

RIASSUNTO

Introduzione

La sindrome dell'intestino irritabile (IBS) è un disturbo funzionale molto frequente caratterizzato da fastidio/dolore addominale e alterazioni dell'alvo (costipazione e/o diarrea). Questa sindrome si manifesta con un'elevata prevalenza nella popolazione generale (fino al 20%), costituendo la diagnosi più frequente nella pratica clinica gastroenterologica. L'IBS è infatti responsabile di una marcata riduzione della qualità di vita dei pazienti e anche di un notevole consumo di farmaci. Attualmente non sono disponibili farmaci in grado di curare in maniera soddisfacente questa patologia. Probabilmente questo è dovuto al fatto che, nonostante le numerose ipotesi eziopatogenetiche, nessuna si è affermata con certezza sulle altre.

Nell'ultimo decennio, l'attenzione dei ricercatori si è concentrata sul possibile ruolo svolto dalla serotonina (5-HT) nel determinismo dell'IBS. La 5-HT è un mediatore attivo sia a livello del sistema nervoso centrale (SNC) che dei tessuti periferici. Nel tratto gastrointestinale le concentrazioni di questo mediatore sono molto elevate: la mucosa intestinale contiene più del 95% della 5-HT presente nell'intero organismo. A questo livello la 5-HT viene liberata dalle cellule enterocromaffini (EC) in risposta a specifici stimoli meccanici o chimici e regola le funzioni secretive, motorie e sensoriali del tratto digerente attraverso vari recettori, soprattutto 5-HT_{1P}, 5-HT₃, 5-HT₄ e 5-HT₇.

La quantità di 5-HT che agisce sui recettori è regolata dal trasportatore della serotonina (SERT) responsabile della ricaptazione del mediatore nell'ambiente intracellulare. L'attività di questo trasportatore può essere specificamente bloccata da farmaci utilizzati come antidepressivi, denominati

“inibitori selettivi della ricaptazione della serotonina” (SSRI). A livello della mucosa intestinale il SERT media la ricaptazione della 5-HT negli enterociti e questo rappresenta il meccanismo principale di regolazione delle azioni svolte localmente dalla serotonina.

Razionale e obiettivi dello studio

Studi di genotipizzazione hanno evidenziato l'esistenza di diversi polimorfismi nel gene SERT. Uno di questi è presente nella regione promoter ed è denominato “5-HT transporter length polymorphic region” (5HTTLPR). Questa regione polimorfica dà luogo a due alleli principali, denominati short (S) e long (L), che sono in grado di regolare l'attività trascrizionale del promotore associato al gene che codifica per il SERT. In particolare, la condizione di omozigosi per la variante short (S/S) e lo stato di eterozigosi (S/L) sono caratterizzati da una minore attività trascrizionale del gene SERT, da ridotti livelli di espressione della proteina SERT e, conseguentemente, da una ridotta capacità di ricaptazione della 5-HT. Recentemente alcuni autori hanno posto particolare attenzione al possibile ruolo dei polimorfismi genetici del SERT nella fisiopatologia dell'IBS e nella variabilità individuale della risposta alla terapia dei disturbi depressivi con SSRI. Inoltre, poiché le variazioni delle concentrazioni biologicamente attive della 5-HT endogena possono condizionare la risposta dei recettori serotoninergici al trattamento con farmaci agonisti o antagonisti, l'analisi dei polimorfismi del SERT potrebbe predire la risposta a questi farmaci e rappresentare quindi una base razionale per l'individualizzazione delle terapie farmacologiche in pazienti con IBS associata a diversi profili di sintomatologia digestiva.

Sulla base di queste premesse, il presente progetto di studio è stato svolto allo scopo di: a) esaminare possibili differenze nel profilo di distribuzione del polimorfismo 5HTTLPR fra pazienti con IBS e soggetti di controllo (volontari sani); b) verificare l'esistenza di possibili differenze nella distribuzione del polimorfismo 5HTTLPR in pazienti affetti da diverse forme cliniche di IBS (alvo diarroico, costipato o alternante); c) verificare l'esistenza di possibili correlazioni tra il polimorfismo 5HTTLPR e gli indici di gravità della sintomatologia associata all'IBS.

Metodi

Sono stati selezionati 200 pazienti naïve che presentavano segni e sintomi compatibili con la diagnosi di IBS secondo i criteri di Roma II. I pazienti con IBS sono stati suddivisi in base alla manifestazione clinica della sindrome in: diarrea-predominante (D-IBS; n=69), costipazione-predominante (C-IBS; n=76) e alvo alternante (A-IBS; n=55). La gravità dei sintomi è stata valutata per mezzo del questionario IBS-SSS che prende in considerazione: a) presenza, gravità e frequenza del dolore addominale; b) presenza e gravità della distensione addominale; c) grado di soddisfazione del comportamento defecatorio; d) grado di interferenza dell'IBS con la normale attività lavorativa e sociale. Sono stati selezionati anche 200 volontari sani che per età e per sesso fossero paragonabili ai pazienti. I due gruppi sono composti da 154 donne e 46 uomini ciascuno. L'età media è di 38,9 anni (intervallo: 18-75 anni) nel gruppo dei pazienti e di 40,4 anni (intervallo: 19-84 anni) nel gruppo dei volontari sani.

I pazienti e i volontari sani sono stati sottoposti al prelievo di un campione di sangue o di saliva utilizzato per estrarre DNA genomico. La regione

del promotore del gene SERT contenente il polimorfismo 5HTTLPR è stata amplificata mediante tecnica PCR (Polymerase Chain Reaction). La presenza di una singola banda è caratteristica di individuo omozigote: per la variante allelica S la banda è di 528 paia di basi; per la variante L la banda è di 572 paia di basi. L'individuo eterozigote presenta entrambe le bande.

Le differenze tra le frequenze genotipiche dei pazienti e dei volontari sani sono state analizzate attraverso il test di Pearson e di Fisher. Le differenze tra i risultati ottenuti con il questionario IBS-SSS e la distribuzione dei genotipi sono state valutate mediante l'analisi della varianza (ANOVA). In tutte le analisi statistiche è stato considerato un livello di significatività pari a $P < 0.05$.

Risultati

Distribuzione dei genotipi 5HTTLPR nei pazienti con IBS e nei volontari sani

Analisi globale

La distribuzione dei genotipi 5HTTLPR nei pazienti con IBS è risultata: L/L, 32,0% (n=64); L/S, 51,5% (n=103); S/S, 16,5% (n=33). La distribuzione dei genotipi nei volontari sani è risultata: L/L, 30% (n=60); L/S, 51,0% (n=102); S/S, 19,0% (n=38). L'analisi statistica non ha evidenziato variazioni significative tra i due gruppi esaminati (test di Pearson: $P = 0.7843$).

Analisi per alvo

La distribuzione dei genotipi 5HTTLPR nelle diverse manifestazioni cliniche della sindrome è stata:

-D-IBS (n=69): S/S (18.8%), L/S (49.3%), L/L (31.9%);

-C-IBS (n=76): S/S (13.2%), L/S (48.7%), L/L (38.1%);

-A-IBS (n=55): S/S (18.2%), L/S (58.2%), L/L (23.6%).

L'analisi statistica non ha evidenziato variazioni significative rispetto ai controlli (test di Pearson: $P=0.6633$). Tuttavia è stata riscontrata una tendenza del genotipo S/S ad essere meno frequente nei pazienti con C-IBS (13.2% vs 19.0% nei volontari sani). Successivamente l'analisi è stata condotta nel solo gruppo di pazienti di sesso femminile e l'analisi statistica non ha evidenziato variazioni significative (test di Pearson $P=0.3062$). Tuttavia è stata riscontrata anche in questo caso una tendenza del genotipo S/S ad essere meno rappresentato nella variante costipata (13.1% vs 19,5% nei volontari sani) e ad essere più rappresentato nella variante diarroica (30.2% vs 19.5% nei volontari sani). La scarsa consistenza numerica del campione maschile (n=46) non ha permesso la stratificazione in base all'alvo.

Analisi degli indici di gravità e frequenza dei sintomi dell'IBS

Per quanto riguarda la valutazione dei sintomi per mezzo del questionario IBS-SSS non sono state evidenziate correlazioni significative tra la gravità dei sintomi e la distribuzione del genotipo 5HTTLPR sia quando è stato analizzato il punteggio totale ottenuto, che quando sono stati in considerazione i singoli indici del questionario. Il grado di insoddisfazione dell'alvo e la gravità del meteorismo sono risultati significativamente più elevati nei pazienti con alvo costipato.

Conclusioni

Le valutazioni condotte nel presente studio indicano l'assenza di una differenza significativa sia in merito alla frequenza di distribuzione dei diversi genotipi del polimorfismo 5HTTLPR tra i due gruppi esaminati, che in relazione alla frequenza di distribuzione di questi genotipi nei diversi sottogruppi di pazienti con IBS rispetto al gruppo dei volontari sani. Queste osservazioni suggeriscono che il polimorfismo 5HTTLPR del gene SERT potrebbe non essere significativamente coinvolto nei meccanismi patogenetici che sottendono l'insorgenza dell'IBS o le sue varianti cliniche. Questa conclusione avvalorava l'ipotesi di una patogenesi multifattoriale della sindrome: è probabile infatti che la modificazione del processo di ricaptazione della 5-HT non rappresenti l'unico fattore, o potrebbe essere più importante in particolari sottogruppi di pazienti (es.: eziologia post-infettiva, prevalenza di disturbi psicologici, etc.). Tuttavia nel gruppo dei pazienti con predominanza di costipazione il genotipo S/S tende ad essere rappresentato con minore frequenza e il genotipo L/L con maggiore frequenza. Il polimorfismo 5HTTLPR potrebbe quindi costituire un fattore importante nel determinare l'espressione clinica della sindrome. In particolare, i pazienti con variante costipata potrebbero essere caratterizzati da una maggiore presenza dell'allele L, il quale è stato associato a una elevata espressione tissutale di SERT e quindi a una migliore efficienza di ricaptazione cellulare della 5-HT. In altri termini, la maggior parte dei pazienti con variante costipata potrebbe essere caratterizzata da un'elevata capacità di ricaptazione cellulare della 5-HT e, conseguentemente, da una minore disponibilità, in

termini di tempo e/o concentrazione, della quota biologicamente attiva di questo mediatore.