

## Evoluzione molecolare dell'uomo, lezione del 3/04

Parliamo di quelle informazioni che riguardano la nostra evoluzione recente, evoluzione della nostra specie homo sapiens, vi sono diverse ipotesi sull'origine delle forme moderne di H.sapiens; alcuni la vedono in sud-Africa dove vi sono evidenze culturali e paleontologiche, alcuni in Africa occidentale sulla base della variabilità del cromosoma Y e altri la vedono in Africa orientale sulla base del genoma autosomico. Le date di origine sono intorno a 200Kya, perché il più antico fossile individuato in Etiopia con calotta cranica di tipo moderno è datata 190mila anni. Vi sono state poi diverse ondate migratorie fuori dall'Africa che avranno incontrato forme arcaiche di umanità presenti in Eurasia con cui le forme moderne saranno entrate in competizione per le risorse e si saranno adattate a nuovi fattori climatici, fattori che entrambi che ne avranno limitato l'espansione.

La prima ondata sembra sia stata iso-latitudinale. Non c'è stata espansione verso nord (quella verso nord è caratteristica di ondate successive) forse per limiti bio-culturali. Esistono infatti diversi fattori limitanti l'espansione, tra cui la barriera geografica, la competizione per le risorse e l'insufficiente adattamento all'ambiente. Adesso andiamo ad analizzare l'informazione che viene dal genoma per quel che riguarda i fenomeni di adattamento all'ambiente. Ad un ambiente ci si adatta a livello fisiologico, vedi fenomeni di acclimatazione che sono reversibili ed individuali, e a livello genetico, fenomeni di tipo popolazioni stico e irreversibili, si parla in tal caso di adattamento sistematico.

I segnali di adattamento genomico li possiamo individuare secondo due approcci teoricamente opposti: partire dal genoma (bottom-up) e osservare le differenze tra i due genomi, in questo caso genomi di popolazioni diverse, e capire quali variazioni hanno un significato adattativo sono il risultato di una selezione; al contrario posso partire dal fenotipo (top-down) e capire se ci sono delle tracce nel genoma dei cambiamenti osservabili. Nella pratica si usano entrambe. Un approccio bottom-up è quello della population genomics, come il progetto 1000genomi, che analizza genomi interi in tanti individui di diverse popolazioni, ovvero il confronto tra tutto il repertorio delle variazioni per interpretarne il significato. Altro approccio è GWAS (Genome-wide Association Studies), ovvero studi di associazione estesi a tutto il genoma, non è come la population genomics, si analizza tutto il genoma però riferito a soli due gruppi di fenotipi indipendentemente dalla popolazione a cui appartengono. Un altro approccio è quello dei topi Knock-Out, se penso che quel gene sia associato a quel fenotipo, vado a generare topi transgenici togliendo quel gene o quell'inibitore e vedo il fenotipo che si sviluppa. Essendo topi esiste il limite dovuto al fatto che il trasferimento dal topo all'uomo non sempre è possibile. Poi ci sono approcci che pesano l'effetto di genetica e l'ambiente, un esempio sono gli studi sui gemelli. Di tutti questi approcci vedremo degli esempi.

### **Approccio Population genomics**

Cerco SNP che hanno grande frequenza nella popolazione. Cerco quegli SNP con alto Fst. I siti più differenziati secondo il progetto 1000 genomi sono riportati nella tabella (pag 6). In rosso, sono evidenziati geni che codificano per proteine associate alla pelle chiara, geni che producono varianti proteiche sulla via della sintesi della melanina che provocano uno schiarimento della pelle. In blu sono evidenziati i geni le cui varianti sono associate allo spessore dei capelli, alla forma dei denti e alla densità delle ghiandole sudoripare. Si parla di effetto pleiotropico.

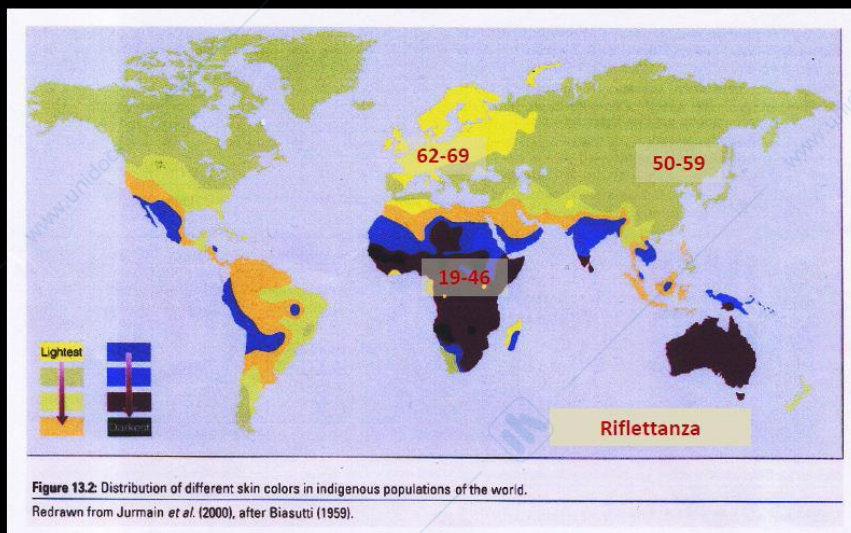
Edar

Recettore di membrana. Il gene EDA viene espresso in cellule interfollicolari e funziona anche come segnale intercellulare, è un trimero e quando diviene monomero è recepito da cellule follicolari e attraverso il recettore EDAR svolge il suo ruolo di

segnale inducendo l'espressione di geni particolari. Variazioni nella sequenza dell'Edar possono portare anche a patologie. In europa e in africa ho assenza di alanina in posizione 270. Nel topo stessa variante porta a capelli spessi, ghiandole sudoripare dense, ghiandole mammarie ipertrofiche, nell'uomo ho aumento di ghiandole sudoripare e spessore dei capelli e ho morfologia a pala negli incisivi, un tratto che non viene indotto nel topo.

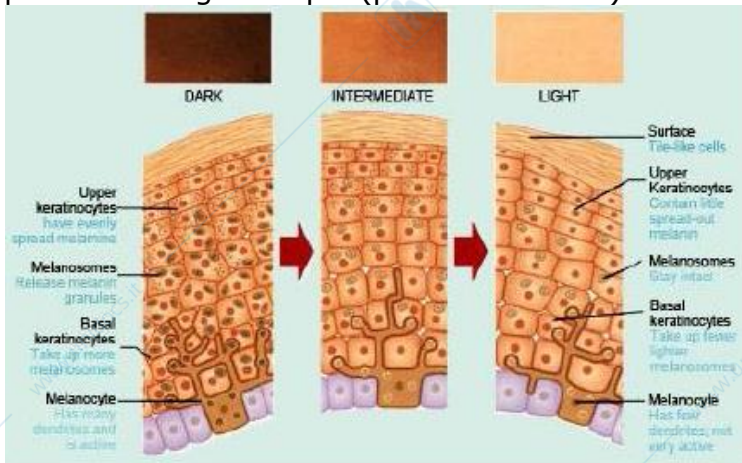
Non è detto che la selezione agisca nella regione codificante del gene, è possibile che interessi sequenze regolative. In molti casi l'effetto fenotipico non è a carico della regione codificante ma delle regioni regolative circostanti; questo spaventa perché la regione non codificante è molto più vasta e sconosciuta di quella codificante. Nell'uomo tra le varianti Val e Ala del gene EDAR c'è solo una differenza nella quantità di espressione e ciò fa pensare ad un'associazione tra la variante Ala e una variante implicata nella regolazione del gene. Inoltre c'è un segnale di selezione per il locus EDAR non solo negli asiatici (e negli africani) ma anche negli europei: alcuni individui europei manifestano capelli più spessi e denti a pala, anche in assenza della variante Ala370. Questi dati portano a due considerazioni: 1) probabilmente non abbiamo centrato il gene bersaglio della selezione, 2) non c'è stata una pressione di selezione circoscritta ai soli asiatici. Quali vantaggi comporta la variante Ala dell'EDAR? Gli incisivi a pala non sembrano influire positivamente su masticazione e nutrizione, mentre i capelli più spessi schermano maggiormente i raggi solari, e le ghiandole sudoripare più efficienti aumentano la dispersione del calore. Negli asiatici EDAR è quindi utile per la termoregolazione, in condizioni di maggior esposizione alla radiazione solare. La comparsa e la diffusione di questa variante deve essere avvenuta dopo l'uscita dall'Africa, tra 40-20ka fa, in concomitanza con un cambiamento climatico, ma non abbiamo evidenze fossili o paleo climatiche che la possano testimoniare.

### Adattamenti: colore della pelle



Un carattere da tutti riconosciuto come adattamento climatico è il colore della pelle: la cartina di fig.1 mostra la distribuzione della colorazione della pelle in riferimento al parametro della riflettanza. La riflettanza è inversamente proporzionale al grado di pigmentazione della pelle (pelle più chiara=maggiore indice di riflettanza), e direttamente proporzionale alla latitudine. La pigmentazione cutanea è determinata dalla deposizione, al livello dei cheratinociti, di granuli di melanina (melanosomi), sintetizzati nei melanociti sottostanti, che si dispongono attorno al nucleo e

schermano i raggi solari (fig.2). La melanina ha inoltre la capacità di arginare la formazione di radicali liberi. Il colore della pelle non è determinato dal numero dei melanociti (che resta costante nei vari gruppi etnici) ma dal numero e dalle dimensioni dei melanosomi: più grandi e numerosi negli africani, più piccoli, frammentati e in minor numero negli asiatici, ancora meno negli europei. Inoltre nei tre gruppi si nota una diversa composizione della melanina: più scura negli africani (più eumelanina) e più chiara negli europei (più feomelanina).



Il grado di pigmentazione non è determinato solo geneticamente ma può variare, entro un certo intervallo, mediante il fenomeno dell'acclimatazione, che corrisponde alla cosiddetta abbronzatura. L'acclimatazione mima l'adattamento evolutivo ma a differenza di questo è reversibile. Le radiazioni UV hanno diversi effetti sull'organismo (fig.3, pag12): operano la

foto degradazione dei folati, appartenenti al gruppo della vitamina B, importanti per lo sviluppo del tubo neurale e per la fertilità maschile; permettono la sintesi della vitamina D (sintetizzata a partire da un precursore a 7 atomi di C), che aiuta l'assorbimento di calcio e fosfati e la loro deposizione nelle ossa. Persone con pelle chiara che vivono nella fascia equatoriale sono soggette a scottature e carenza di folati e hanno una probabilità di insorgenza di melanomi e malformazioni del sistema nervoso (NTD, neural tube diseases, come la spina bifida), 10 volte superiore al normale. Persone con pelle scura che vivono ad alte latitudini avranno carenza di vitamina D e di calcio nelle ossa, che provocano deformazione delle ossa o osteoporosi, pericolose per le madri in gravidanza (deformazione del bacino), e rachitismo nei bambini, con una probabilità 3 volte superiore al normale. I tre fattori scottatura, carenza di folati e carenza di vitamina D comportano una forte pressione selettiva sul colore della pelle; la selezione relativa alla vitamina D, in particolare, è molto forte perché agisce al momento della nascita.

Per studiare i fattori genetici che determinano il colore della pelle si può utilizzare un approccio di ricerca per "candidate genes", ovvero geni i cui omologhi sono stati studiati in animali modello, che sembrano essere coinvolti nel processo della pigmentazione. Secondo i risultati di questi studi i processi di sintesi e deposizione della melanina coinvolgono molti geni (fig.4 e 5, pag14).

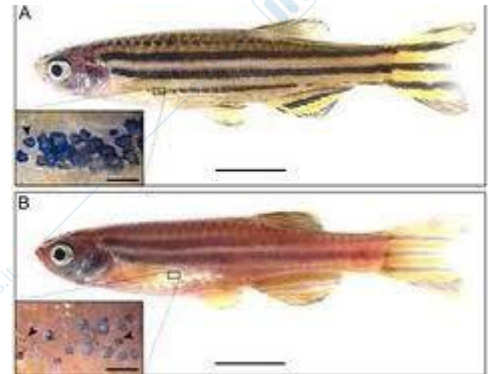
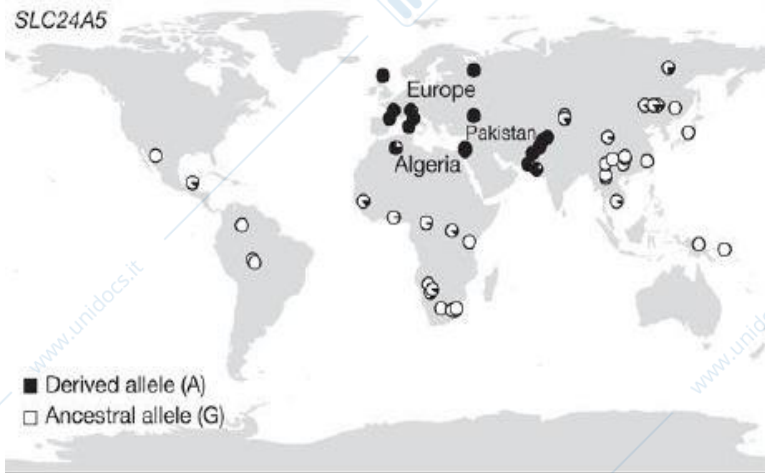
**TABLE 15.2:  
EXAMPLES OF HUMAN GENES ASSOCIATED WITH PIGMENTATION PHENOTYPES**

Gene	Protein, function	Mutant human phenotype	OMIM no.	Mouse coat color or other phenotype
<i>Melanocyte function</i>				
TYR	tyrosinase, oxidation of tyrosine, dopa	oculocutaneous albinism (OCA) type 1	203100	albino
OCA2	P-protein, regulating pH of melanosome	OCA type 2	203200	pink-eyed dilution
TYRP1	oxidation of DHICA, stabilization of tyrosinase	OCA type 3	203290	brown
SLC45A2	MATP calcium transporter	OCA type 4	606574	underwhite
SLC24A5	NCKX5 calcium transporter	association with fair skin	609802	ocular albinism
ASIP	agouti signal protein, pheomelanogenic stimulation	association with dark hair and brown eyes	600201	agouti
MC1R	melanocyte-stimulating hormone (MSH) receptor	red hair or blond/brown hair	155555	extension
POMC	pro-opiomelanocortin (from which MSH and adrenocorticotrophic hormone are produced), pheomelanogenesis	red hair with severe early-onset obesity and adrenal insufficiency	609734	pomc1
OA1	G-protein-coupled receptor	ocular albinism type 1	300500	oa1
<i>Melanosome transport/uptake by keratinocyte</i>				
MYO5A	myosin Va motor protein	Griscelli syndrome (includes partial albinism)	214450	dilute
RAB27A	Ras family protein	Griscelli syndrome	214450	ashen
<i>Developmental</i>				
KIT	c-kit receptor, melanoblast migration	piebaldism	172800	dominant PAX3
	transcription factor in neural tube development	Waardenburg syndrome type 1	193500	splotch
MITF	transcription factor	Waardenburg syndrome type 2	193510 microphthalmia	-

In sintesi:  $\alpha$ -MSH (melanocyte stimulating hormone) è sintetizzato a partire dal precursore POMC e quando lega il recettore MC1R, sulla membrana del melanocita, provoca la maturazione dei melanosomi, attraverso una via di trasduzione del segnale mediata dall'AMP ciclico. Il melanosoma precoce è dotato dell'enzima tirosinasi (TYR), che permette la sintesi di feomelanina (chiara) a partire dalla tiroxina; con la maturazione del feomelanosoma in eumelanosoma l'organello acquista altri enzimi (TYRP1, 2) e canali ionici, che permettono di procedere nella via di sintesi dell'eumelanina (scura). Una mutazione in uno qualunque dei fattori coinvolti può alterare il processo: l'enzima TYR, in particolare, è fondamentale per la sintesi sia di feomelanina che di eumelanina e la sua perdita di funzione provoca l'albinismo. Anche altri geni se mutati possono provocare l'albinismo, OCA2, TYRP1, SLC45A2, OA1. Inoltre esistono più tipi di albinismo (oculare, delle ciglia, oculo-cutaneo). L'albinismo è un fenotipo raro e da considerarsi quasi patologico, poiché comporta problemi di vista e alto rischio di melanomi, ed è selezionato negativamente anche dal punto di vista culturale. In molti gruppi africani ad esempio, l'albino è visto come il demone ed è emarginato, perseguitato e a volte perfino ucciso e le sue parti sono vendute come amuleti.

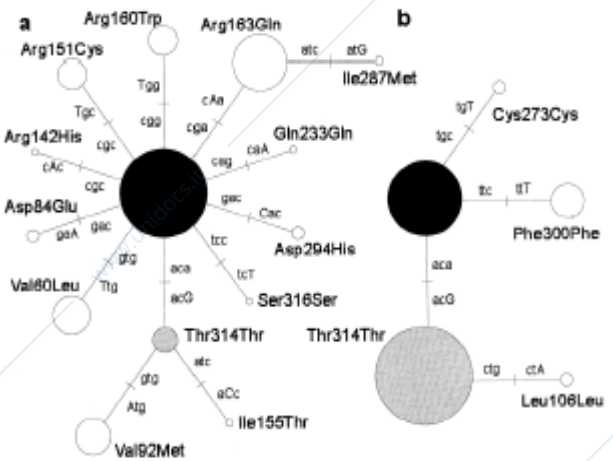
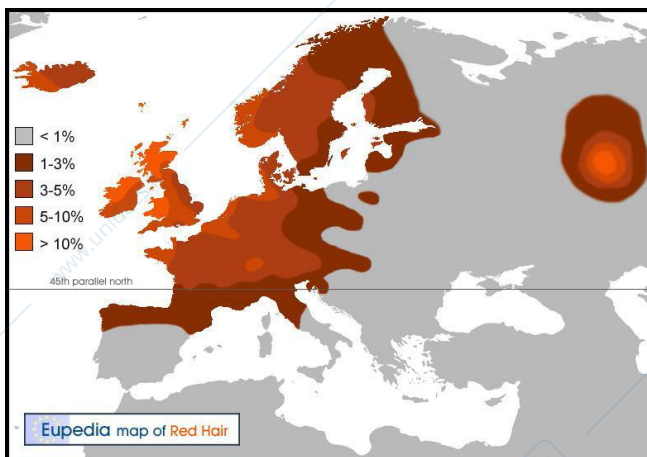
A noi interessa studiare non i fenotipi aberranti ma i polimorfismi adattativi; quattro dei geni della pigmentazione presentano polimorfismi con frequenze diverse a seconda dell'area geografica (fig.6, pag15): TYRP1 A>G (più diffusa in Europa), SLC24A5 G>A (più diffusa in Eu.), SLC45A2 C>G (più diffusa in Eu.), KITLG A>G (più rara in Africa). Nel gene SLC24A5 la variante Ala111Thr, probabilmente associata alla pelle chiara, ha subito una forte selezione positiva in Europa (Fst=0,58, vedi fig.7); studi sull'omologo nello zebrafish hanno rivelato la presenza della mutazione gold (associata ad una variante diversa da quella dell'uomo). Alcuni affermano che il

fenotipo pelle chiara sia stato selezionato positivamente in Europa e in generale ad alte latitudini per la necessità di produrre vitamina D; altri sostengono che ci sia stato semplicemente un rilassamento della pressione negativa che agiva e agisce tuttora in Africa, e che lo schiarimento sia relativamente recente. Questi sostengono che con lo sviluppo della pastorizia l'uomo ha potuto assumere tutto il calcio e la vitamina D di cui aveva bisogno, e solo quando si è passati ad un tipo di agricoltura intensivo, a base di cereali, c'è stata la necessità di schiarire la pelle.



Un altro gene, MC1R (melanocortin 1 receptor), ha subito una selezione purificante

molto forte in Africa, poiché molte delle sue varianti sono associate al colore chiaro della pelle e, in alcuni casi, anche ai capelli rossi o biondi. MC1R è altamente polimorfico in Europa, un po' meno in Asia, mentre in Africa conta solo tre polimorfismi, tutti sinonimi (fig.8).



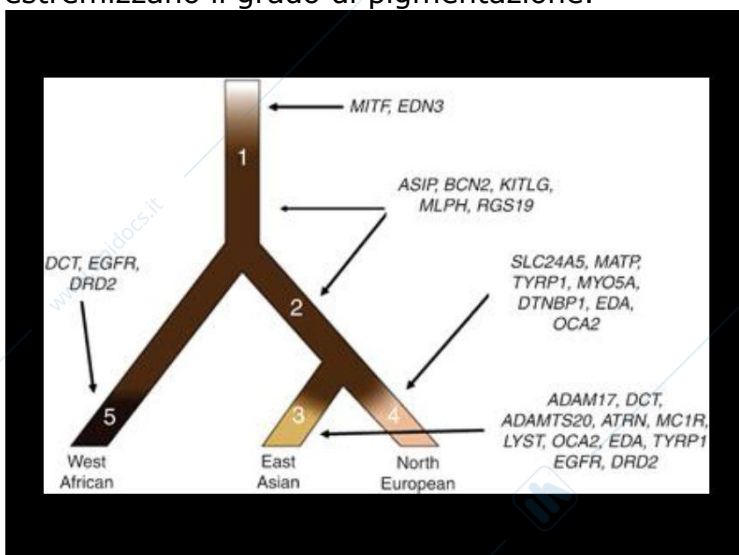
In Europa la maggior parte delle varianti sono non sinonime e producono fenotipi

più o meno chiari e con un'ampia gamma di sfumature per il colore dei capelli, mentre gli africani sono costretti a poche tonalità scure. Il colore della pelle è variabile anche nelle antropomorfe, tra specie e tra individui (fig.9), ma solo nelle zone esposte: sotto il pelo le scimmie hanno la pelle chiara, è possibile osservarlo in alcuni esemplari di zoo malati di alopecia (è facile incontrare casi strani negli zoo, come Copito gorilla albino dello zoo di Barcellona, ora morto). A volte gli esemplari malati di alopecia sviluppano una colorazione più scura del normale, quasi bronzea, ma se si rasa un individuo sano la sua pelle ha una tonalità simile a quella di un mediorientale. Anche nelle antropomorfe abbiamo l'effetto di acclimatazione nelle parti esposte, infatti i piccoli, come i bambini africani, risultano sempre più chiari degli adulti.



Come le antropomorfe attuali, anche gli antenati di *Homo* provvisti di pelo dovevano avere la pelle chiara, e, in seguito alla perdita del pelo, questa si deve essere scurita fino a diventare come quella degli attuali africani. La perdita del pelo ha avuto una funzione termoregolatoria e si fa risalire tra i 2 e i 1,2Ma (datazione molecolare), quindi al momento della comparsa del genere *Homo*; i geni candidati per spiegare il primo scurimento sono

MITF e EDN3 (fig.10). Con la biforcazione tra africani ed eurasiatici (70-100ka) abbiamo una selezione rilassata in questi ultimi, con l'intervento di varianti geniche che spingono verso lo schiarimento; a partire da 50 e 40ka (o forse 10ka, secondo l'ipotesi di pastoralismo-agricoltura) abbiamo una selezione positiva indipendente tra asiatici ed europei. La pelle chiara degli asiatici è diversa da quella degli europei perché un'evoluzione indipendente ha portato a risultati simili, per necessità analoghe ma con vie genetiche e fenotipiche diverse (differenze anche nei rapporti eumelanina/feomelanina). In Africa invece resta serrata la pressione che favorisce tonalità molto scure e nella zona occidentale, in particolare, si sviluppano varianti che estremizzano il grado di pigmentazione.



In certi casi possono intervenire dei fattori culturali: gli Inuit, ad esempio, pur abitando a latitudini polari hanno la pelle relativamente scura e sopravvivono alla carenza di vitamina D sintetizzata in maniera endogena assumendola in grande quantità dagli alimenti, infatti hanno una dieta a base di grassi di merluzzo. Un caso simile è stato documentato per una popolazione della Siberia con pelle scura. Anche l'abitudine di vestirsi scherma i raggi solari e può influire sulle tendenze adattative.

Le documentazioni fossili dell'arrivo in America dei Paleo-Inuit (5-6ka) attestano che questi avevano pelle scura, ciò fa supporre che la loro popolazione asiatica di origine, che ha vissuto per millenni in Siberia, avesse mantenuto la pelle scura fino a quel momento. Alla luce di queste evidenze si può senz'altro affermare che lo sviluppo della pelle chiara sia avvenuto in modi e tempi diversi tra asiatici e europei. Al contrario del gene EDAR, per i geni candidati alla determinazione della pigmentazione della pelle siamo abbastanza sicuri di aver centrato il bersaglio.