

PARTE SPERIMENTALE

INTRODUZIONE

L'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. Poiché questa patologia non riduce la sopravvivenza, spesso non ne viene valutata con attenzione la reale importanza sia dal punto di vista sociale che economico. L'IBS è infatti responsabile di una marcata riduzione della qualità di vita dei pazienti e anche di un notevole consumo di farmaci. Inoltre è stato calcolato che i costi annuali di questa sindrome negli Stati Uniti si aggirano intorno a 1,55 miliardi di dollari (Camilleri, 2002; Videlock e Chang, 2007)

Attualmente non sono disponibili farmaci in grado di curare in maniera soddisfacente questa patologia. Vengono infatti utilizzati vari presidi, di tipo farmacologico e non, per trattare i singoli sintomi che caratterizzano la sindrome, con esiti spesso insoddisfacenti e con elevata variabilità di risposta sia tra pazienti diversi che nello stesso paziente in tempi diversi (Camilleri, 2002). Probabilmente questo è dovuto al fatto che, nonostante le numerose ipotesi eziopatogenetiche, nessuna si è affermata con certezza sulle altre. Negli ultimi anni, l'attenzione dei ricercatori si è tuttavia andata concentrando sul possibile ruolo svolto dalla 5-HT (De Ponti e Tonini, 2001; Gershon, 2003). Molti studi clinici suggeriscono infatti un possibile coinvolgimento della 5-HT nei meccanismi eziopatogenetici dell'IBS (Mawe et al. 2006).

La 5-HT è un mediatore attivo sia a livello del 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 EC in risposta a specifici stimoli meccanici o chimici (Kim, 2000). In particolare i riflessi peristaltici e secretori sono mediati dalla liberazione di 5-HT dalle cellule EC e dipendono prevalentemente dalla stimolazione dei recettori 5-HT_{1P}, 5-HT₃ e 5-HT₄ (De Ponti, 2001; Gershon, 2003). La 5-HT può indurre la liberazione di ACh dai neuroni colinergici, determinando la contrazione della muscolatura liscia digestiva, oppure può stimolare i neuroni nitrergici a liberare NO causando il rilassamento della muscolatura digestiva (Gershon e Tack, 2007).

La quantità di 5-HT che agisce a livello dei recettori è regolata dal SERT. Questo trasportatore media infatti la ricaptazione intracellulare della 5-HT tramite un meccanismo sodio/cloro-dipendente ed è localizzato prevalentemente nell'epitelio della mucosa intestinale (asse del criptovillo), nei plessi nervosi intramurali del tubo digerente, nelle piastrine e nel SNC (Rudnick, 2006). Studi di biologia molecolare hanno evidenziato che il SERT possiede un profilo molecolare identico nelle diverse sedi cellulari (Lesch et al., 1993). Inoltre la sua attività può essere specificamente bloccata da farmaci utilizzati come antidepressivi e denominati "inibitori selettivi della ricaptazione della 5-HT" (paroxetina, fluoxetina, etc.).

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 5-HT (Chen, 1998). Studi di genotipizzazione

hanno evidenziato l'esistenza di polimorfismi nel gene che codifica per il SERT. Sono stati individuati un polimorfismo nell'introne 2 (STin2), e un altro nella regione promoter (5HTTLPR). Quest'ultimo dà luogo a due alleli, 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 (Lesch et al., 1993).

Recentemente alcuni autori hanno posto particolare attenzione al possibile ruolo dei polimorfismi genetici del SERT nella fisiopatologia della IBS e nella variabilità individuale della risposta alla terapia con farmaci attivi sul sistema serotoninergico. In particolare, l'avanzamento delle conoscenze sul polimorfismo del SERT potrebbe fornire nuove indicazioni per l'uso terapeutico di farmaci attivi sul SERT (per esempio SSRI) in specifici sottogruppi di pazienti con IBS (Colucci et al., 2008). Inoltre, poiché le variazioni delle concentrazioni biologicamente attive di 5-HT endogena possono condizionare la risposta dei recettori serotoninergici al trattamento con farmaci agonisti o antagonisti di tali recettori, la genotipizzazione del SERT potrebbe predire la risposta terapeutica a questi farmaci e rappresentare quindi una base razionale per l'individualizzazione delle terapie farmacologiche in pazienti con diversi profili di sintomatologia digestiva.

OBIETTIVI DEL PROGETTO DI RICERCA

Il presente progetto di studio è stato svolto allo scopo di:

- ✓ esaminare possibili differenze nel profilo di distribuzione del polimorfismo 5HTTLPR fra pazienti con IBS e soggetti di controllo (volontari sani);
- ✓ 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);
- ✓ verificare l'esistenza di possibili correlazioni tra il polimorfismo 5HTTLPR e gli indici di gravità della sintomatologia associata all'IBS;

Per perseguire questi obiettivi, è stato sviluppato un protocollo di amplificazione di DNA genomico isolato da saliva o sangue per l'analisi del polimorfismo 5HTTLPR nelle coorti di pazienti con IBS e di volontari sani tramite metodica PCR (*Polymerase Chain Reaction*).