

Lezione 07/04/2014

[inserire immagine]

Come le malattie altamente differenziate possono avere importanza evolutiva?

Prendiamo l'esempio della fibrosi cistica, una delle malattie autosomiche recessive più diffuse in Europa, causata dalla delezione di una fenilalanina in posizione 508 ($\Delta F508$) nella catena amminoacidica del canale CFTR per il cloro. E' stata messa in relazione con la resistenza a dei fattori infettivi, come il colera, la salmonella e la tubercolosi, però gli studi funzionali a riguardo non hanno dato ancora risultati convincenti, quindi rimane in sospeso il perché ci sia un eccesso di delezioni di questo tipo in Europa.

Utilizzando la coalescenza (si cercano le varianti SNP intorno alla mutazione, a monte e a valle del gene), si è cercato di risalire al tempo probabile in cui è sorta la mutazione e si è visto che la $\Delta F508$ ha tempi di coalescenza di qualche migliaio di anni fa, mentre le prime forme storiche di colera risalgono a qualche centinaio di anni fa, quindi già questo potrebbe escludere il colera dalle cause che hanno contribuito all'affermazione della mutazione.

La $\Delta F508$ è stata anche ricercata in fossili di 2000-3000 anni fa e, tramite sequenziamento, è stato visto che in questi fossili la mutazione era già presente allo stato eterozigote.

L'albinismo, invece, è considerato da alcuni una malattia, da altri un fenotipo aberrante, quel che è certo è che chi è albino non ha la stessa fitness di chi non lo è. A differenza della fibrosi cistica, non ha una distribuzione particolare ed è presente anche in Africa, un ambiente dove sicuramente è selezionato negativamente, sia dal punto di vista fisiologico (una pelle così chiara è altamente esposta al rischio di melanoma) che culturale (spesso gli albi vengono esclusi dalle tribù perché considerati diversi, creature demoniache).

I geni che determinano l'albinismo sono diversi e, in teoria, se in Africa sono selezionati negativamente non dovrei trovarli ma, in realtà, hanno una certa frequenza (la malattia si presenta in condizioni di omozigosi, quindi sono presenti in entrambe i genitori).

Poiché non ha una distribuzione particolare, vi è una sorta di equilibrio fra le mutazioni che causano la comparsa del fenotipo stesso e la selezione purificatrice che tende, invece, ad eliminarlo.

Ai fini del nostro studio ci chiediamo che utilità hanno gli alleli che causano le malattie con alta incidenza, cioè quelli che non sono filtrati abbastanza dalla selezione purificatrice. Ci sarà una selezione rilassata (o addirittura una positiva) che li tollera e li fa aumentare di frequenza?

Tra queste, le malattie più interessanti e studiate sono quelle con determinazione mendeliana semplice (causate da una mutazione in un solo gene o, al massimo, in pochi geni), nelle quali la patologia si manifesta nei fenotipi omozigoti, mentre negli eterozigoti vi è spesso una espressione intermedia.

Le malattie in questione sono le anemie, le talassemie e il favismo: hanno una frequenza abbastanza elevata e una distribuzione geografica che quasi coincide.

[inserire immagine]

Le alte frequenze degli alleli che causano queste malattie (per l'allele che determina l'emoglobina S o HbS si arriva a picchi del 40%) hanno portato a pensare che questi possano servire a bilanciare l'effetto di agenti patogeni che causano altre malattie come ad esempio la malaria, di cui l'agente infettivo è il Plasmodium falciparum (un protozoo).

Ciclo vitale del Plasmodio: la zanzara anofele succhia il sangue da un individuo affetto da malaria. Gli sporozoi del Plasmodio si spostano dal sangue infetto nell'apparato salivare della zanzara stessa che può ora pungere un individuo sano e infettarlo inoculando gli sporozoi assieme alla saliva. Nel momento in cui in individuo sano viene punto, gli sporozoi entrano prima in circolo e raggiungono il fegato dove possono restare quiescenti per un tempo variabile, poi passano nel sangue ed iniziano a replicarsi negli eritrociti. L'unica barriera alla replicazione del plasmodio, a parte dei repellenti naturali, potrebbe essere rappresentata da un ambiente sfavorevole all'interno degli eritrociti: si pensa, infatti, che diversi varianti dell'emoglobina possano essere responsabili della creazione di un ambiente non idoneo per la replicazione degli sporozoi.

Anemia falciforme

L'emoglobina è una proteina globulare tetramerică (nell'adulto 2 subunità α e due subunità β) presente nei globuli rossi dei vertebrati, responsabile del trasporto dell'ossigeno nel sangue. Nel caso dell'anemia falciforme, una o entrambe le catene della subunità β non sono normali, presentano, infatti, una mutazione in sesta posizione Glu \rightarrow Val (Glu6Val).

Questa mutazione può causare problemi quando la pressione parziale dell'ossigeno diminuisce, perché l'emoglobina mutante aggrega e diventa fibrosa meno idrosolubile, facendo assumere agli eritrociti la particolare forma a falce.

Un individuo omozigote per questa mutazione risulta avere un'anemia grave, la sua emoglobina non è funzionale e l'apporto di ossigeno è molto ridotto: per questi motivi la mutazione è selezionata negativamente.

In caso di eterozigosi, però, l'individuo ha una sola dose dell'allele mutato e appare normale (può avere problemi solo in certe condizioni come ad alta quota), infatti non presenta tutte le caratteristiche nocive dell'anemia ma la quantità di emoglobina mutata contribuisce a creare un ambiente interno agli eritrociti sfavorevole alla replicazione del Plasmodio, impedendo il completamento del ciclo e conferendo così una certa resistenza all'infezione malarica.

Si parla in questi casi di polimorfismo bilanciato (o vantaggio dell'eterozigote): gli omozigoti (sia dominanti che recessivi) hanno una fitness bassa perché a rischio di anemia o di malaria, mentre l'eterozigote non muore di anemia ed è resistente al plasmodio. Aumenta così la frequenza del gene patologico perché allo stato eterozigote conferisce resistenza all'infezione malarica.

β -Talassemie

Le β -Talassemie sono un po' più complicate da analizzare, perché sono causate da più mutazioni che colpiscono sempre il gene che codifica per la catena β dell'emoglobina.

Anche in questo caso, sono presenti dei fenotipi intermedi che creano negli eritrociti un ambiente sfavorevole al ciclo del plasmodio.

Nel mediterraneo la malaria è stata debellata, però le varianti alleliche nella popolazione sono ancora presenti poiché è da poco che è stata eradicata.

α -Talassemia

Il gene della subunità α è duplicato ($\alpha 1$ e $\alpha 2$) e normalmente sono codificate 4 copie normali, però in queste regioni ripetute si possono avere ricombinazioni non omologhe che causano sbilanciamento di copie. La situazione è molto varia, si possono avere più copie o meno copie, ma solitamente più sono le delezioni, più la talassemia è forte.

[inserire immagine]

Le conseguenze delle talassemie si risolvono in un pattern microcitemico del sangue, ossia i globuli rossi presentano una dimensione minore e una colorazione non più rossa ma rosa, a causa della minor presenza di emoglobina.

[inserire immagine]

G6PD

Il Favismo è una malattia causata dalla deficienza della Glucosio-6-fosfato Deidrogenasi (G6PD), un enzima molto importante che catalizza la prima reazione della via dei pentoso fosfati. Questa via, tra l'altro, è molto importante per rigenerare il NADPH, una molecola necessaria per tamponare agenti ossidativi prodotti in condizione di stress. In caso di carenza di G6PD, viene rigenerata una quantità ridotta di NADPH e si viene a creare una specie di anemia emolitica, cioè vi è un forte potere ossidativo all'interno delle cellule e i globuli rossi tendono a rompersi (emolisi) e a rilasciare l'emoglobina.

Il gene G6PD è situato sul cromosoma X, è abbastanza lungo e può subire varie mutazioni, anche se alcune sono più frequenti rispetto ad altre. Alcune di queste mutazioni, così come nel caso delle anemie, possono creare un ambiente sfavorevole per la replicazione del plasmodio. La deficienza di G6PD è la forma di resistenza alla malaria tipicamente presente nel Sudamerica.

L'ipotesi più accreditata per spiegare l'alta frequenza di queste varianti alleliche patologiche è quella che, probabilmente, le varianti siano il risultato di tanti eventi mutazionali indipendenti e che appena nasce una variante che conferisce resistenza, questa si stabilizza grazie ad una grande pressione selettiva.

Quando però si vanno a considerare i tempi di coalescenza, si vede che in realtà sono tutti abbastanza recenti (massimo 5000 anni fa) e questo sta a significare che sono il risultato di un'evoluzione molto recente. Questo dimostra che il sistema immunitario e quello eritrocitario hanno dei tempi di evoluzione molto rapidi (aumenta velocemente la frequenza di chi è resistente).

[inserire immagine]

Adattamento all'alimentazione

Durante la fase finale dell'evoluzione umana, gli shift alimentari (= cambiamenti di abitudini alimentari) sono stati diversi.

[inserire immagine]

Come si può vedere dal grafico, sono presenti delle evidenze di tipo paleontologico, archeologico e paleo-ambientale, ma ci sono evidenze anche dal punto di vista genetico? L'ultimo grosso cambiamento nell'alimentazione è rappresentato nel Neolitico dall'agricoltura e dalla domesticazione, che hanno permesso di disporre di nuove fonti di cibo, come nuovi cereali, nuovi animali, latte e derivati: sono proprio questi ultimi cambiamenti quelli che andremo a esaminare.

I primi shift alimentari dovuti ad un cambiamento di risorse, ad una loro diversa disponibilità e, quindi, ad una necessità di adattarsi a questi, risultano evidenti anche prima del primo Out of Africa (controllo del fuoco e cottura dei cibi).

La transizione neolitica è avvenuta tante volte: bisogna pensare che l'agricoltura sia nata, in maniera indipendente, tante volte e in zone diverse, facilitata anche da espansioni demiche e/o scambi culturali.

Persistenza della lattasi

Non è una patologia, ma un disordine metabolico dalle conseguenze non gravi.

Il lattosio è un componente fondamentale del latte di tutti i mammiferi per questo i piccoli di questi animali devono essere in grado di digerirlo tramite la lattasi, un enzima che è prodotto nei villi intestinali.

Finito l'allattamento, tutti gli animali perdono la capacità di produrre la lattasi e quindi il lattosio ingerito causa un ambiente osmotico che favorisce l'entrata di acqua nell'intestino, provocando diarrea, formazione di gas e dolori intestinali.

Solitamente si procede con lo svezzamento naturale anche nell'uomo, ma alcune popolazioni hanno compensato la deficienza di lattasi con la fermentazione del latte e la produzione di yogurt, formaggi stagionati ecc. che hanno un contenuto molto ridotto di lattosio.

In alcune popolazioni, però, vi è una quota di adulti che presentano persistenza della produzione di lattasi. La persistenza non ha però una distribuzione geografica uniforme, ma a mosaico. [inserire immagine]

Come nel caso delle talassemie, non è una sola variante quella interessata, ma vi sono varianti genetiche diverse che producono lo stesso fenotipo. Deve esserci, allora, una forte pressione che favorisce la persistenza degli alleli, poiché le varianti sono tante e sono anche molto frequenti.

In generale, nel Mediterraneo la persistenza è molto bassa mentre nel nord Europa la quasi totalità della popolazione è in grado di digerire il lattosio e, quindi, la persistenza è molto elevata. [inserire immagine]

Perché dovrebbe esserci la necessità di bere latte anche nell'adulto? Ovviamente per l'apporto di calcio, poiché il lattosio aumenta la possibilità di assorbire il calcio presente nel latte e questo potrebbe compensare la carenza di Vitamina D, consentendo in questo modo di colonizzare anche aree molto a nord, esposte in modo minore alla radiazione solare.

Le varianti che determinano la persistenza non sono nel gene della lattasi, bensì nell'introne di un altro gene situato a monte e per identificarle sono stati fatti studi di espressione della lattasi con geni reporter.

La variante 13910 è quella più frequente in Europa.

I motivi per continuare a sintetizzare la lattasi sono:

- assorbimento di calcio;
- latte come fonte di acqua nelle zone aride;
- il latte è un cibo di qualità (fonte di zuccheri, proteine, grassi,...)

Sono stati fatti vari studi per cercare di capire quale dei motivi fosse il più plausibile ed il terzo è risultato il più probabile ma, ovviamente, non è una risposta definitiva.

AMY1A – Consumo di amido

Le varianti del gene AMY1A sono un altro adattamento, dovuto all'aumento del consumo di amido (frumento e riso).

Le amilasi sono gli enzimi che digeriscono l'amido, sono codificate da vari geni, il primo è quello dell'amilasi salivare (AMY1), il secondo è quello dell'amilasi pancreatica.

La situazione ancestrale è rappresentata da una sola copia del gene AMY1, infatti anche lo scimpanzé possiede una copia singola, ma nell'uomo è possibile ritrovare diverse copie dello stesso gene (verificato con tecnica Fiber-Fish). [inserire immagine]

E' stato visto che chi ha una dieta prevalentemente cerealicola possiede più copie del gene AMY1, quindi l'uso del cereale ha indotto nel tempo la selezione di un maggior numero di copie, per una digestione più efficiente dell'amido già a partire dalla saliva.

Quella della persistenza della lattasi e il numero di copie di AMY1A sono prove che gli shift alimentari hanno indotto degli adattamenti che, anche in questo caso, sono stati veloci.

Se si fanno studi molecolari, si trovano tempi di evoluzione più recenti delle testimonianze fossili e questo significa che prima c'è stato lo shift e poi è cambiata la composizione genetica delle popolazioni.

Si parla di niche construction, ossia una co-evoluzione fra la genetica e la cultura che determina la nascita di una nicchia che poi diventa un ambiente selettivo che favorisce la nascita di nuove varianti.

Anche i cambiamenti culturali, allora, possono porre le basi per dei cambiamenti genetici.