



impatto della ricerca di base sulla medicina di domani

Genetica della BPCO*

Néstor A. Molfino, MD, MSc, FCCP

La BPCO è un insieme complesso di segni e sintomi in pazienti con bronchite cronica ed enfisema ed è una malattia ampiamente associata al fumo di sigaretta. Non tutti i fumatori tuttavia sviluppano BPCO e la BPCO si può sviluppare in soggetti che non fumano. Negli Stati Uniti al momento la BPCO è la quarta causa di morte. Sorprendentemente, per la BPCO non esistono terapie farmacologiche efficaci, in grado cioè di alterare significativamente la progressione della malattia, e i meccanismi molecolari che ne stanno alla base sono ancora poco conosciuti. Studi di associazione dei geni candidati e analisi del linkage sono stati effettuati in pazienti con BPCO. Questa review descrive la predisposizione genetica dei soggetti normali o dei consanguinei di pazienti con BPCO a sviluppare la malattia. Inoltre, vengono descritte le basi genetiche della BPCO associata a rapido declino del FEV₁. Vengono discussi in questa review i dati genetici disponibili, ottenuti da studi su pazienti affetti da BPCO con un fenotipo prevalente di enfisema e di bronchite cronica e i dati relativi alla risposta ai broncodilatatori.

(*CHEST Edizione Italiana 2004; 4:52-63*)

Parola chiave: gene candidato; bronchite cronica; enfisema; genoma; linkage; positional cloning; polmonare

Abbreviazioni: α_1 AT = α_1 -antitripsina; BDR = risposta al broncodilatatore; CF = fibrosi cistica; CFTR = regolatore della conduttanza transmembrana nella fibrosi cistica; cM = centimorgan; GST = glutatione-S-transferasi; HEMOX = eme ossigenasi; IC = intervallo di confidenza; IL = interleuchina; LOD = logaritmo degli odd che favoriscono il linkage genetico; mEPHX = idrossilasi epossidica microsomiale; MMP = matrice della metalloproteinasi; NHLBI = National Heart, Lung, and Blood Institute; NSBH = iperresponsività bronchiale aspecifica; OR = odd ratio (rapporto di rischio); Pi = inibitore della proteasi; ROS = specie reattive dell'ossigeno; STR = ripetizione breve tandem; TIMP = inibitore tissutale della metalloproteinasi; TNF = tumor necrosis factor

Nella BPCO, come in molte altre condizioni patologiche, una completa descrizione delle componenti molecolari che codificano un particolare fenotipo non permetterebbe di comprendere completamente la malattia se non si tenesse conto dell'influenza di altri fattori come quelli ambientali. Questa interazione tra il genotipo e l'ambiente rende difficile definire i fenotipi estremi della BPCO. Questo è evidenziato anche dalle recenti definizioni cliniche di BPCO,^{1,2} che sono ampie e che includono chiaramente diversi fenotipi. Oltre alla complessità dell'interazione tra genotipo e ambiente, lo studio dei fe-

notipi della BPCO è ostacolato dall'uso di sostanze terapeutici quali i broncodilatatori e gli steroidi. Sebbene la risposta a questi trattamenti possa variare nel tempo,^{3,4} questi tendono a rendere la popolazione omogenea. Pertanto, attualmente i pazienti con BPCO vengono classificati in base alla severità dell'ostruzione,^{1,2} al flusso aereo, indipendentemente dai meccanismi che stanno alla base della malattia.

Le alterazioni patologiche associate alla BPCO includono la presenza di cellule infiammatorie,⁵ mediatori dell'infiammazione, stress ossidativo,⁶ così come di alterazioni cardiovascolari,⁷ che derivano dall'esposizione cronica al fumo di sigaretta e dalla progressione della limitazione al flusso. Le cellule infiammatorie ed i mediatori inducono metaplasia delle cellule mucipare,⁸ ipersecrezione mucosa,⁹ ipertrofia del muscolo liscio bronchiale¹⁰ e perdita della funzione muco-ciliare.¹¹ L'ipersecrezione mucosa e la perdita della funzione ciliare sono fattori che favoriscono l'infezione da parte di virus e di batteri¹² causando così un'ulteriore alterazione della struttura delle vie aeree. Gli infiltrati cellulari rila-

*Dall'Otsuka Maryland Research Institute, Rockville, MD.
Manoscritto ricevuto l'11 settembre 2003; revisione accettata il 24 novembre 2003.

La riproduzione di questo articolo è vietata in assenza di autorizzazione scritta dell'American College of Chest Physicians (e-mail: permissions@chestnet.org).

Corrispondenza: Néstor A. Molfino, MD, MSc, FCCP, Otsuka Maryland Research Institute, 2440 Research Blvd, Third Floor, Rockville, MD 20850; e-mail: nestorm@otsuka.com

(*CHEST 2004; 125:1929-1940*)

sciano enzimi proteolitici che perpetuano il danno.¹³ Allo stesso tempo le specie reattive dell'ossigeno (ROS) sono presenti nei compartimenti polmonari come risultato diretto dell'inalazione del fumo di sigaretta, dell'aumentata produzione da parte delle cellule infiammatorie attivate e dell'attivazione della via della xantina ossidasi.¹⁴ Questi ossidanti possono inibire l' α_1 -antitripsina (α_1 -AT), uno dei principali inibitori dell'elastasi, contribuendo pertanto al danno parenchimale e alla perdita del ritorno elastico. Più recentemente, il danno parenchimale dovuto all'apoptosi dell'endotelio vascolare e delle cellule alveolari, con sviluppo di enfisema nei modelli animali, ha suggerito un'eziologia vascolare.¹⁵ Tuttavia, il meccanismo finale comune del danno parenchimale sembra basarsi sull'attività delle ROS.¹⁶ Pertanto, sia l'infiammazione che lo stress ossidativo sembrano rivestire un ruolo fondamentale nei cambiamenti patologici dei compartimenti polmonari nei pazienti con BPCO.

Poiché la fisiopatologia e la presentazione clinica della BPCO sono complesse e non completamente identificate, i fenotipi estremi di BPCO sono difficili da identificare e pertanto gli studi genetici sono stati condotti in pazienti con fenotipi clinici diversi. Ciononostante, i risultati di questi studi possono essere raggruppati come segue: 1) soggetti sani a rischio di BPCO e consanguinei di pazienti con BPCO; 2) fumatori che sviluppano BPCO o che hanno un più rapido decremento del FEV₁ nel tempo rispetto ai fumatori che non ce l'hanno; 3) pazienti con BPCO con un fenotipo caratterizzato prevalentemente da enfisema o con fenotipo caratterizzato prevalentemente da bronchite; 4) pazienti con BPCO nei quali c'è risposta al broncodilatatore verso pazienti con ostruzione bronchiale "fissa". Questi studi hanno i seguenti obiettivi: 1) identificare la suscettibilità genetica e 2) identificare le varianti che possono alterare la risposta al trattamento.

STUDI GENETICI SULLA BPCO

Le basi genetiche della BPCO sono state indagate usando studi di associazione dei geni candidati che potrebbero rivestire un ruolo nella patogenesi della BPCO. Il limite di questo approccio è che possono essere studiati solo geni conosciuti, i pazienti ed i controlli sono difficili da abbinare e gli studi sono di piccole dimensioni o includono pazienti di diverse etnie, e ciò causa una mancanza di riproducibilità tra gli studi.

Sono stati riportati alcuni studi di linkage o di positional cloning. In questi studi la presenza di geni suscettibili può essere sospettata sulla base della loro posizione cromosomiale. Questi studi sono difficili

da condurre perché la BPCO generalmente insorge tardivamente nel corso della vita e i membri della famiglia necessari per l'analisi potrebbero non essere più viventi. Questi studi sono anche difficili da interpretare particolarmente perché anche nei soggetti sani il pattern di ereditabilità della funzione polmonare non è completamente chiaro. Sono descritti di seguito gli studi di associazione genetica e di linkage per fenotipi di BPCO apparentemente diversi.

SOGGETTI SANI A RISCHIO E CONSANGUINEI DI PAZIENTI CON BPCO

I soggetti sani sono stati studiati per puntualizzare i determinanti genetici della funzione polmonare così come i fattori predisponenti che possono determinare la suscettibilità alla BPCO. Questi studi hanno dimostrato che la BPCO, come l'asma, sembra essere una malattia multigenica (Tabella 1).

I determinanti genetici del FEV₁, FVC, e del rapporto FEV₁/FVC sono stati studiati con l'analisi del linkage in pazienti sani e in pazienti con BPCO. In una popolazione di giovani adulti sani, uno scan genomico di 10-centimorgan (cM) in 1578 membri appartenenti a 330 famiglie ha dimostrato¹⁹ che i loci che più frequentemente influenzano FEV₁ ed FVC erano co-localizzati sui cromosomi 4,6 e 21. Il FEV₁ era influenzato principalmente dal locus sul cromosoma 6 (log dell'"odds favoring genetic linkage (LOD) score", 2,4) mentre il cromosoma 21 conteneva marker con un legame più stretto al FVC (punteggio LOD, 2,6). In un altro studio recente,²⁰ uno scan genomico su soggetti sani che partecipavano al "National Heart, Lung, and Blood Institute (NHLBI) Family Heart Study" veniva effettuato per identificare le regioni cromosomiali che influenzavano FEV₁, FVC e il rapporto FEV₁/FVC. Dopo aggiustamento per età, indice di massa corporea, altezza, abitudine al fumo e pacchetti-anno di sigarette, e dopo trasformazione della distribuzione del rapporto FEV₁/FVC in modo da tener conto delle anomalie, lo scan genomico identificava delle regioni sui cromosomi 4 e 18 con punteggi log suggestivi di linkage (punteggio LOD > 2,5). Questi due cromosomi sono stati ulteriormente studiati incorporando ulteriori marker di genotipizzazione. Il rapporto FEV₁/FVC era associato al cromosoma 4 a circa 28 cM (D4S1511) con un punteggio LOD di 3,5. FEV₁ ed FVC erano suggestivamente associati a regioni sul cromosoma 18 con punteggi LOD di 2,4 per FEV₁ e di 1,5 per FVC a 31 cM (D18S843) ed un punteggio LOD di 2,9 per FVC a 79 cM (D18S858).

Uno scan genomico autosomico di 10-cM di marker polimorfici tipo "ripetizione breve tandem"

Tabella 1—Determinanti genetici della funzione polmonare e predisposizione genetica alla BPCO in soggetti sani*

Fonte/anno	Popolazione	Tipo di studio	Risultati	Punteggi LOD (OR o valore di p)
Wilk e coll. ²⁰ /2003	2178 membri di 391 famiglie	Analisi di linkage: scan genomico	Cr 4 FEV ₁ /FVC Cr 18 FEV ₁ Cr 18 FVC	3,5† 2,4 2,9
Joost e coll. ¹⁹ /2002	1578 membri di 330 famiglie	Analisi di linkage: scan genomico 10-cM	Cr 6: FEV ₁ Cr 21: FVC	2,4 2,6
Silverman e coll. ²¹ /2002	585 membri di 72 famiglie parenti di soggetti con BPCO precoce e severa	Analisi di linkage: scan genomico	Cr 2q FEV ₁ /FVC Cr 12p FEV ₁	4,12† 2,43
Dahl e coll. ²⁴ /2002	9187 adulti della popolazione generale Danese	Epidemiologia genetica	Livelli più bassi di α_1 -AT, maggiore limitazione al flusso, declino più rapido del FEV ₁ in PiMZ vs PiMM	(< 0,001) (0,023) (0,048)
McCloskey e coll. ²⁷ /2001	173 fratelli di pazienti BPCO e 419 controlli	Epidemiologia genetica	BPCO aumentata nei fratelli dei pazienti	(5,39)
Silverman e coll. ²⁶ /1998	Prenti di primo grado di soggetti con BPCO precoce e severa vs controlli	Epidemiologia genetica	FEV ₁ più basso e rapporto FEV ₁ /FVC più basso rispetto ai controlli	(< 0,01)

*Cr = cromosoma.

†LOD > 3 indica evidenza significativa di associazione; LOD < 3 indica evidenza suggestiva.

(STR) è stato effettuato in 72 famiglie (585 individui sani) in cui erano presenti pazienti con BPCO severa ad insorgenza precoce.²¹ Nello scan genomico iniziale è stata evidenziata associazione al rapporto FEV₁/FVC sul cromosoma 2q (punteggio LOD 4,12 [a 222 cM]) e sul cromosoma 17 (LOD 2,03 [a 67cM]) ed a FVC sul cromosoma 1 (LOD 2,05 [a 13 cM]). Il più alto punteggio LOD per FEV₁ nello scan genomico iniziale era di 1,53 sul cromosoma 12 a 36 cM. Dopo l'inclusione di 12 marker STR aggiuntivi sul cromosoma 12p, veniva dimostrata evidenza suggestiva di linkage del FEV₁ a questa regione (LOD 2,43 [a 37cM]). Queste osservazioni forniscono una significativa evidenza che la suscettibilità all'insorgenza precoce della BPCO è associata ad un locus sul cromosoma 2 e suggeriscono un linkage dei fenotipi spirometrici correlati a molte altre regioni cromosomiche.

Il deficit severo di α_1 -AT è un fattore di rischio genetico comprovato per la BPCO in soggetti altrimenti sani.²² Sebbene sia ben noto che il deficit omozigote di α_1 -AT, fenotipo PiZZ, è associato con un aumentato rischio di BPCO, gli studi che valutano l'associazione tra le forme eterozigote del fenotipo PiMZ e il rapido declino della funzione polmonare, nei pazienti e nella popolazione generale, hanno prodotto risultati contrastanti. Un report recente²³ ha valutato la relazione tra il fenotipo α_1 -AT e il declino del FEV₁ in 2016 soggetti adulti della comunità ed ha dimostrato che le frequenze di distribuzione per i fenotipi PiMM, PiMS e PiMZ non differivano significativamente dalle diagnosi di enfisema, bronchite cronica o asma, confermate cli-

nicamente. Non c'era differenza statistica nei valori medi di FEV₁ tra i fenotipi PiMM, PiMS e PiMZ. Ciò non è in accordo con report precedenti che valutavano il ruolo del fenotipo PiMZ nello sviluppo di una funzione polmonare anormale. Dahl e coll.²⁴ hanno valutato l'ipotesi che il deficit di α_1 -AT intermedio PiMZ possa influenzare la funzione polmonare quando si valutano i livelli plasmatici di α_1 -AT, il decremento annuale del FEV₁, l'ospedalizzazione e la mortalità per BPCO in 9187 adulti selezionati in modo random dalla popolazione generale danese. Di questi soggetti, 451 (4,9%) erano portatori del genotipo PiMZ. I livelli plasmatici di α_1 -AT erano del 31% più bassi negli eterozigoti PiMZ rispetto ai soggetti con genotipi PiMM (p < 0,001 [test t di Student]). Il declino annuale del FEV₁ era di 25 ml negli eterozigoti PiMZ e di 21 ml nei soggetti con il genotipo PiMM (p = 0,048). L'ostruzione delle vie aeree veniva osservata nel 19% degli eterozigoti PiMZ rispetto al 15% dei soggetti PiMM (p = 0,023 [χ^2 test]). L'incidenza di ospedalizzazione e mortalità per BPCO era di 32 casi per 10000 soggetti-anno negli individui con genotipo PiMZ e di 22 casi per 10000 soggetti-anno in quelli con genotipo PiMM (p = 0,063 [log-rank test]). In un modello di regressione di Cox aggiustato per età, sesso, fumo e FEV₁, all'inizio dello studio, il rischio relativo per BPCO nei soggetti con genotipo PiMZ rispetto ai soggetti con genotipo PiMM era di 1,5 (intervallo di confidenza (IC) da 1,0 a 2,3). Tutti questi risultati erano indipendenti dagli alleli S ed E in questo gene, e non erano influenzati dallo stato di eterozigosi per fibrosi cistica (CF) DF508. Inoltre, in uno

studio di follow up di 10 anni²⁵ condotto su 28 soggetti PiMZ confrontati con 28 soggetti normali PiMM, la capacità polmonare totale e il volume residuo aumentavano, mentre il FEV₁, i flussi respiratori, la capacità di diffusione polmonare per il monossido di carbonio e le pressioni transpolmonari statiche diminuivano nei pazienti PiMZ. La capacità inibitoria media della tripsina nel gruppo PiMZ era di 0,65 mg/ml rispetto a 1,52 mg/ml nel gruppo PiMM.²⁵

L'aggregazione familiare per la BPCO è stata dimostrata in individui che non hanno un deficit dell' α_1 -AT. In uno studio,²⁶ i parenti di primo grado di soggetti che sviluppavano precocemente BPCO avevano valori di FEV₁ ed del rapporto FEV₁/FVC significativamente più bassi rispetto ai controlli ($p < 0,01$), malgrado un numero simile di pacchetti-anno di sigarette. Il valore medio di FEV₁ nei parenti di primo grado dei fumatori o degli ex fumatori era del 76,1% del predetto rispetto all'89,2% del predetto nei soggetti di controllo, fumatori o ex-fumatori ($p < 0,01$). Inoltre i fratelli dei pazienti con BPCO abbinati per età, sesso, abitudini tabagiche con soggetti senza storia familiare di BPCO, mostravano una prevalenza più alta di BPCO (31,5%) rispetto al gruppo di controllo (9,3%).²⁷ L'odds ratio (OR) per BPCO nei fratelli con una storia di fumo < 30 pacchetti-anno era del 5,39 (IC al 95%, da 2,49 a 11,67) quando confrontati con i soggetti di controllo. Presi nel loro insieme questi risultati dimostrano un significativo rischio familiare di ostruzione al flusso aereo nei fratelli fumatori dei pazienti con BPCO severa.

Pertanto, nella popolazione generale il contributo dei fattori genetici si estende ben oltre il ruolo del deficit di α_1 -AT e sembra che la BPCO possa essere una malattia multigenica. Inoltre, ci sono parecchi loci che sembrano associati all'ereditabilità di FEV₁ e FVC nei soggetti sani (Tabella 1).

FUMATORI CHE SVILUPPANO BPCO

Solo una parte dei fumatori sviluppa BPCO.^{28,29} Sembra che i fumatori che sviluppano BPCO possano avere un diverso genotipo rispetto a quei fumatori che vivono a lungo, nei quali la funzione polmonare si riduce lentamente o non si riduce affatto. Questa predisposizione di alcuni fumatori a sviluppare BPCO è stata studiata attraverso studi di epidemiologia genetica e studi di associazione del gene candidato (Tabella 2). A questo riguardo, la prevalenza degli alleli PiZ del gene α_1 -AT nei forti fumatori con BPCO e nei fumatori non ostruiti sembra essere diversa.³⁰ Dodici di 193 pazienti con BPCO (6%) erano eterozigoti per l'allele PiZ (es. PiMZ) mentre nessuno lo era tra i 73 soggetti di controllo

senza BPCO ($p = 0,04$). Questi risultati indicano che l'allele PiZ (ma non il PiS) è un fattore rischio di BPCO nello stato di eterozigosi, e ciò conferma precedenti studi condotti su gruppi etnici diversi.^{31,32} Inoltre, è stato riportato³³ che i pazienti con BPCO nei quali il declino della funzione polmonare nel tempo è diverso, hanno un genotipo di suscettibilità diverso, che contribuisce alla severità della loro limitazione al flusso. In questo studio, i pazienti con BPCO con un declino rapido del FEV₁ (-154 ± 3 ml per anno) (\pm ESM) mostravano un'associazione con il genotipo PiMZ del gene α_1 -AT (OR, 2,8; $p = 0,03$), in particolare se era presente una storia familiare di BPCO e del genotipo PiMZ (OR, 9,7; $p = 0,03$). Questi dati suggeriscono che il genotipo PiMZ predisponga i pazienti con BPCO ad un aumentato declino della funzione polmonare e sembra interagire con altri fattori familiari.

Indubbiamente i pazienti con BPCO che mostrano un rapido declino del FEV₁ sembrano avere altri polimorfismi genetici predisponenti. Le metalloproteinasi della matrice (MMP) comprendono una famiglia di almeno 20 enzimi proteolitici che giocano un ruolo essenziale nel rimodellamento dei tessuti ed MMP1 (collagenasi interstiziali), MMP9 (gelatinasi B) ed MMP12 (elastasi dei macrofagi) sono considerate importanti nello sviluppo dell'enfisema. Sono stati identificati diversi polimorfismi dei promoter del gene umano MMP, che si verificano spontaneamente e che alterano l'attività trascrizionale. La prevalenza di questi polimorfismi e la loro associazione con la BPCO è stata studiata in 590 fumatori scelti dalla popolazione del "NHLBI Lung Health Study"³⁴ per il fatto di avere il più rapido (284 pazienti) e il più lento (306 pazienti) declino della funzione polmonare a 5 anni. Un polimorfismo, il MMP1 G-1607GG, era associato con un rapido declino della funzione polmonare ($p = 0,02$). Inoltre, aplotipi consistenti in alleli dai polimorfismi MMP1 G-167GG e MMP12 Asn357Ser erano anche associati con un rapido declino della funzione polmonare ($p = 0,0007$). Questi dati suggeriscono che i polimorfismi nei geni MMP1 ed MMP12, ma non nel gene MMP9, sono fattori causali nel danno polmonare legato al fumo oppure sono in disequilibrio di associazione con i polimorfismi causali.³⁴

Poiché la produzione del fattore di necrosi tumorale (TNF)- α è aumentata nelle vie aeree dei pazienti con BPCO e un polimorfismo in posizione -308 del gene promoter del TNF- α (TNF- α -308-1/2) è noto per essere associato con l'alterazione della secrezione del TNF- α *in vitro*, è stata studiata l'associazione di questo polimorfismo (TNF- α -308-1/2 frequenza dell'allele) con la BPCO. È stato riportato³⁵ che gli alleli TNF- α -308-1/2 sono significativamente associati con la presenza di BPCO cor-

Tabella 2—Fattori genetici che predispongono i fumatori sani a sviluppare BPCO*

Fonte/anno	Popolazione	Tipo di studio	Risultati	Punteggi LOD (OR o valore di p)
Van der Pouw Kraan e coll. ^{36/2003}	Fumatori con BPCO, fumatori senza BPCO, soggetti sani	Studio di associazione del gene candidato	Polim promoter IL-13 aumentato nei BPCO	(0,002 vs sani; 0,01 vs fumatori senza BPCO)
Joos e coll. ^{34/2002}	284 a declino rapido; 306 a declino lento	Studio di associazione del gene candidato	Polim MMP1 Polim MMP12	(0,02) (0,0007)
He e coll. ^{37/2002}	299 fumatori con declino rapido del FEV ₁ vs fumatori senza declino	Studio di associazione del gene candidato	3 polim GSTM1, GSTT1 e GSTP1 associato con declino rapido	(2,83) (0,03)
Sakao e coll. ^{35/2001}	106 fumatori con BPCO; 110 fumatori senza BPCO	Studio di associazione del gene candidato	Polim TNF- α promoter aumentato nei fumatori con BPCO	(< 0,01)
Sandford e coll. ^{33/2001}	283 a declino rapido; 208 senza declino	Epidemiologia genetica	Rapido declino del FEV ₁ associato col fenotipo PiMZ	(2,8 [e se storia familiare positiva, 9,7])
Sandford e coll. ^{33/2001}	Fumatori con declino rapido del FEV ₁ vs fumatori senza declino	Studio di associazione del gene candidato	Omozigosi per aplotipo His113/139 e storia familiare di BPCO associati con declino rapido	(4,9; 0,04)
Sandford e coll. ^{30/1999}	193 fumatori con BPCO e 73 fumatori senza BPCO	Epidemiologia genetica	Allele PiMZ presente nei fumatori con BPCO ma non in fumatori non ostruiti	(0,04)
Koyama e Geddes ^{38/1998}	Pazienti con BPCO ed enfisema	Studio di associazione del gene candidato	Attività lenta di mEPHX rispetto ai soggetti di controllo	(4,1 per BPCO) (5,0 per enfisema)

*Polim = polimorfismo.

relata al fumo di sigaretta in soggetti di origine Giapponese. Un'altra associazione è stata recentemente riportata con il polimorfismo del promoter dell'interleuchina (IL)13 (-1055 C a T) che, come è noto, è associato anche con l'asma allergico. Il polimorfismo di questo allele è stato osservato più frequentemente nei pazienti con BPCO rispetto ai soggetti sani di controllo ($p = 0,002$) e ai fumatori con funzione polmonare normale ($p = 0,001$).³⁶

Il metabolismo di primo passaggio delle sostanze estranee nel polmone è un importante meccanismo protettivo contro gli agenti ossidanti e si crede che questo meccanismo sia coinvolto nella patogenesi della BPCO. I polimorfismi dei geni antiossidanti glutatione S-transferasi (GCT) [es. GSTM1, GSTT1 e GSTP1] eme-ossigenasi (HMOX)-1 ed idrolasi epossidica microsomiale (mEPHX) possono essere associati con la suscettibilità ad un accelerato declino della funzione polmonare nei fumatori. A questo riguardo, He e coll.³⁷ hanno descritto il genotipo di 621 soggetti (a declino rapido, 299 [cambiamento medio del FEV₁ -152 \pm 2,5 ml per anno]; (senza declino, 322 [cambiamento medio del FEV₁ +15 \pm 1,5 ml/anno]) selezionati tra i fumatori che erano stati osservati per 5 anni nel "NHLDI

Lung Health Study".³⁷ C'era una associazione tra il declino rapido della funzione polmonare e la presenza di tutti e tre i polimorfismi GST (es. GSTM1, GSTT1 E GSTP1) [OR, 2,83; $p = 0,03$]. Inoltre, una combinazione di storia familiare di BPCO con la presenza del genotipo GSTP1 105Ile/Ile era associata con un rapido declino della funzione polmonare (OR, 2,20; $p = 0,01$). È stato anche riportato che le frequenze aplotipo del gene mEPHX erano significativamente differenti tra coloro che presentavano un declino rapido e coloro che non presentavano declino della funzione polmonare ($p = 0,03$). La combinazione di una storia familiare di BPCO con lo stato di omozigosi per l'aplotipo His113/His139 mEPHX era anche associata con un declino rapido della funzione polmonare (OR, 4,9; $p = 0,04$).³³ Inoltre, Koyama e Jeddès³⁸ hanno osservato che la presenza di un'attività lenta dello mEPHX (omozigosi) era significativamente più elevata nei pazienti con BPCO e con enfisema. Gli OR per i soggetti omozigoti con attività enzimatica lenta vs tutti gli altri fenotipi erano del 4,1 (IC al 95%, da 1,8 a 9,7) per la BPCO e del 5,0 (IC al 95%, da 2,3 a 10,9) per l'enfisema. Presi nel loro insieme, questi dati^{33,37,38} supportano il concetto che i polimorfismi

genetici negli enzimi xenobiotici possono rivestire un ruolo nella suscettibilità individuale alla BPCO.

Sono state riportate altre associazioni, nei pazienti ostruiti vs i fumatori non ostruiti che vivono a lungo, che possono ostacolare (frequenze genotipiche della Gc-globulina)³⁹ o favorire (gruppo sanguigno A⁴⁰ o gene alfa1-antichimotripsina⁴¹) l'insorgenza della BPCO. Pertanto esistono diversi polimorfismi in geni diversi che sembrano essere associati allo sviluppo ed alla severità della BPCO nei fumatori (Tabella 2).

BPCO CON FENOTIPO PREDOMINANTE ENFISEMATOSO

L'enfisema è stato definito come una condizione caratterizzata da un aumento anomalo e permanente degli spazi distali delle vie aeree associato a distruzione delle pareti alveolari con o senza fibrosi. Adesso è chiaro che l'apoptosi delle cellule epiteliali, endoteliali e di altre cellule nel polmone, insieme alla proteolisi eccessiva ed allo stress ossidativo, contribuiscono alla distruzione delle strutture polmonari.⁴²⁻⁴⁵ Pertanto, non è sorprendente che molti geni diversi da quello dell' α_1 -AT possano essere implicati nello sviluppo di enfisema (Tabella 3).

Sebbene i pazienti BPCO con enfisema documentato dalla TAC ad alta risoluzione abbiano fenotipi chiaramente diversi,⁴⁶ il fenotipo ottimale da usare negli studi genetici sull'enfisema non è stato ancora chiaramente delineato. Per chiarire le definizioni del fenotipo ottimale e dei metodi analitici per l'analisi di linkage della BPCO, Silverman e coll.⁴⁷ hanno studiato 150 individui appartenenti ad un gruppo di

28 famiglie con deficit di α_1 -AT utilizzando il tipo di inibitore della proteasi (Pi) come marker genetico. Gli autori dimostravano un linkage del tipo Pi ai livelli sierici di α_1 -AT; un linkage della patologia polmonare con il tipo Pi è stato dimostrato usando, per definire l'ostruzione bronchiale, una soglia di grado lieve-moderato. Pertanto, per l'analisi di linkage dei fenotipi spirometrici nei soggetti con deficit di α_1 -AT, i fenotipi qualitativi sembrano fornire un'evidenza più forte rispetto ai fenotipi quantitativi.⁴⁷

È possibile che alcuni pazienti con BPCO a carattere prevalentemente enfisematoso possano avere un deficit intermedio di α_1 -AT. I mutanti PiZ e nulli del gene α_1 -AT sono associati con concentrazioni sieriche di α_1 -AT molto basse o non determinabili cosicché per gli individui con genotipo PiZZ o nullo c'è un rischio molto alto d'insorgenza di BPCO. Il ruolo del deficit intermedio di α_1 -AT è stato valutato misurando i tipi Pi di α_1 -AT e la capacità inibitoria della tripsina sierica in 965 pazienti con BPCO.⁴⁸

Lo stato di eterozigosi per la variante Z era la causa principale di deficit intermedio di α_1 -AT (primariamente il fenotipo PiMZ), presente nell'8% dei pazienti rispetto al 2,9% dei soggetti di controllo ($p < 0,005$). Lo stato di omozigosi PiZZ veniva evidenziato nell'1,9% dei pazienti e in nessuno dei 1380 soggetti di controllo. In più del 90% dei pazienti con BPCO è espresso il fenotipo comune PiMM di α_1 -AT e i livelli sierici di α_1 -AT sono normali.⁴⁹ È stato già accennato che il rischio relativo di BPCO nei soggetti con genotipo PiMM era di 1,5 (IC al 95% da 1,0 a 2,3).²⁴ Inoltre, l'incidenza di ospedalizzazione e mortalità per BPCO tende ad essere più alta nei soggetti con genotipo PiMZ (32 casi per 10000 sog-

Tabella 3—Geni predisponenti al fenotipo enfisematoso nei pazienti con BPCO

Fonte/anno	Popolazione	Tipo di studio	Risultati	Punteggi LOD (OR o valore di p)
Sakao e coll. ^{53/2002}	Pazienti giapponesi con BPCO	Studio di associazione del gene candidato	TNF- α -308 allele 2 associato con enfisema	(< 0,01)
Hirano e coll. ^{57/2001}	88 pazienti con BPCO e 40 soggetti di controllo	Studio di associazione del gene candidato	Polimorfismo del gene TIMP-2 associato con BPCO	(< 0,0001)
Minematsu e coll. ^{54/2001}	Fumatori giapponesi	Studio di associazione del gene candidato	Polimorfismo MMP 9 associato con enfisema	(< 0,01)
Yamada e coll. ^{56/2000}	101 fumatori con enfisema e 100 fumatori senza enfisema	Studio di associazione del gene candidato	Ripetizioni (GT) _n nel gene HMOX-1 maggiori nei pazienti con enfisema	(< 0,004)
Smith e Harrison ^{55/1997}	57 asmatici; 50 con cancro del polmone; 68 con BPCO e 94 con enfisema	Studio di associazione del gene candidato	Suscettibilità mEPHX a BPCO ed enfisema	(4,1) (5,0)
Lieberman e coll. ^{48/1986}	965 pazienti con BPCO	Epidemiologia genetica	PiMZ associato con bassi livelli di α_1 -AT PiZZ trovato nell'1,9% dei pazienti con BPCO	(0,0005)

*Chr = cromosoma.

†LOD > 3 indica evidenza significativa di associazione; LOD < 3 indica evidenza suggestiva.

getti/anno) rispetto ai soggetti con genotipo PiMZ (22 casi per 10.000 soggetti all'anno); $p = 0,063$ [log-rank test]).²⁴ Allo stesso modo, Seersholm e Kok-Jensen⁵⁰ hanno valutato la funzione polmonare in 94 soggetti con deficit intermedio di α_1 -AT PiSZ, ed hanno dimostrato una prevalenza più alta di mortalità dovuta ad enfisema polmonare. Anche nei soggetti con fenotipo PiMM è stata riportata un'eterogeneità nella sequenza di DNA della regione del gene α_1 -AT.⁴¹ Il fenotipo PiMM ha una costituzione eterogenea e gli alleli M1, M2, M3 sono stati distinti con metodo isoelettrico. Diversi polimorfismi sono stati osservati usando sonde genetiche del gene α_1 -AT. Un allele (T2) del frammento Taq I localizzato a 1 kilobase dal gene dell' α_1 -AT era significativamente più presente nei pazienti con BPCO (15,3%) rispetto ai soggetti di controllo (5,4%; $p < 0,05$). L'incidenza relativa della BPCO era 3,3 volte più alta nei soggetti portatori di almeno un allele T2 rispetto ai soggetti con genotipo comune T1T1. L'allele T2 può essere in squilibrio di linkage con una variante di deficit di α_1 -AT o con qualche gene nelle vicinanze (es gene α_1 -antichimotripsina).⁵¹

Questi risultati suggeriscono che il fenotipo PiMZ o in generale il deficit intermedio di α_1 -AT non predispongono gli individui a sviluppare un fenotipo enfisematoso di BPCO. Il numero di soggetti con fenotipo PiMS non sembra essere aumentato in questo gruppo di pazienti con BPCO.

L'apoptosi delle cellule dei setti alveolari può contribuire alla patogenesi dell'enfisema. Il TNF- α può rivestire un ruolo importante nell'induzione dell'apoptosi e l'allele 2 del polimorfismo in posizione 308 nel promoter del gene del TNF- α è stato associato ad una alterazione della secrezione di TNF- α *in vitro*. Sebbene la famiglia dei geni del TNF- α sia stata ampiamente studiata, sono stati riportati risultati incoerenti. Questo potrebbe essere dovuto all'eterogeneità genetica delle popolazioni o a differenze nelle definizioni di fenotipo. Per esempio, in uno studio di 63 pazienti di razza bianca con BPCO, che mostravano un fenotipo enfisematoso,⁵² non sono state riscontrate differenze nell'allele TNF- α -308 (polimorfismo biallelico localizzato nel primo introne del gene linfotossina-alfa) e nell'esone 1 ed esone 6 dei geni dei recettori 1 e 2 del TNF- α . In un altro studio⁵³ tuttavia, è stato riportato che l'allele 2 TNF- α -308 potrebbe essere parzialmente associato al grado di trasformazione enfisematosa in un gruppo di pazienti giapponesi con BPCO.

Altri risultati discrepanti, che riguardano il fenotipo enfisematoso, possono essere spiegati sulla base delle differenze etniche delle popolazioni studiate. Nei bianchi i polimorfismi dei gene MMP1 ed MMP12, ma non del gene MMP9, potrebbero essere fattori causali del danno polmonare da fumo o

potrebbero essere in squilibrio di linkage con altri polimorfismi causali.³⁴ Un altro studio,⁵⁴ tuttavia, ha dimostrato un'associazione tra polimorfismo MMP9 e sviluppo di enfisema polmonare da fumo in una popolazione fumatori giapponesi.

Come è stato precedentemente accennato esiste un'associazione tra il polimorfismo del gene mEPHX e la suscettibilità a sviluppare enfisema.^{38,55} L'HMOX-1 riveste anche un ruolo protettivo, come antiossidante, nel polmone e ciò probabilmente è importante per i fumatori visto che il fumo di sigaretta contiene ROS. Una ripetizione (GT) n di dinucleotidi nella regione 5'-flanking del gene umano HMOX-1 mostra un polimorfismo di lunghezza e potrebbe modulare il livello di trascrizione. Per valutare la correlazione tra la lunghezza della ripetizione (GT) n e la suscettibilità all'enfisema sono state studiate le frequenze di alleli con diversi numeri di ripetizioni (GT) n nel gene HMOX-1 in 101 fumatori con enfisema ed in 100 fumatori senza enfisema.⁵⁶ La percentuale delle frequenze degli alleli con ripetizioni > 30 , così come la percentuale di frequenze genotipiche nel gruppo < 30 , erano significativamente più alte nei fumatori con enfisema rispetto ai fumatori senza enfisema. Inoltre, le attività del promoter del gene HMX-1 che contiene diverse ripetizioni (GT) n (es. ripetizioni 16, 20, 29 e 38) sono state analizzate attraverso un test di transfezione-transitoria in linee cellulari in coltura. L'esposizione al perossido di idrogeno (H_2O_2) sovraregola l'attività dei geni di fusione promoter/luciferasi dell'HMOX-1 con (GT)16 o (GT)20 ma non con (GT)29 o (GT)38. Queste osservazioni suggeriscono che l'ampia dimensione di una ripetizione (GT) n nel promoter del gene HMOX-1 può ridurre l'inducibilità dell'HMOX-1 attraverso le ROS nel fumo di sigaretta, inducendo pertanto una suscettibilità allo sviluppo di enfisema.

Lo squilibrio proteinasi/antiproteinasi è attualmente la teoria più diffusa per spiegare lo sviluppo della BPCO. Le mutazioni dell'inibitore tissutale delle metallo proteinasi (TIMP)-2, che sottoregola la sua attività, possono aumentare le attività delle MMP e possono indurre degradazioni della matrice polmonare. A questo riguardo, i polimorfismi del gene TIMP-2 sono stati studiati⁵⁷ in 88 pazienti con BPCO ed in 40 soggetti di controllo. Sono stati identificati i seguenti due polimorfismi: +853 G/A; e -418 G/C sostituzione del nucleotide. C'era una deviazione significativa delle frequenze genotipiche a +853 e le frequenze alleliche per G erano significativamente più alte nel gruppo di controllo. Per il locus -418 le frequenze alleliche per C nel gruppo con BPCO tendevano ad essere più alte rispetto al gruppo di controllo. Pertanto, questi polimorfismi possono essere associati con lo sviluppo di BPCO.⁵⁷

In sintesi, il fenotipo enfisematoso sembra essere

Tabella 4—Studi genetici sul fenotipo della bronchite cronica*

Fonte/anno	Popolazione	Tipo di studio	Risultati	Punteggi LOD (OR o valore di p)
Silverman e coll. ^{58/2002}	585 membri di 72 famiglie parenti di pazienti con BPCO precoce e severa	Analisi di linkage in associazione	Cromosoma 22 e 12p	3,14 al cr 12p e 2,02 al cr 22
Tzetis ^{60/2001}	Pazienti asmatici, BPCO, bronchiectasici e soggetti sani	Studio di associazione del gene candidato	CFTR associato con asma e bronchiectasie, ma debole associazione con BPCO	(< 0,05 in BPCO)

*Vedi Tabella 1 per le abbreviazioni non usate nel testo.

determinato non solo dal deficit intermedio di α_1 -AT ma anche da uno squilibrio indotto da polimorfismi nei geni TNF- α , MMP, antiossidanti e TIMP-2 (Tabella 3).

BPCO CON FENOTIPO PREDOMINANTE BRONCHITICO

La bronchite cronica è caratterizzata da tosse cronica e produzione di espettorato. Ci sono pochi studi genetici rivolti a questo particolare fenotipo (Tabella 4).

Uno scan autosomico genomico di 10 cM dei marker polimorfici STR è stato analizzato per evidenziare un'associazione con i fenotipi di BPCO severa a insorgenza precoce senza deficit severo di α_1 -AT.⁵⁸ L'analisi di associazione non parametrica a più punti veniva effettuata per i fenotipi qualitativi che includevano l'ostruzione al flusso di grado moderato (definita come un FEV₁ < 60% del predetto ed un rapporto FEV₁/FVC < 90% del predetto), l'ostruzione lieve (definita come un FEV₁ < 80% del predetto ed un rapporto FEV₁/FVC < 90% del predetto) e la bronchite cronica. L'evidenza di un'associazione genetica in tutti i soggetti era solo suggestiva e restringendo l'analisi ai soli fumatori si otteneva soltanto un aumento dell'evidenza per ciò che riguarda l'associazione tra l'ostruzione lieve e la bronchite cronica e le diverse regioni genomiche. Per la bronchite cronica, nei soli fumatori, il punteggio LOD massimo era di 2,08 al cromosoma 22. Sui cromosomi 12p sono stati genotipizzati 12 marker STR addizionali che fornivano un ulteriore supporto alla presenza di un loco per l'ostruzione al flusso in quella regione con un approccio non parametrico a più punti per l'ostruzione di grado moderato (punteggio LOD di 2,13) e l'ostruzione di grado lieve (punteggio LOD di 1,43). Usando un modello dominante con il marker STR su 12p, un'analisi di associazione parametrica a due punti in tutti i soggetti dimostrava un punteggio LOD massimo di 2,09 per l'ostruzione moderata e di 2,61 per l'ostruzione al flusso di grado

lieve. Solo nei fumatori il punteggio massimo LOD a due punti per l'ostruzione al flusso lieve era di 3,14 sul cromosoma 12p.

I soggetti adulti con CF mostrano delle caratteristiche cliniche simili alla BPCO. Studi originali che usano marker polimorfici di DNA in forte squilibrio di associazione con il locus della CF hanno testato l'ipotesi che mutazioni di questo locus possano essere coinvolte nella BPCO. Questi autori hanno dimostrato che le sue frequenze alleliche sono in equilibrio nei pazienti con BPCO e nei soggetti di controllo pertanto esso non sembra predisporre gli individui alla BPCO.⁵⁹ Più recentemente,⁵⁹ sono state dimostrate mutazioni del gene di regolazione della conduttanza transmembrana (CFTR) e variazioni non classificate nei pazienti con asma, in pazienti con bronchiectasie di eziologia ignota e in pazienti con BPCO rispetto ai soggetti sani, presi dalla popolazione generale greca.⁶⁰ Sebbene i risultati suggeriscano il coinvolgimento del gene CFTR nei pazienti con asma, bronchiectasie e BPCO, si aspetta conferma da studi su una popolazione più ampia di pazienti.

FENOTIPO BPCO CON RISPOSTA AI BRONCODILATATORI

Circa metà dei pazienti con BPCO presenta una risposta variabile ai β_2 -agonisti o all'ipratropio da visita a visita, e questa variabilità non è correlata alle loro abitudini tabagiche, atopia, sospensione della terapia corticosteroidica o progressione della malattia.⁴ Il genotipo dei responders vs i non responders può essere diverso. Tuttavia sia gli studi di associazione del gene candidato che gli studi di analisi di linkage in questo fenotipo scarseggiano (Tabella 5).

Per identificare i loci di suscettibilità per i fenotipi di risposta ai broncodilatatori (BDR), è stato condotto uno scan genomico a 9-cM in 72 famiglie (560 membri) con pazienti con BPCO precoce e severa. L'analisi del linkage veniva effettuata per i fenotipi quantitativi, che includono le misure BDR, FEV₁ e

Tabella 5—Studi genetici sui responders e non-responders ai broncodilatatori inalati*

Fonte/anno	Popolazione	Tipo di studio	Risultati	Punteggi LOD (OR o valore di p)
Palmer e coll. ⁶¹ /2003	560 membri di 72 famiglie di pazienti con BPCO	Analisi di linkage	FEV ₁ post-broncodilatatore associato al cr 8p e cr 1p FEV ₁ /FVC post-broncodilatatore associato a cr 2q e cr 1q	Cr 8p 3,3 Cr 1q 2,24 Cr 2q:LOD = 4,42 Cr 1q:LOD = 2,52
Joos e coll. ⁶⁴ /2003	282 con declino rapido, 305 senza declino	Studio di associazione del gene candidato	Leterozigosi in posizione 27 dei β_2 -recettori sebra protettivo per il rapido declino del FEV ₁	(0,56; 0,0007)
Ho e coll. ⁶⁵ /2001	106 soggetti cinesi	Studio di associazione del gene candidato	Polimorfismo del Gly del β_2 -recettore aumentato nella BPCO Polimorfismo Gln 27 aumentato nella BPCO severa	(0,01) (< 0,018)

*Vedi Tabella 1 per le abbreviazioni non usate nel testo.

FEV₁/FVC post-broncodilatatore.⁶¹ Il FEV₁ post-broncodilatatore era associato a regioni multiple, più significativamente a marker sul cromosoma 8p (punteggio LOD di 3,30) e sul cromosoma 1q (punteggio LOD di 2,24). Il rapporto FEV₁/FVC post-broncodilatatore era anche associato a regione multiple, più significativamente a marker sul cromosoma 2q (punteggio LOD di 4,42) e sul cromosoma 1q (punteggio LOD di 2,52). Quando venivano confrontati gli indici spirometrici pre-broncodilatatore con i valori post-broncodilatatore c'era un'aumentata evidenza di associazione in regioni genomiche multiple. In particolare, il punteggio LOD per l'associazione del FEV₁ al cromosoma 8p aumentava da 1,58 a 3,30. Le regioni candidate sul cromosoma 4p (punteggio LOD di 1,28), 4q (punteggio LOD di 1,56), e 3q (punteggio LOD di 1,50) erano associate alle misure della BDR. Questi risultati forniscono evidenza di una associazione significativa (definita come un punteggio LOD > 3) ai loci della suscettibilità dell'ostruzione aerea solo sui cromosomi 2q ed 8p.

Come nell'asma anche nella BPCO il gene dei β_2 -recettori è stato proposto come gene candidato. I polimorfismi del gene dei β_2 -recettori sono stati associati precedentemente con l'iperreattività bronchiale aspecifica (NSBH) e con la BDR nei pazienti asmatici.^{62,63} Nei fumatori un accelerato declino della funzione polmonare può essere associato con la NSBH. Basandosi su queste associazioni, è stata recentemente valutata l'ipotesi che i polimorfismi del β_2 -recettore possano essere associati con NSBH, BDR e con un accelerato declino nella funzione polmonare.⁶⁴ La prevalenza di due polimorfismi del β_2 -recettore, Arg16/Gly e Gln27/Glu, è stata esaminata in 587 fumatori scelti dal "NHLBI Lung Health

Study" perché avevano il più veloce (282 fumatori) ed il più lento (305 fumatori) declino del FEV₁ a 5 anni. Nessun allele o aplotipo del β_2 -recettore era associato con NSBH, BDR o velocità di declino nella funzione polmonare. Tuttavia, c'era una associazione significativa negativa tra lo stato di eterozigosi in posizione 27 ed un rapido declino della funzione polmonare (OR aggiustato di 0,56; IC al 95% da 0,40 a 0,78; p = 0,0007). Ciò suggerisce che lo stato di eterozigosi in posizione 27 può proteggere da un accelerato declino della funzione polmonare. Inoltre, il polimorfismo in posizione 16 non contribuiva alla velocità di declino della funzione polmonare in questa popolazione di fumatori. Ho e coll.⁶⁵ hanno valutato la frequenza di tre polimorfismi negli aminoacidi in posizione 16, 27 e 164 del gene del β_2 -recettore ed i loro effetti in pazienti con BPCO di origine cinese. I polimorfismi del blocco codificante del β_2 -recettore venivano delineati usando una reazione polimerasica a catena allele-specifica. Il polimorfismo Arg16 del β_2 -recettore era meno prevalente nei pazienti con BPCO rispetto alla popolazione di soggetti sani (p = 0,01). Veniva dimostrata una correlazione significativa (p < 0,018) tra il polimorfismo Gln27 del β_2 -recettore ed il FEV₁ in percentuale del predetto. I pazienti con polimorfismo Gln27 avevano valori di FEV₁ più bassi rispetto ai pazienti con le varianti GlnGlu e GluGlu. Pertanto, il polimorfismo Gly16 può aumentare la suscettibilità a sviluppare BPCO e il polimorfismo Gln27 del β_2 -recettore può essere associato alla severità della BPCO, nella popolazione cinese studiata. I risultati diversi riportati da questi due studi⁶⁴⁻⁶⁵ potrebbero essere dovuti a differenze etniche nelle popolazioni studiate.

Fino ad ora, risulta poco chiaro se i polimorfismi del gene del β_2 -recettore possano influenzare la BDR nella BPCO. A questo proposito, sono necessari più studi in questo campo, inclusa l'analisi dei recettori muscarinici.

CONCLUSIONI

Viene spesso dichiarato che una migliore conoscenza della genetica della BPCO può portare a identificare nuovi trattamenti o ad aumentare la nostra capacità di identificare i genotipi a rischio. Tuttavia, al momento la nostra conoscenza della genetica della BPCO è limitata. Fenotipi diversi ed estremi di BPCO sono verosimilmente dovuti a diverse mutazioni genetiche o a polimorfismi, e questi dati stanno emergendo dagli studi sul gene candidato o sull'analisi di linkage. Mentre aspettiamo più evidenze sperimentali e teniamo presente che risultati incoerenti possono essere dovuti alle diverse definizioni di fenotipo usate o a differenze etniche tra gli studi, possono intanto essere tratte delle conclusioni preliminari.

1. È stata descritta un'associazione familiare sia nei pazienti con deficit di α_1 -AT sia in soggetti senza il deficit.
2. Nella popolazione generale lo stato di eterozigosi PiMZ può essere responsabile di un piccolo numero di casi di BPCO, che è simile al numero di soggetti che hanno una BPCO severa ma il genotipo raro PiZZ.
3. Un accelerato declino della funzione polmonare viene osservato nei pazienti con BPCO PiMZ che hanno una storia familiare di BPCO e ciò suggerisce il coinvolgimento di altri geni.
4. I soggetti con genotipo PiMM possono portare almeno un allele T2 e possono avere una incidenza più alta di BPCO.
5. È stata riportata l'associazione del FEV₁ e/o del rapporto FEV₁/FVC con diversi loci nel genoma (es. cromosomi 1, 2q, 4, 6, 8, 12p, 17, 18, 19, 21).
6. I pazienti con un rapido declino del FEV₁ hanno polimorfismi dei geni delle MMP1 e MMP12.
7. Gli alleli del TNF- α -308-1 e TNF- α -308-2 sono significativamente associati alla presenza di BPCO correlata al fumo.
8. I polimorfismi del promoter IL-13 possono aumentare il rischio di acquisire la BPCO.
9. I polimorfismi nei geni degli antiossidanti GSTM1, GSTT1, GSTP1, HMOX-1 e mEPHX sono associati con un accelerato declino della funzione polmonare nei pazienti con BPCO.
10. I polimorfismi nel TIMP-2 sono associati con lo sviluppo di BPCO.
11. La percentuale di individui con un'attività

innata lenta di mEPHX (omozigosi) sembra più alta nel gruppo con BPCO e nel gruppo con enfisema.

12. Nel fenotipo con bronchite cronica è ancora poco chiaro se le mutazioni del CFTR sono associate con BPCO e l'analisi di linkage è stata riportata nel cromosoma 22.
13. I polimorfismi del Gly 16 possono aumentare la suscettibilità allo sviluppo di BPCO e il polimorfismo Gln27 del recettore β_2 può essere associato con la severità della BPCO in una popolazione cinese.
14. L'eterozigosi in posizione 27 può essere un fattore protettivo contro l'accelerato declino della funzione polmonare e il polimorfismo in posizione 16 non contribuisce al declino della funzione polmonare nella popolazione bianca.

A causa della quantità di informazioni che cominciano a essere prodotte, una delle maggiori sfide, una volta che i dati genomici per i particolare fenotipi sono disponibili, è quella di andare oltre le sequenze per raggiungere un livello più alto di integrazione. Questa integrazione dalle sequenze macro-molecolari ad una prospettiva biologica, e molte volte teorica, come la prognosi clinica o la risposta ai farmaci, sta emergendo e la genetica sta giocando un ruolo fondamentale. L'obiettivo finale di questa integrazione è la possibilità di identificare i soggetti predisposti alla BPCO e di sapere quali polimorfismi possono influenzare la loro prognosi e la risposta al trattamento.

RINGRAZIAMENTI: Vorrei ringraziare June Baldwin per l'aiuto nella preparazione di questo manoscritto.

APPENDICE: GLOSSARIO DEI TERMINI

Allele: una delle forme varianti di un gene in un particolare locus o posizione in un cromosoma.

Apoptosi: morte cellulare programmata, il metodo normale del corpo umano di disfarsi delle cellule danneggiate indesiderate o non necessarie.

Gene candidato: un gene situato in una regione cromosomica sospettato di essere coinvolto in una malattia, la cui proteina prodotta suggerisce che questo potrebbe essere coinvolto nella malattia in questione.

Centimorgan: una misura di distanza genetica che descrive la distanza tra due geni. Generalmente un cM corrisponde un milione di paia di basi.

Eterozigosi: presenza di due diverse forme di un particolare gene, uno ereditato da ciascun genitore.

Introne: una sequenza non codificante di DNA che è copiata inizialmente nell'RNA ma poi è tagliata fuori dall'RNA trascrizionale finale.

Analisi di linkage: l'associazione di geni e/o marker vicini gli uni agli altri su un cromosoma. I geni ed i marker associati tendono ad essere ereditati insieme.

Pedigree: un diagramma della storia genetica di un individuo o di una famiglia.

Fenotipo: i tratti osservabili o caratteristici di un organismo o

di un soggetto, per esempio FEV₁ peso corporeo o la presenza o l'assenza di una malattia. I tratti fenotipici non sono necessariamente genetici.

Polimorfismo: una variazione comune tra gli individui nella sequenza del DNA.

Clonazione posizionale: un processo che, attraverso tecniche di mappatura genetica, permette di localizzare un gene responsabile di una malattia, quando ci sono poche o nessuna informazioni sulle basi biochimiche della malattia.

Proband: il membro della famiglia attraverso il quale si accerta il pedigree.

Polimorfismo del singolo nucleotide: comune, ma piccola, variazione nel DNA umano che si verifica una volta ogni 1000 basi. Queste variazioni possono essere utilizzate per seguire i caratteri ereditati nelle famiglie.

BIBLIOGRAFIA

- 1 National Institutes of Health, National Heart, Lung, and Blood Institute. Global strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary disease: NHLBI/WHO Workshop, 2003. Available at: <http://www.goldcopd.com>. Accessed April 12, 2004
- 2 O'Donnell DE, Aaron S, Boerbeau J, et al. Canadian Thoracic Society recommendations for management of chronic obstructive pulmonary disease-2003. *Can Respir J* 2003; 10(suppl): 11A-33A
- 3 Burge PS, Calverley PMA, Jones PW, et al. Prednisolone response in patients with chronic obstructive pulmonary disease: results from the ISOLDE study. *Thorax* 2003; 58: 654-658
- 4 Calverley PMA, Burge PS, Spencer S, et al. Bronchodilator reversibility testing in chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax* 2003; 58:659-664
- 5 Barnes PJ. New concepts in chronic obstructive pulmonary disease. *Annu Rev Med* 2003; 54:113-129
- 6 Rahman I. Oxidative stress, chromatin remodeling and gene transcription in inflammation and chronic lung diseases. *J Biochem Mol Biol* 2003; 36:95-109
- 7 Barbera JA, Peinado VI, Santos S. Pulmonary hypertension in chronic obstructive pulmonary disease. *Eur Respir J* 2003; 21:892-905
- 8 Rogers DF. The airway goblet cell. *Int J Biochem Cell Biol* 2003; 35:1-6
- 9 Maestrelli P, Sietta M, Mapp CE, et al. Remodeling in response to infection and injury: airway inflammation and hypersecretion of mucus in smoking subjects with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 164:S76-S80
- 10 Cosio MG, Hale KA, Niewoehner DE. Morphologic and morphometric effects of prolonged cigarette smoking on the small airways. *Am Rev Respir Dis* 1980; 122:265-271
- 11 Clarke SW. Rationale of airway clearance. *Eur Respir J* 1989; 7:599s-603s
- 12 Riise GC, Larsson S, Andersson BA. Bacterial adhesion to oropharyngeal and bronchial epithelial cells in smokers with chronic bronchitis and in healthy nonsmokers. *Eur Respir J* 1994; 7:1759-1764
- 13 Nadel JA. Role of neutrophil elastase in hypersecretion during COPD exacerbations, and proposed therapies. *Chest* 2000; 117:386S-389S
- 14 Rahman I, van Schadewijk AAM, Crowther AJL, et al. 4-hydroxy-2-nonenal, a specific lipid peroxidation product, is elevated in lungs of patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2002; 166:490-495
- 15 Suga T, Kurabayashi M, Sando Y, et al. Disruption of the *klotho* gene causes pulmonary emphysema in mice: defect in maintenance of pulmonary integrity during postnatal life. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2000; 22:26-33
- 16 Tuder RM, Zhen L, Cho CY, et al. Oxidative stress and apoptosis interact and cause emphysema due to vascular endothelial growth factor receptor blockade. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2003; 29:88-97
- 17 Drazen JM. Asthma and the human genome project: summary of the 45th Annual Thomas L. Petty Aspen Lung Conference. *Chest* 2003; 123(suppl):447S-449S
- 18 Howard TD, Meyers DA, Bleeker ER. Mapping susceptibility genes for allergic diseases. *Chest* 2003; 123(suppl): 363S-368S
- 19 Joost O, Wilk JB, Cupples A, et al. Genetic loci influencing lung function: a genome-wide scan in the Framingham study. *Am J Respir Crit Care Med* 2002; 165:795-799
- 20 Wilk JB, DeStefano AL, Arnett DK, et al. A genome-wide scan of pulmonary function measures in the National Heart, Lung, and Blood Institute Family Heart Study. *Am J Respir Crit Care Med* 2003; 167:1528-1533
- 21 Silverman EK, Palmer LJ, Mosley JD, et al. Genomewide linkage analysis of quantitative spirometric phenotypes in severe early-onset chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Hum Genet* 2002; 70:1229-1239
- 22 Falk GA, Briscoe WA. Alpha-1-antitrypsin deficiency in chronic obstructive pulmonary disease. *Ann Intern Med* 1970; 72:427-429
- 23 Silva GE, Sherrill DL, Guerra S, et al. A longitudinal study of {alpha}1-antitrypsin phenotypes and decline in FEV₁ in a community population. *Chest* 2003; 123:1435-1440
- 24 Dahl M, Tybjaerg-Hansen A, Lange P, et al. Change in lung function and morbidity from chronic obstructive pulmonary disease in alpha1-antitrypsin MZ heterozygotes: a longitudinal study of the general population. *Ann Intern Med* 2002; 136:270-279
- 25 Tarjan E, Magyar P, Vaczi Z, et al. Longitudinal lung function study in heterozygous PiMZ phenotype subjects. *Eur Respir J* 1994; 7:2199-2204
- 26 Silverman E, Chapam H, Drazen J, et al. Genetic epidemiology of severe, early-onset chronic obstructive pulmonary disease: risk to relatives for airflow obstruction and chronic bronchitis. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 157:1770-1778
- 27 McCloskey SC, Patel BD, Hinchliffe SJ, et al. Siblings of patients with severe chronic obstructive pulmonary disease have a significant risk of airflow obstruction. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 164:1419-1424
- 28 Mannino DM, Buist AS, Petty TL, et al. Lung function and mortality in the United States: data from the First National Health and Nutrition Examination Survey follow up study. *Thorax* 2003; 58:388-393
- 29 Mannino DM. COPD: epidemiology, prevalence, morbidity and mortality, and disease heterogeneity. *Chest* 2002; 121(suppl):121S-126S
- 30 Sandford AJ, Weir TD, Spinelli JJ, et al. Z and S mutations of the alpha 1-antitrypsin gene and the risk of chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1999; 20:287-291
- 31 Alvarez-Granda L, Cabero-Perez MJ, Bustamante-Ruiz A, et al. PI SZ phenotype in chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax* 1997; 52:659-661
- 32 Turino GM, Barker AF, Brantly ML, et al. Clinical features of individuals with PI*SZ phenotype of alpha 1-antitrypsin deficiency: Alpha 1-Antitrypsin Deficiency Registry Study Group. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 154:1718-1725

- 33 Sandford AJ, Chagani T, Weir TD, et al. Susceptibility genes for rapid decline of lung function in the Lung Health Study. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 163:469–473
- 34 Joos L, He JQ, Shepherdson MB, et al. The role of matrix metalloproteinase polymorphisms in the rate of decline in lung function. *Hum Mol Genet* 2002; 11:569–576
- 35 Sakao S, Tatsumi K, Igari H, et al. Association of tumor necrosis factor {alpha} gene promoter polymorphism with the presence of chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 163:420–422
- 36 van der Pouw Kraan TC, Kucukaycan M, Bakker AM, et al. Chronic obstructive pulmonary disease is associated with the 1055 IL-13 promoter polymorphism. *Genes Immun* 2003; 3:436–439
- 37 He JQ, Ruan J, Connett JE, et al. Antioxidant gene polymorphisms and susceptibility to a rapid decline in lung function in smokers. *Am J Respir Crit Care Med* 2002; 166:323–328
- 38 Koyama H, Geddes DM. Genes, oxidative stress, and the risk of chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax* 1998; 53: S10–S14
- 39 Schellenberg D, Pare P, Weir T, et al. Vitamin D binding protein variants and the risk of COPD. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 157:957–961
- 40 Khoury MJ, Beaty TH, Newill CA, et al. Genetic-environmental interactions in chronic airways obstruction. *Int J Epidemiol* 1986; 15:65–72
- 41 Poller W, Meisen C, Olek K. DNA polymorphisms of the alpha 1-antitrypsin gene region in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Eur J Clin Invest* 1990; 20:1–7
- 42 Hirai H, Kubo H, Yamaya M, et al. Microsatellite polymorphism in heme oxygenase-1 gene promoter is associated with susceptibility to oxidant-induced apoptosis in lymphoblastoid cell lines. *Blood* 2003; 102:1619–1621
- 43 Aoshiba K, Yokohori N, Nagai A. Alveolar wall apoptosis causes lung destruction and emphysematous changes. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2003; 28:555–562
- 44 Carnevali S, Petruzzelli S, Longoni B, et al. Cigarette smoke extract induces oxidative stress and apoptosis in human lung fibroblasts. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2003; 284:L955–L963
- 45 Majo J, Ghezzi H, Cosio MG. Lymphocyte population and apoptosis in the lungs of smokers and their relation to emphysema. *Eur Respir J* 2001; 17:946–953
- 46 Boschetto P, Miniati M, Miotto D, et al. Predominant emphysema phenotype in chronic obstructive pulmonary. *Eur Respir J* 2003; 21:450–454
- 47 Silverman EK, Mosley J, Rao DC, et al. Linkage analysis of alpha 1-antitrypsin deficiency: lessons for complex diseases. *Hum Hered* 2001; 52:223–232
- 48 Lieberman J, Winter B, Sastre A. Alpha 1-antitrypsin Pi-types in 965 COPD patients. *Chest* 1986; 89:370–373
- 49 Silverman EK, Province MA, Campbell EJ, et al. Family study of alpha 1-antitrypsin deficiency: effects of cigarette smoking, measured genotype, and their interaction on pulmonary function and biochemical traits. *Genet Epidemiol* 1992; 9:317–331
- 50 Seersholm N, Kok-Jensen A. Intermediate alpha 1-antitrypsin deficiency PiSZ: a risk factor for pulmonary emphysema? *Respir Med* 1998; 92:241–245
- 51 Poller W, Faber JP, Weidinger S, et al. A leucine-to-proline substitution causes a defective alpha 1-antichymotrypsin allele associated with familial obstructive lung disease. *Genomics* 1993; 17:740–743
- 52 Ferrarotti I, Zorzetto M, Beccaria M, et al. Tumour necrosis factor family genes in a phenotype of COPD associated with emphysema. *Eur Respir J* 2003; 21:444–449
- 53 Sakao S, Tatsumi K, Igari H, et al. Association of tumor necrosis factor-{alpha} gene promoter polymorphism with low attenuation areas on high-resolution CT in patients with COPD. *Chest* 2002; 122:416–420
- 54 Minematsu N, Nakamura H, Tateno H. Genetic polymorphism in matrix metalloproteinase-9 and pulmonary emphysema. *Biochem Biophys Res Commun* 2001; 289:116–119
- 55 Smith CAD, Harrison DJ. Association between polymorphism in gene for microsomal epoxide hydrolase and susceptibility to emphysema. *Lancet* 1997; 350:630–633
- 56 Yamada N, Yamaya M, Okinaga S, et al. Microsatellite polymorphism in the heme oxygenase-1 gene promoter is associated with susceptibility to emphysema. *Am J Hum Genet* 2000; 66:187–195
- 57 Hirano K, Sakamoto T, Uchida Y, et al. Tissue inhibitor of metalloproteinases-2 gene polymorphisms in chronic obstructive pulmonary disease. *Eur Respir J* 2001; 18:748–752
- 58 Silverman EK, Mosley JD, Palmer LJ, et al. Genome-wide linkage analysis of severe, early-onset chronic obstructive pulmonary disease: airflow obstruction and chronic bronchitis phenotypes. *Hum Mol Genet* 2002; 11:623–632
- 59 Gasparini P, Savoia A, Luisetti M, et al. The cystic fibrosis gene is not likely to be involved in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1990; 2:297–299
- 60 Tzetzis M, Efthymiadou A, Strofalis S, et al. CFTR gene mutations—including three novel nucleotide substitutions—and haplotype background in patients with asthma, disseminated bronchiectasis and chronic obstructive pulmonary disease. *Hum Genet* 2001; 108:216–221
- 61 Palmer LJ, Celedon JC, Chapman HA, et al. Genome-wide linkage analysis of bronchodilator responsiveness and post-bronchodilator spirometric phenotypes in chronic obstructive pulmonary disease. *Hum Mol Genet* 2003; 12:1199–1210
- 62 D'amato M, Vitiani L, Petrelli G, et al. Association of persistent bronchial hyperresponsiveness with beta 2-Adrenoceptor (ADRB2) haplotypes: a population study. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 158:1968–1973
- 63 Taylor DR, Drazen JM, Herbison GP, et al. Asthma exacerbations during long term beta agonist use: influence of beta 2 adrenoceptor polymorphism. *Thorax* 2000; 55:762–767
- 64 Joos L, Weir TD, Connett JE, et al. Polymorphisms in the {beta}2 adrenergic receptor and bronchodilator response, bronchial hyperresponsiveness, and rate of decline in lung function in smokers. *Thorax* 2003; 58:703–707
- 65 Ho LI, Harn HJ, Chen CJ, et al. Polymorphisms of the {beta}2-adrenoceptor in COPD in Chinese subjects. *Chest* 2001; 120:1493–1499