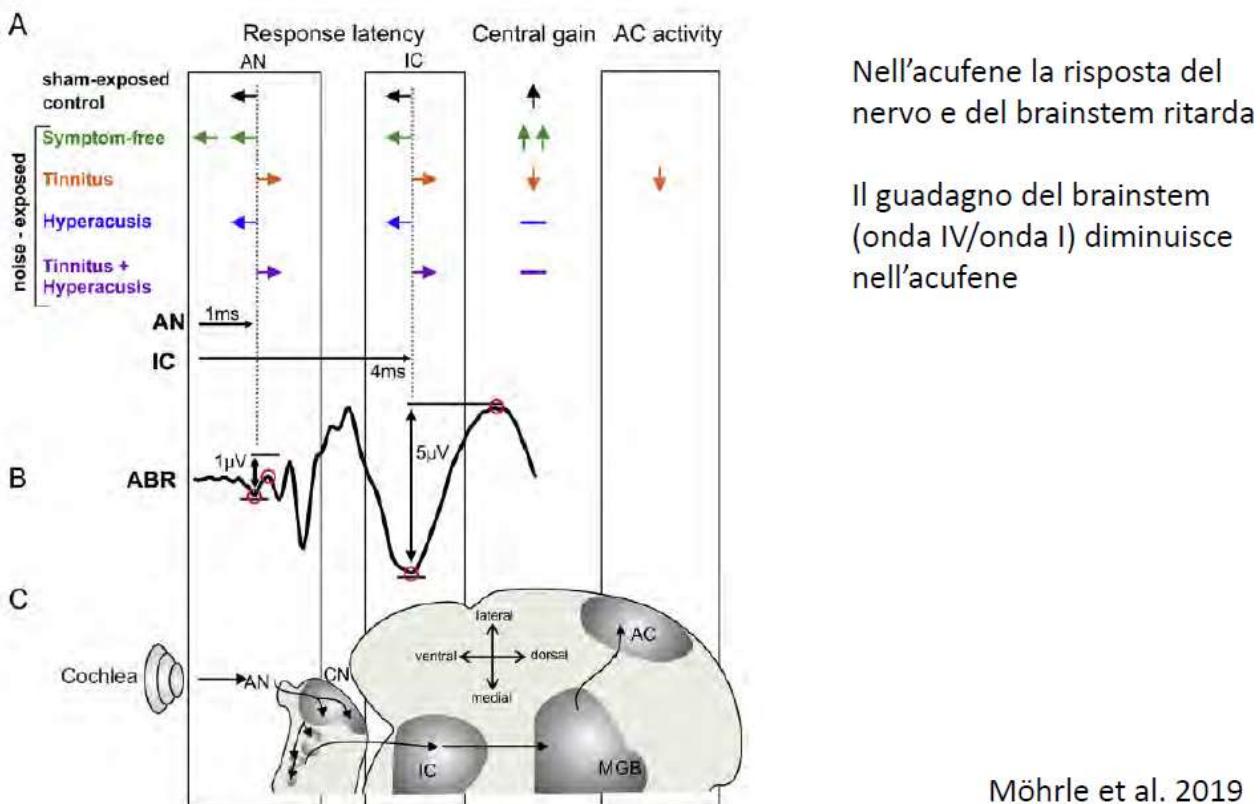
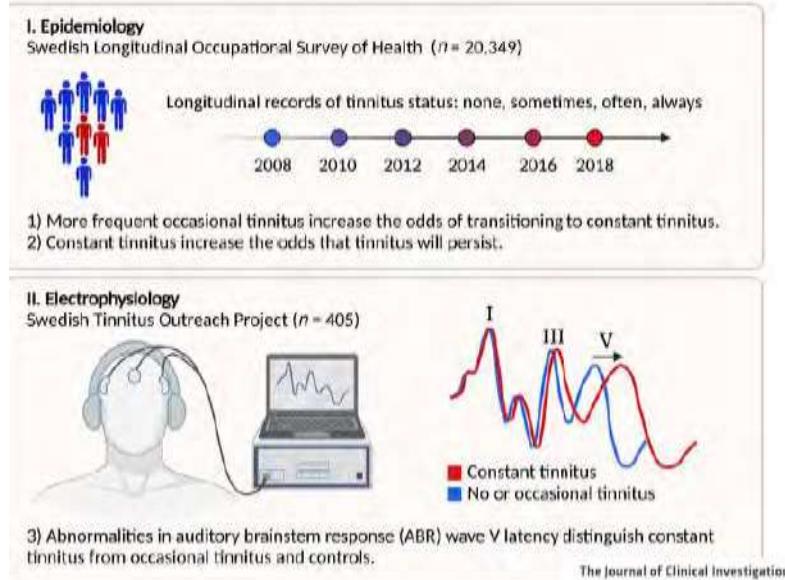


Figure 2 | Simplified representation of auditory and nonauditory pathways in tinnitus. The auditory pathway commences with the cochlear nucleus and projects through the inferior colliculus to the thalamus and auditory cortex. Return projections to the thalamus and subcortical structures are more numerous than forward projections. Output from auditory pathways distributes to several major nonauditory regions of the brain, including areas involved in memory, emotions, attention, consciousness and sensorimotor processing. In this summary diagram, connections among these regions are portrayed by arrows, but the connections among them are densely parallel and reciprocal, mediated directly by corticocortical projections or via the thalamus, as well as by multisensory interactions that occur in subcortical auditory structures.

Compensazione e acufene



ABR e acufene cronico



Il ritardo dell'onda V suggerisce una modifica nell'elaborazione del tronco encefalico anche nell'uomo

Effetti top-down e bottom-up ancora non chiariti e possibilmente eterogenei

CLINICAL MEDICINE

Alterations in auditory brain stem response distinguish occasional and constant tinnitus

Niklas K. Edvall,¹ Golbang Mehrab,¹ Martin Claeson,¹ Andra Lazar,¹ Jan Bulla,^{1,2} Constanze Leineweber,¹ Inger Uhlen,¹ Barbara Canton,¹ and Christopher R. Cederroth^{1,3,4}
1Laboratory of Experimental Audiology, Department of Physiology and Pharmacology, Karolinska Institutet, Stockholm, Sweden; 2Stiebel Therapeutics Inc., Boston, Massachusetts, USA; 3Stress Research Institute (Södertörns högskola), Södertörn University, Stockholm, Sweden; 4Helse og Bakteriologisk, Karolinska Universitetssjukhuset, Stockholm, Sweden; ⁵University of Bergen, Bergen, Norway; ⁶Department of Psychiatry and Psychotherapy, University of Regensburg, Regensburg, Germany; ⁷National Institute for Health Research (NIHR) Nottingham Biomedical Research Centre, Nottingham University Hospitals NHS Trust, Nottingham, United Kingdom (UK); ⁸Sharing Sciences, Division of Clinical Neuroscience, School of Medicine, University of Nottingham, Nottingham, UK.

Il cervelletto nell'acufene

Dopo trauma da rumore unilaterale, i ratti con acufene aumentano l'attività del PVCN e paraflocculo ipsilaterale.

I ratti sani esposti a rumore simile all'acufene attivano il PVCN ipsilaterale ed il DCN bilaterale (Brozoski et al., 2007).

In presenza di acufene, l'espressione di geni legati alla neurogenesi cambia nel paraflocculo

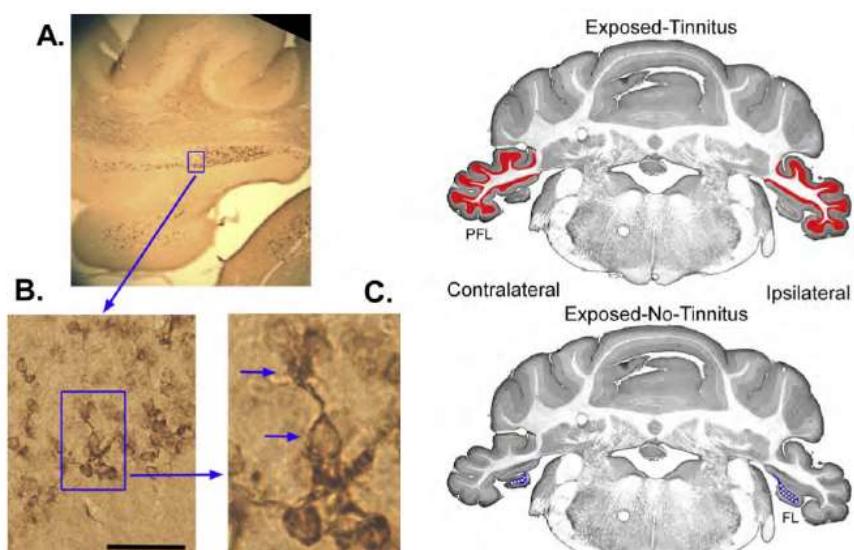
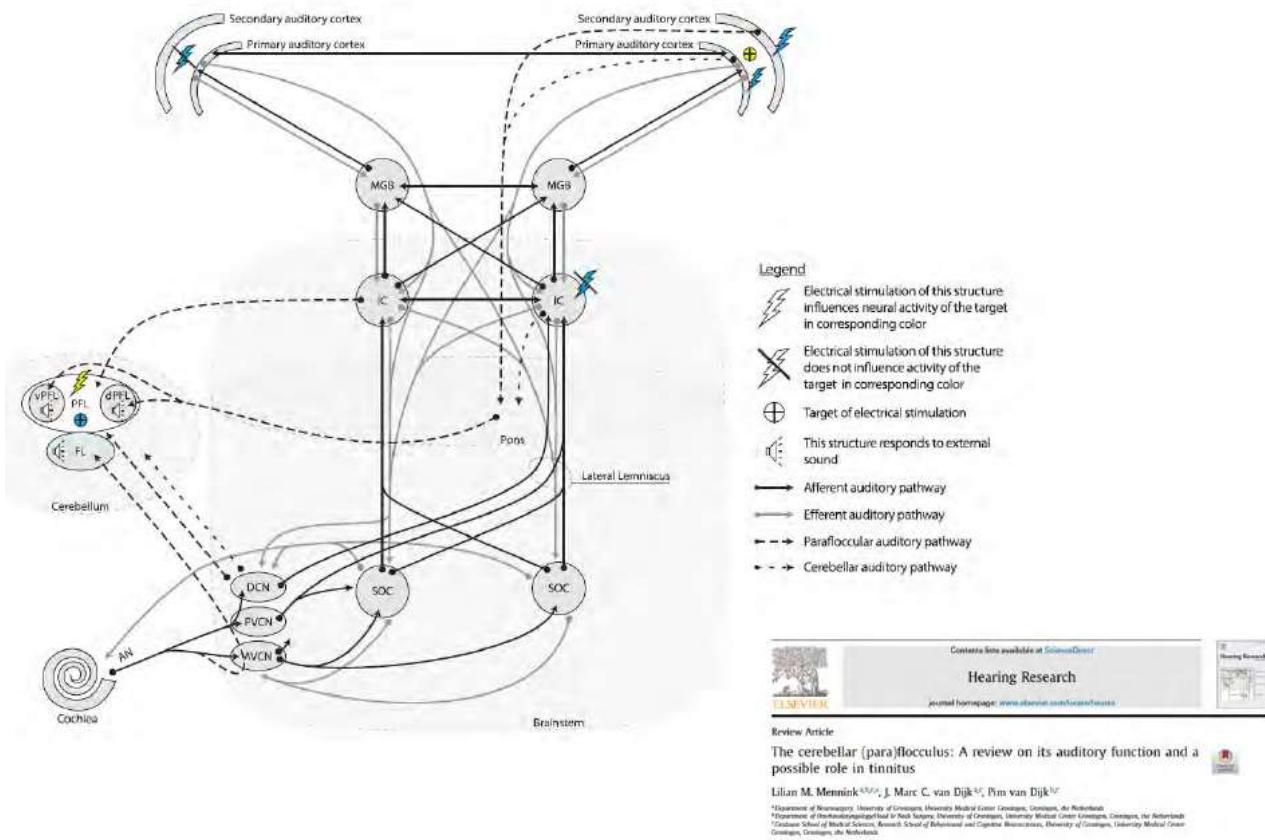


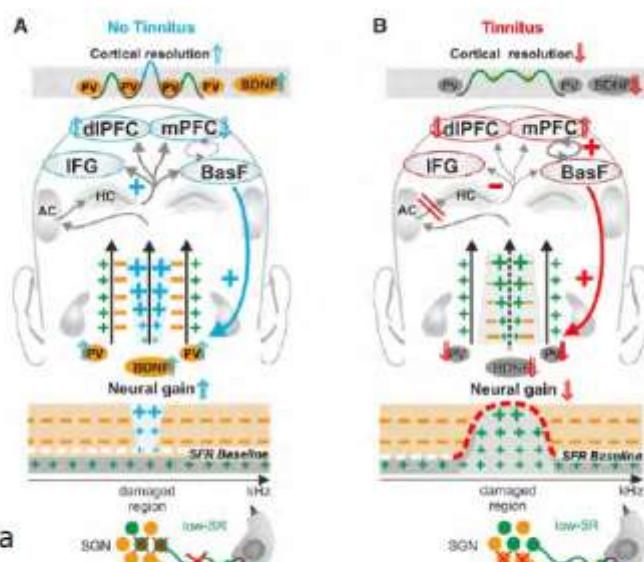
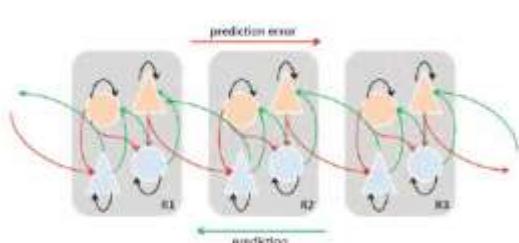
Fig. 4. Representative doublecortin (DCX) IR in the PFL of an exposed animal w tinnitus. Panels A–C show successively higher magnified views of a typical URC reg. Arrows in C indicate a cell body and unipolar brush. Calibration bar = 50 μ m.

Brozoski et al. 2017

Cervelletto e DCN



Acufene e predictive coding



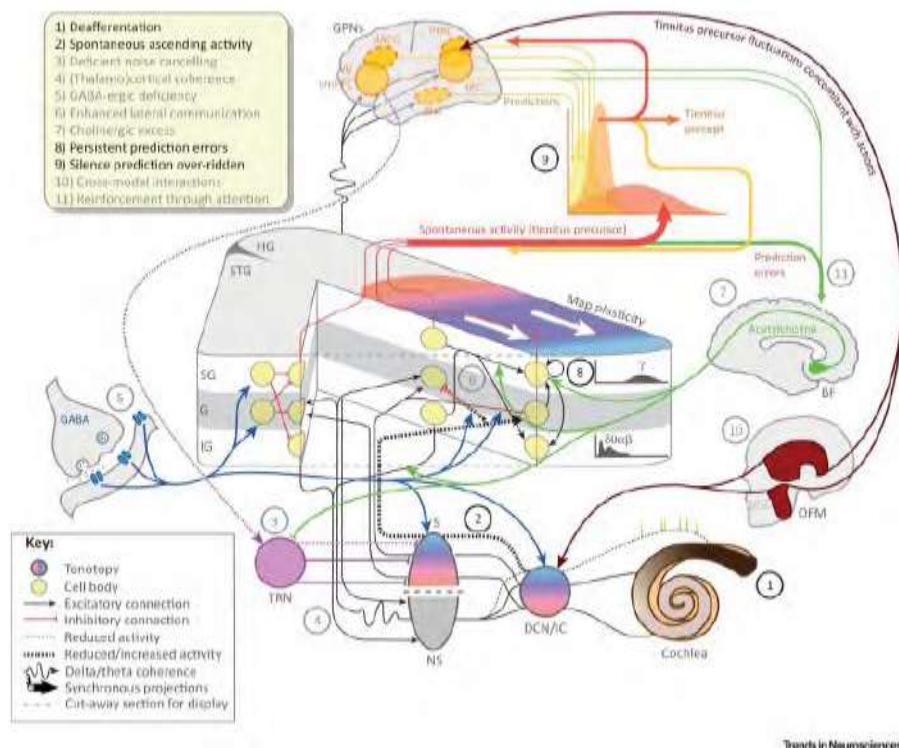
In ciascuna stazione del SNC:
Arrivano segnali «bottom-up»
I neuroni danno una risposta di
«errore» rispetto alle previsioni sul
segnale
La risposta di errore viene passata alla
stazione successiva
I neuroni aggiornano le loro previsioni

Nell'acufene le previsioni della
corteccia mantengono le risposte
aberranti del sistema uditivo

Sedley et al. 2016
Knipper et al. 2020

Acufene e predictive coding

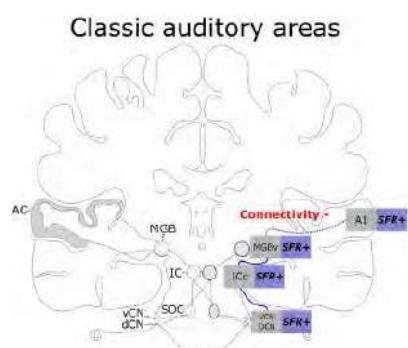
Data la complessità del sistema uditivo (e delle regioni non uditive associate) non è immediato capire da dove viene l'errore di predizione



Trends in Neurosciences

Sedley et al. 2016

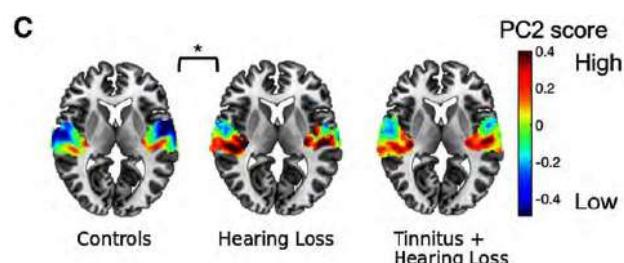
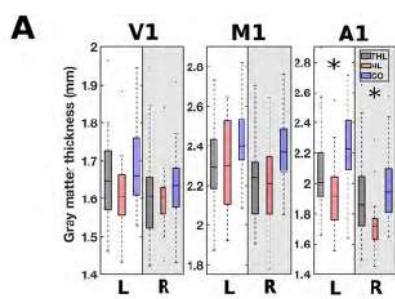
Alterazioni dei circuiti talamocorticali



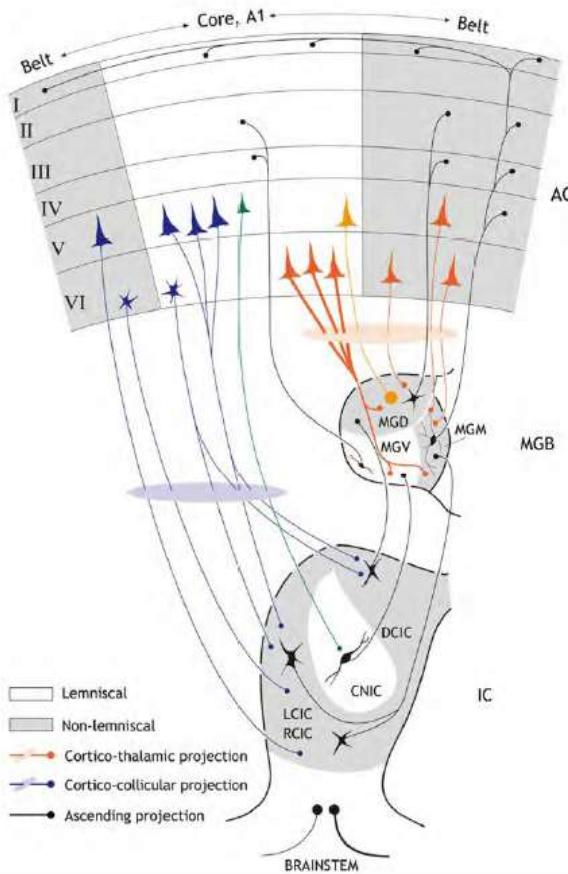
Con la perdita di udito, lo spessore corticale diminuisce (Koops et al. 2020a) e il gradiente tonotopico si altera (Koops et al. 2020b). La presenza di **acufene riduce gli effetti**.

L'acufene è però correlato alla perdita di sostanza bianca nel tratto MGB-A1 sinistro (Koops et al. 2021).

Nonostante l'iperattività nelle vie uditive, la coerenza delle scariche di talamo e corteccia diminuisce (Koops e Eggermont 2021)

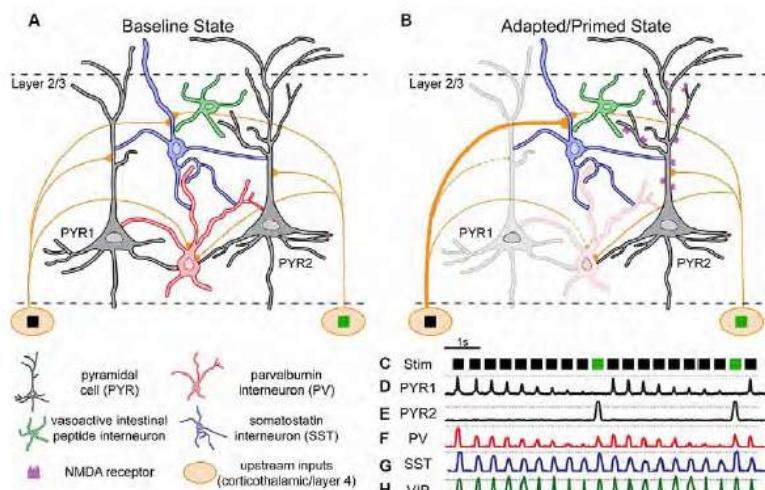


Chi comanda la corteccia uditiva?

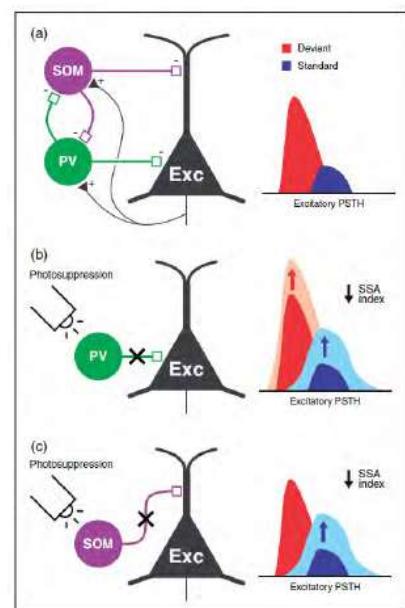


- Il talamo acustico è regolato anche dai circuiti della salienza (Rauschecker et al. 2010)
- Nell'acufene i circuiti talamocorticali perdono coerenza con le vie acustiche inferiori (Boyen et al. 2014)
- Il sistema limbico è coinvolto nella regolazione della percezione acustica

Circuiti nella corteccia uditiva



Ross e Hamm 2020



Carbajal e Malmierca 2018

- Interneuroni inibitori PV+, SOM+
- PV+: coinvolti nella regolazione del guadagno
- SOM+: coinvolti nella SSA

Controversie sui neuroni PV+

I neuroni PV+ hanno caratteristiche che ne suggeriscono un ruolo nell'acufene:

- sono coinvolti nella rilevazione dei gap all'interno dei suoni (Keller et al. 2018)
- sono affetti dal trauma da rumore (Masri et al. 2021) e dal TNF-alfa (Wang et al. 2019)
- sono responsabili delle onde gamma dell'EEG (Cardin et al. 2009)
- Si sviluppano in seguito alle fibre uditive ad alta SFR (Chumak et al. 2016)
- Sono inibitori, e la loro soppressione produce iperattività corticale ()

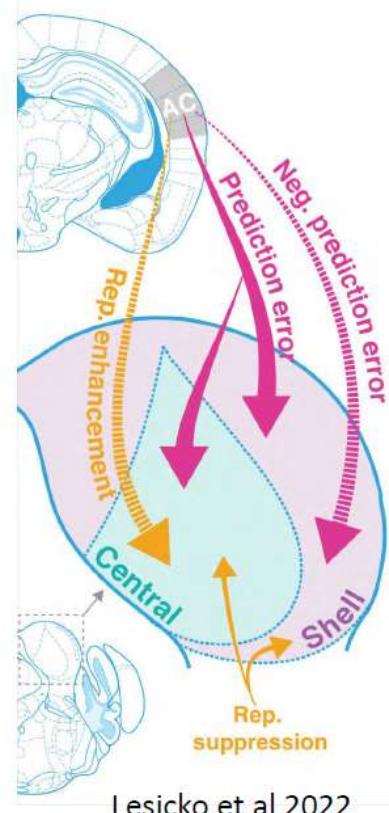
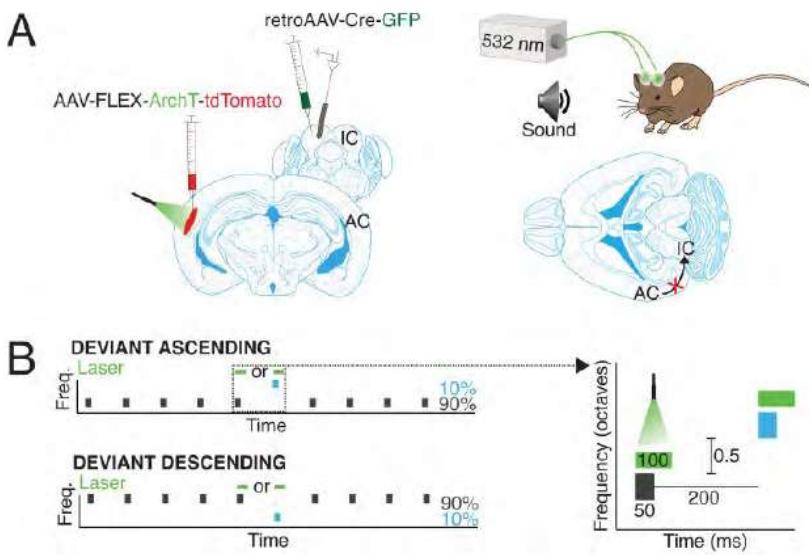
Tuttavia:

- Nell'uomo non sono state osservate correlazioni significative tra rilevazione dei gap e acufene (Duda et al. 2020)
- Il trauma da rumore non esita necessariamente in acufene
- Non ci sono correlazioni funzionali **dirette** tra il ruolo degli interneuroni PV+ e l'acufene

Modulazione top-down

Un modello di topo ha consentito di inattivare selettivamente i neuroni cortico-collicolari

Identificati neuroni che modulano gli errori di predizione



TINNITUS WEEK

- Ogni anno la seconda settimana di Febbraio
- Iniziativa internazionale
- Si ricomincia dopo le quarantene!!!!

Acufeni: teoria e clinica.
Tinnitus Awareness Week 2020
Pavia, 8 febbraio 2020
Aula Scarpa – via Strada Nuova 65

4. Evento 286149 ed. 1

I Crediti ECM

La finalità dell'evento è quella di mettere a disposizione dei partecipanti le prime risultati nella ricerca, diagnosi e trattamento degli acufeni. Il corso si apre con un'analisi delle maggiori novità nel campo delle neuroscienze e della farmaco terapie. Seguirà la presentazione del nuovo diagnostico terapeutico ai pari con gli acufeni, con presentazione di casi clinici. Infine, a conclusione del corso, sarà affrontata una sessione di domanda e risposta agli esperti.

Questo evento è inserito nell'iniziativa internazionale "Tinnitus Awareness Week 2020", la presenza di pazienti interessati all'argomento, oltre che di operatori professionali sanitari, è fortemente incoraggiata.

L'iscrizione all'evento è gratuita e può venire effettuata registrandosi sul www.convegnosp.it. La registrazione dei partecipanti avverrà in linea a partire dalle 09.00.



ORARI	ARGOMENTI
14.00 - 14.30	Teorie neurofisiologiche dell'acufene (P. Perin)
14.30-15.00	Approccio farmacologico all'acufene: chimera o realtà? (P. Marino)
15.00-15.30	Approccio multidisciplinare all'acufene (S. Barozzi)
15.30-16.00	Coffee break
16.00-16.30	Approccio all'acufene: l'esperienza ovese (S. Quazza)



Special Topic Frontiers

Research Topic

Neuroimmunology of the Inner Ear

20 articoli accettati

Topic Editors



Agnieszka J. Szczepak
Charité – Universitätsmedizin
Berlin
Berlin, Germany

104 publications



Paola Perin
University of Pavia
Pavia, Italy

31 publications



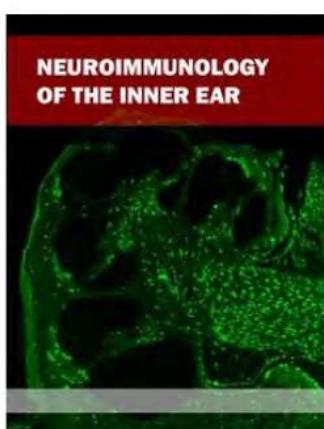
Franca Marino
University of Insubria
Varese, Italy

58 publications

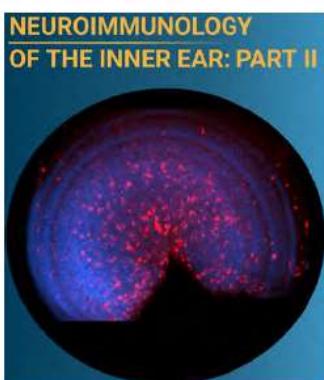


Isabel Varela-Nieto
Consejo Superior de
Investigaciones Científicas (CSIC)
Madrid, Spain

134 publications



Inizio giugno 2022



Attività in corso lab Perin



- Formazione ECM: speaker su invito a scuole e congressi di Otorinolaringoiatria per **informare e aggiornare i medici** sulle basi fisiopatologiche dell'acufene
- Ricerca di laboratorio
- Ricerca preclinica
- Ricerca clinica

Attività in corso lab Perin

Studio della provenienza degli elementi immunitari nell'orecchio

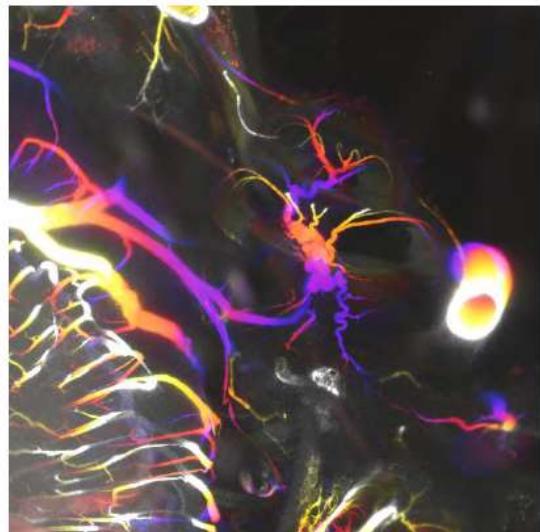
Studio della preparazione di campioni chiarificati umani provenienti da banca di tessuto (utilizzo del maiale come modello per i tessuti umani)

Studio dell'anatomia del plesso coroideo

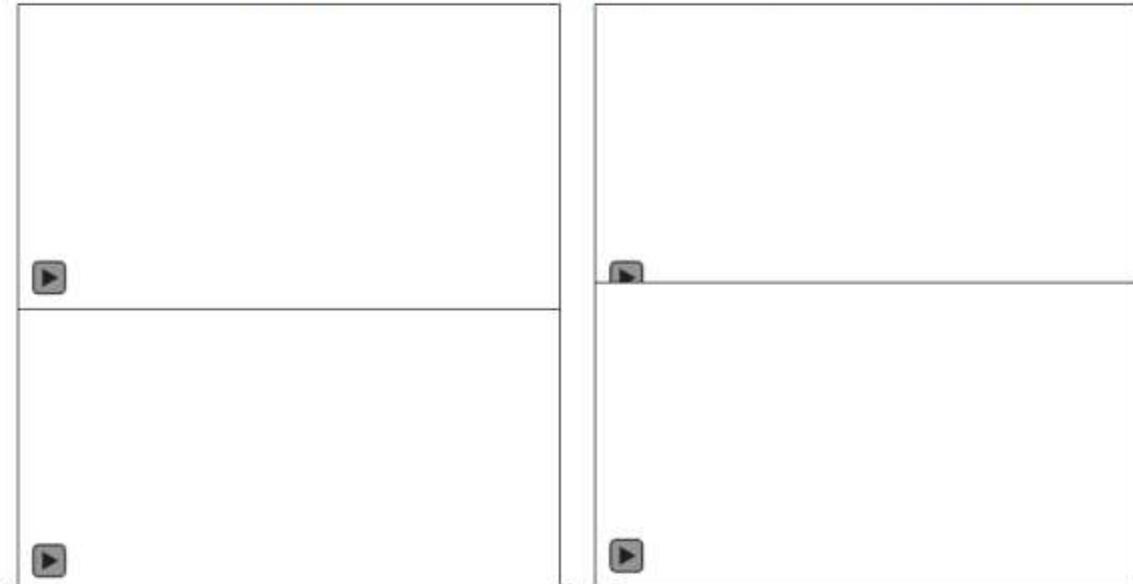
Studio del coinvolgimento del cervelletto nella neuroinfiammazione da trauma uditorio

Studio del ruolo differenziale del cervelletto e del nucleo cocleare dorsale nell'acufene

Messa a punto di metodi di machine learning per analisi di imagine



Attività in corso lab Perin



3D Reconstruction of the Clarified Rat Hindbrain Choroid Plexus

Paola Perini¹, Riccardo Rossetti¹, Carolina Ricci¹, Daniele Cossellu¹, Simone Lazzarini¹, Philipp Betzge^{1,2}, Fabian R. Voigt^{1,2}, Fritjof Helmchen^{1,2}, Laura Battì³, Ivana Gantar³ and Roberto Pizzai⁴

¹Department of Brain and Behavioral Sciences, University of Pavia, Pavia, Italy

²Department of Molecular Medicine, University of Pavia, Pavia, Italy

³Brain Research Institute, University of Zurich, Zurich, Switzerland

⁴Neuroscience Center Zürich, Zürich, Switzerland

⁵Wets Center for Life and Materials Science, Geneva, Switzerland

