

Ecologia Umana e Malattie: analisi di interazione genetica e ambientale



ECOLOGIA UMANA

Baker (1994)

Studio di come gli ambienti naturale e culturale influiscano sulle caratteristiche biologiche di una determinata popolazione umana.

Caratteristica biologica → Malattia (incidenza, prevalenza)

Prevalenza

$$\frac{\text{numero totale casi di malattia}}{\text{popolazione a rischio}}$$

Misura la presenza della malattia

Più facile da determinare (basta una sola indagine)

Incidenza

$$\frac{\text{nuovi casi di malattia in un periodo}}{\text{popolazione (inizialmente sana) a rischio nel periodo}}$$

Misura la comparsa o la velocità di diffusione della malattia

Individua il rischio o la probabilità di contrarre la malattia

È difficile da determinare (necessita di 2 indagini successive)

“All human disease is genetic in origin“

Paul Berg (Premio Nobel nel 1980)

“What we need to do now is find those genes“

James Watson (Premio Nobel nel 1962)

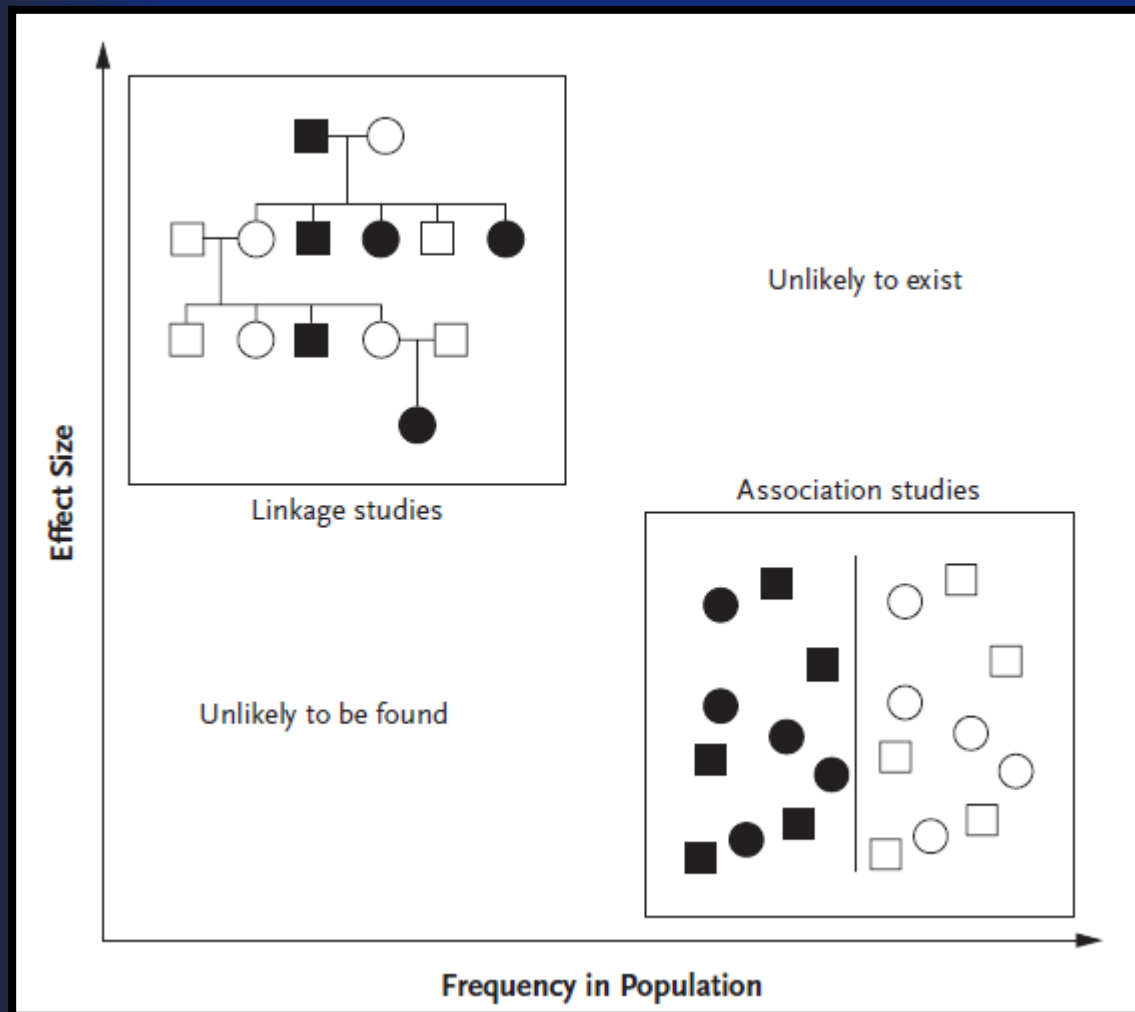
Malattie Genetiche

Malattie monogeniche:

sono il risultato di un singolo gene mutato. Sono oltre 4000 malattie umane causate da difetti di un singolo gene. Tipi di trasmissione: autosomiche (recessive, dominanti), X-linked e Y-linked

Malattie poligeniche/multifattoriali:

Sono causate dall'interazione di più varianti genetiche (predisposizione genetica) che interagiscono con fattori di rischio ambientale



alleli-malattia con un forte impatto sul rischio di insorgenza della patologia – Studi di linkage su famiglie informative

alleli-malattia con debole effetto sul rischio di insorgenza della patologia – Studi di associazione genetica

Studio di linkage per malattie rare

The NEW ENGLAND JOURNAL *of* MEDICINE

ESTABLISHED IN 1812

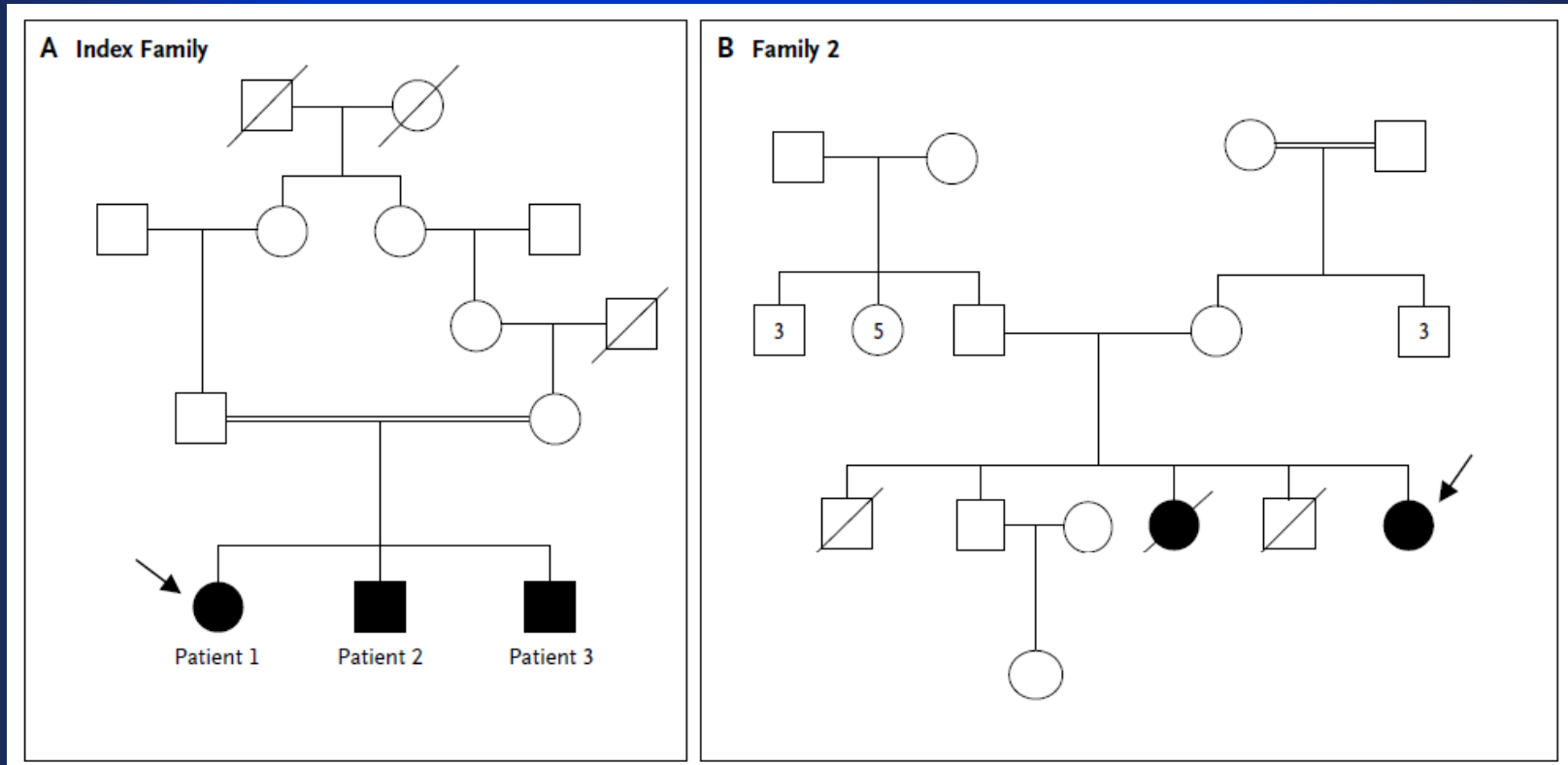
JULY 28, 2011

VOL. 365 NO. 4

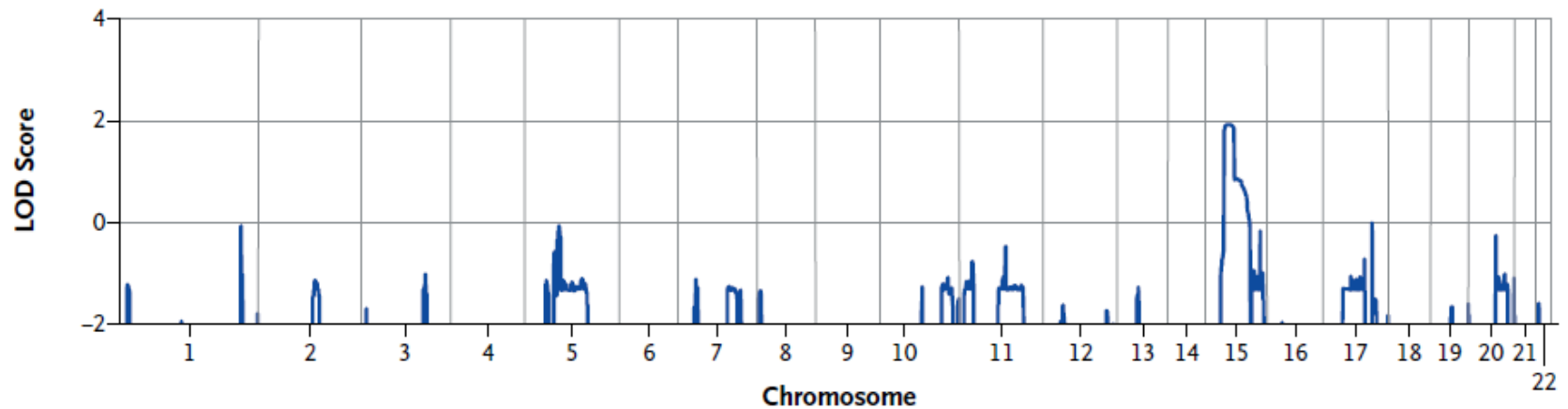
MYO1E Mutations and Childhood Familial Focal Segmental Glomerulosclerosis

Caterina Mele, Biol.Sci.D., Paraskevas Iatropoulos, M.D., Roberta Donadelli, Biol.Sci.D., Andrea Calabria, Eng.D.,
Ramona Maranta, Biol.Sci.D., Paola Cassis, Ph.D., Simona Buelli, Ph.D., Susanna Tomasoni, Ph.D.,
Rossella Piras, Chem.Pharm.D., Mira Krendel, Ph.D., Serena Bettoni, Biotech.D., Marina Morigi, Ph.D.,
Massimo Delledonne, Ph.D., Carmine Pecoraro, M.D., Isabella Abbate, Ph.D., Maria Rosaria Capobianchi, Ph.D.,
Friedhelm Hildebrandt, M.D., Edgar Otto, M.D., Franz Schaefer, M.D., Fabio Macciardi, M.D., Fatih Ozaltin, M.D.,
Sevinc Emre, M.D., Tulin Ibsirlioglu, Ph.D., Ariela Benigni, Ph.D., Giuseppe Remuzzi, M.D.,
and Marina Noris, Ph.D., for the PodoNet Consortium

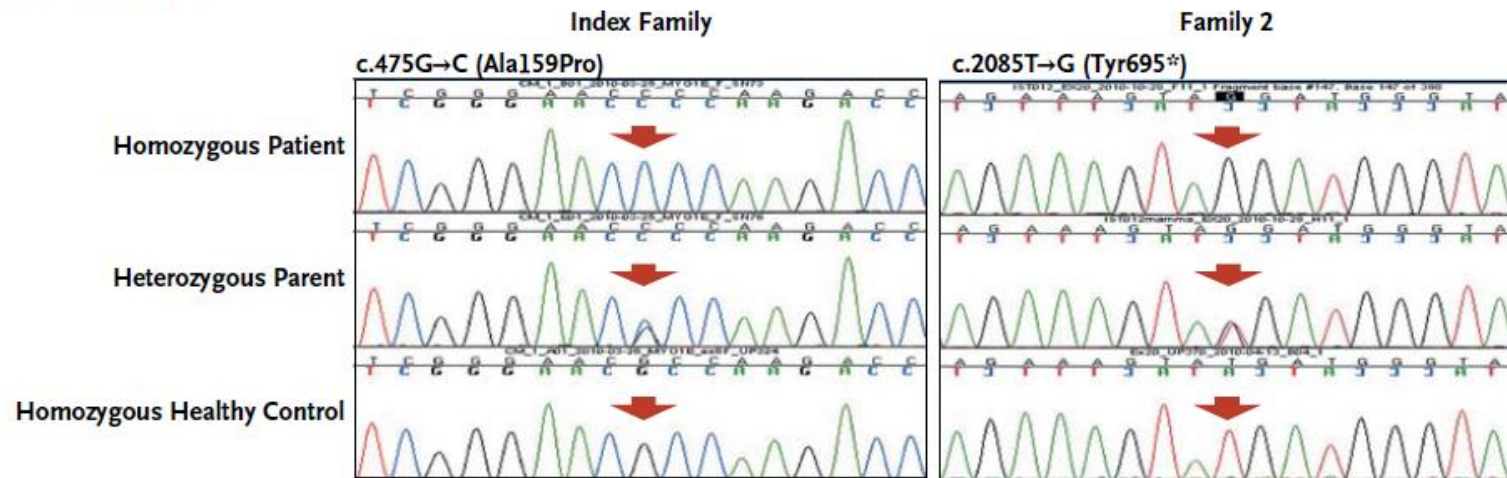
Analisi dell'albero genealogico di 2 famiglie informative



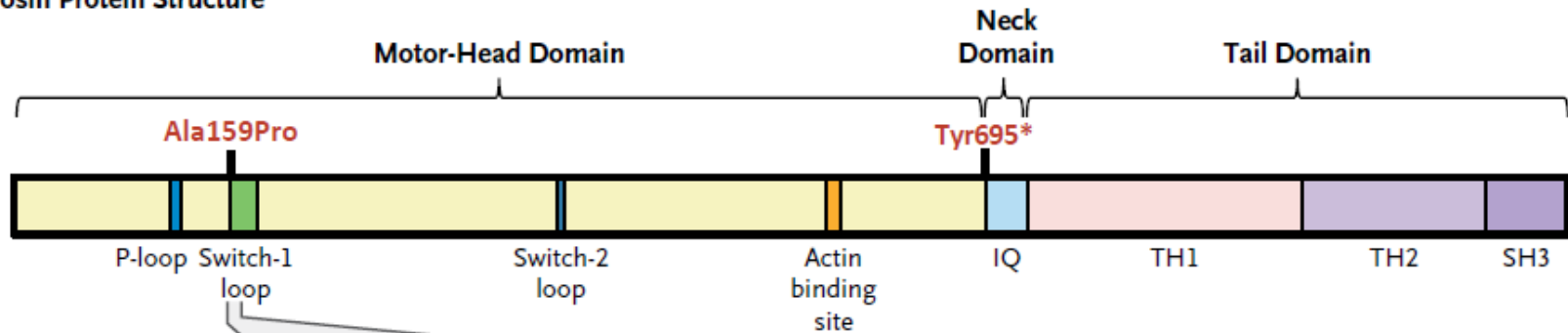
Whole-Genome Multipoint Linkage Analysis in Index Family



Direct Sequencing



Myosin Protein Structure



Sequence Alignment of Myo1E and Homologues

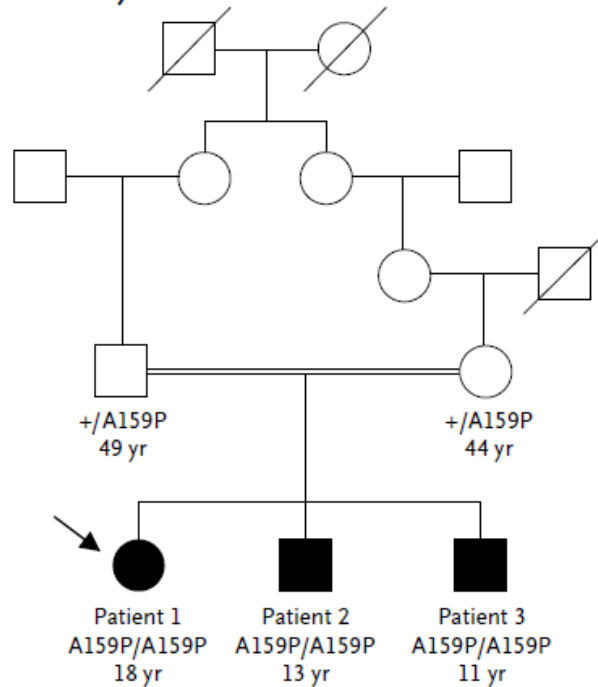
Mutation

Homo sapiens
Pan troglodytes
Macaca mulatta
Mus musculus
Rattus norvegicus
Canis familiaris
Equus caballus
Gallus gallus
Xenopus laevis
Danio rerio
Dictyostelium discoideum

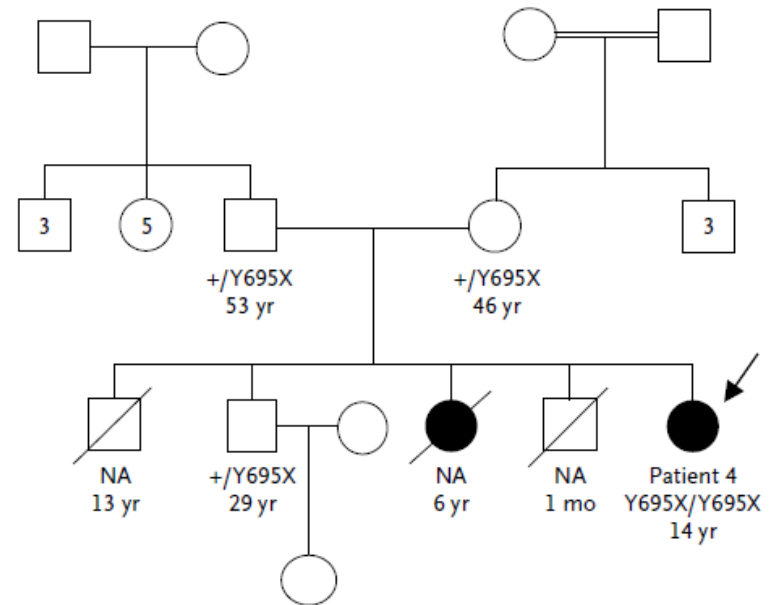
... GGGTKVQHVKDIILQSNPLLEAFGN **P**AKTVRNNNSSRFGKYFEIQFSPGGEP ...
 ... GGGTKVQHVKDIILQSNPLLEAFGNAKTVRNNNSSRFGKYFEIQFSPGGEP ...
 ... GGGPKVQHVKDIILQSNPLLEAFGNAKTVRNNNSSRFGKYFEIQFSPGGEP ...
 ... GGGPKVQHVKDIILQSNPLLEAFGNAKTVRNNNSSRFGKYFEIQFSPGGEP ...
 ... GGGPKVQHVKDIILQSNPLLEAFGNAKTVRNNNSSRFGKYFEIQFSPGGEP ...
 ... GGGPKVQHVKDIILQSNPLLEAFGNAKTVRNNNSSRFGKYFEIQFSPGGEP ...
 ... GGGPKVQHVKDIILQSNPLLEAFGNAKTVRNNNSSRFGKYFEIQFSPGGEP ...
 ... GGGPKVQHVKDIILQSNPLLEAFGNAKTVRNNNSSRFGKYFEIQFSPGGEP ...
 ... GGGPKVQHVKDIILQSNPLLEAFGNAKTVRNNNSSRFGKYFEIQFSPGGEP ...
 ... GGGPKVQHVKDIILQSNPLLEAFGNAKTVRNNNSSRFGKYFEIQFSPGGEP ...
 ... SNQSNGERISKMLLDSPNPLLEAFGNAKTVRNNNSSRFGKYFEIQFSPGGEP ...
 ... SNQSNGERISKMLLDSPNPLLEAFGNAKTVRNNNSSRFGKYFEIQFSPGGEP ...

Albero genealogico con informazioni genotipiche

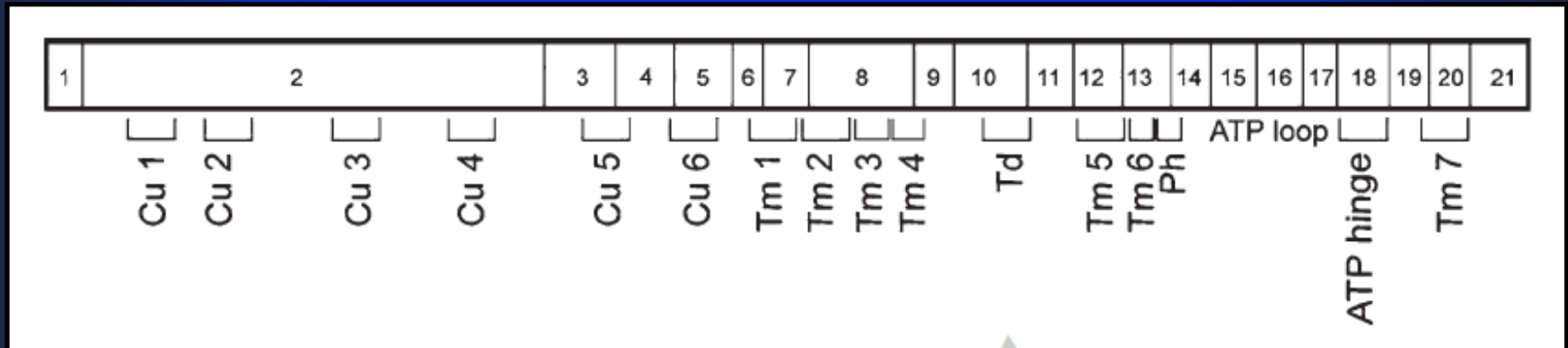
A Index Family



B Family 2



Wilson's disease: tante mutazioni una unica malattia



Il gene causa della malattia è l'ATP7B, su cui sono state identificate più di 500 mutazioni

Amiloidosi da Transtiretina



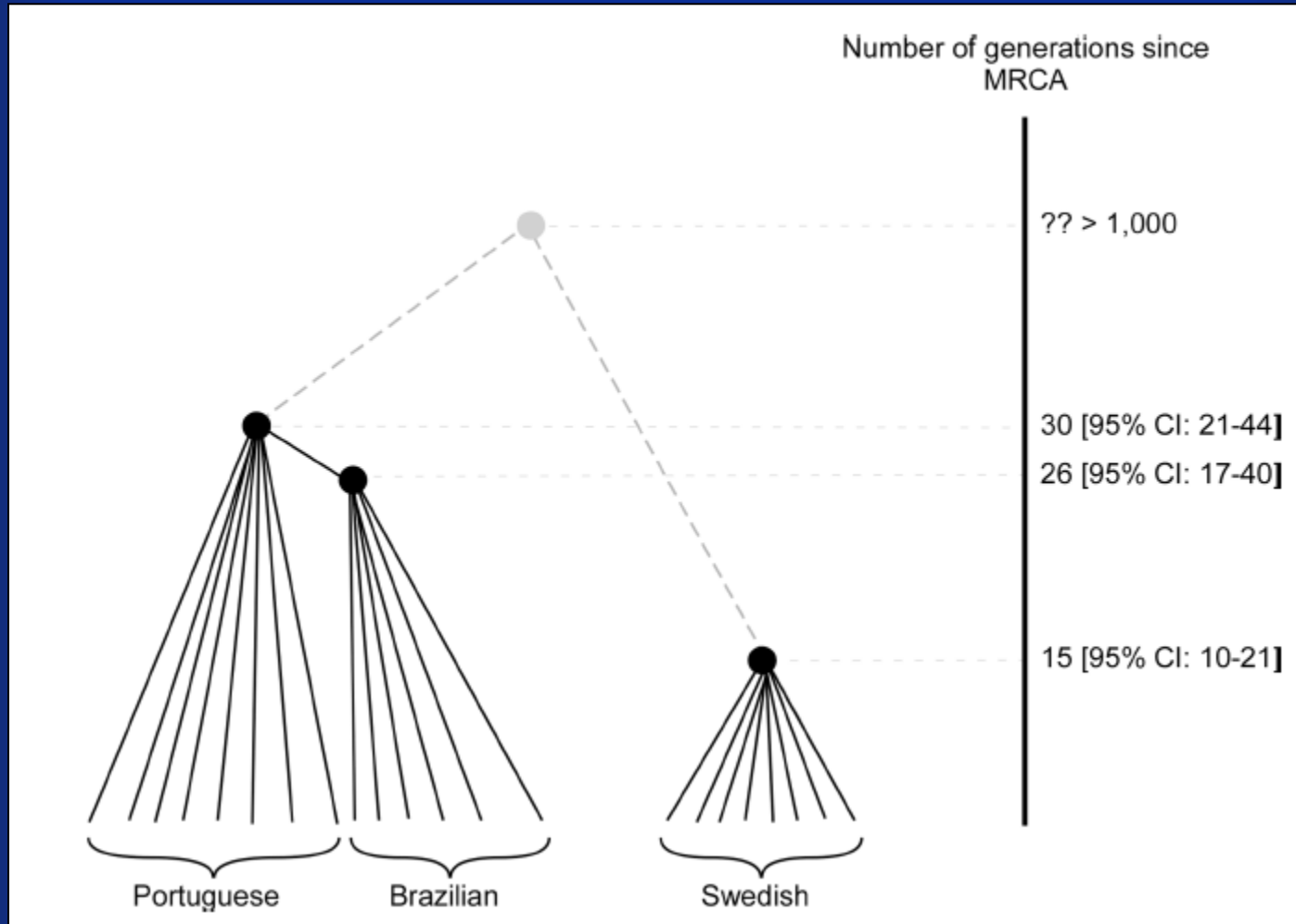
Distribuzione mondiale dei *foci* di Amiloidosi da TTR dovuti alla variante Val30Met

Origine della variante Val30Met nel gene TTR

Due ipotesi:

- Origine unica (portoghese) e conseguente dispersione
- Più eventi mutazionali

Origine della variante Val30Met nel gene TTR

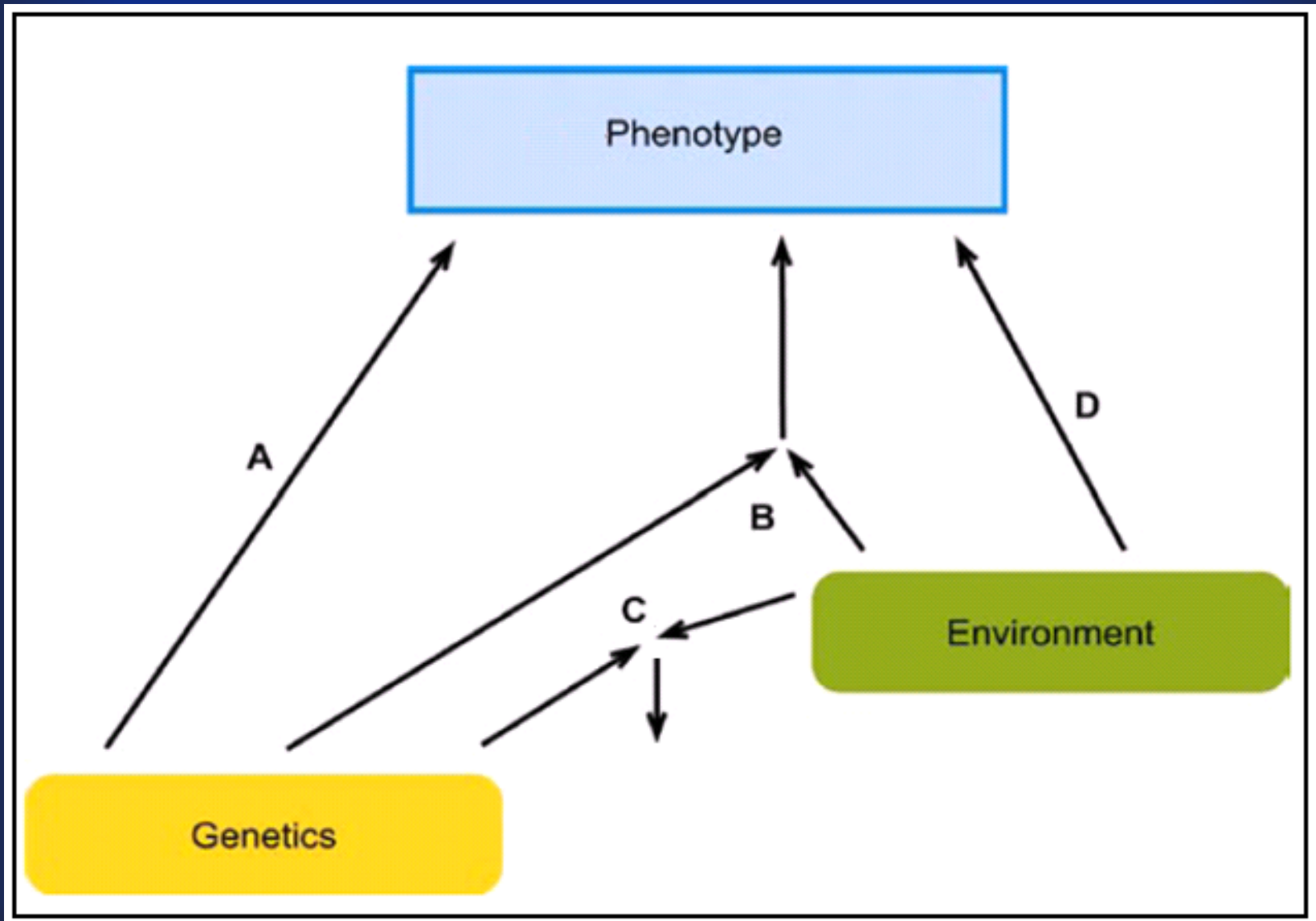


Complessità delle malattie monogeniche

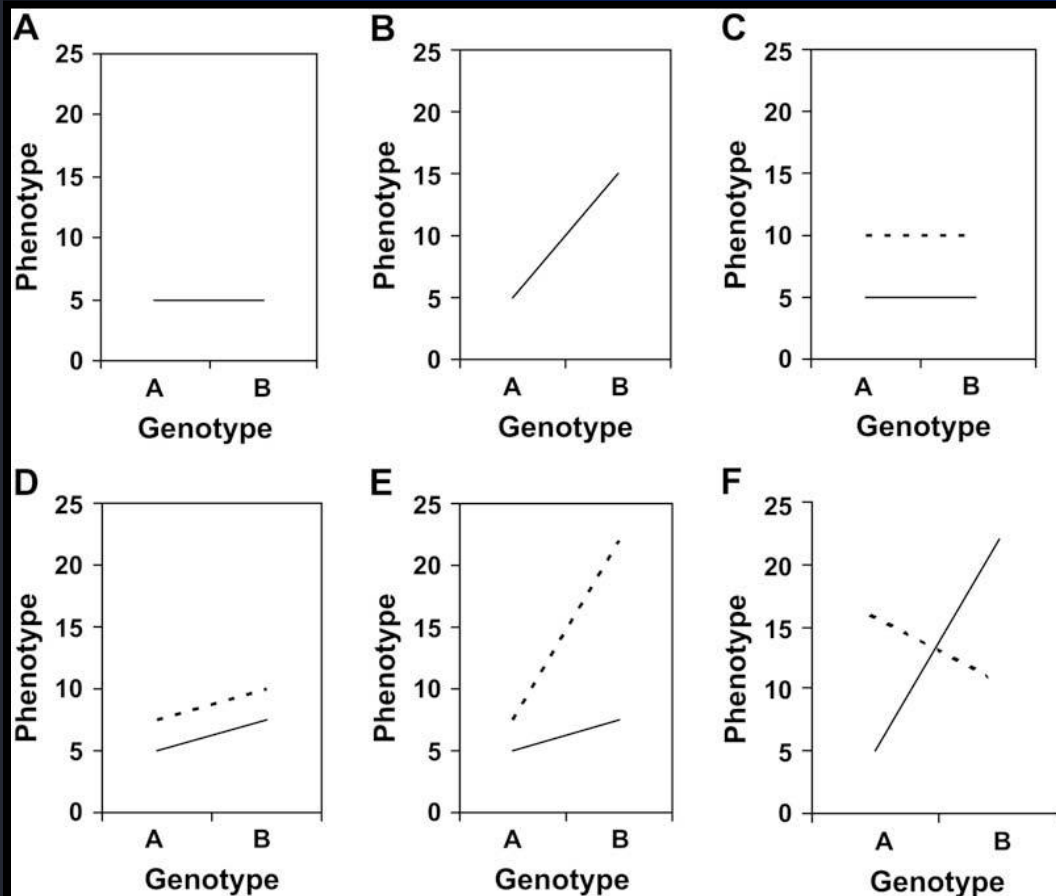
La complessità della malattia monogeniche non è solamente dovuta alla possibilità che più mutazioni sullo stesso gene possano provocare lo sviluppo della malattia, ma che portatori della mutazione presentino un fenotipo-malattia molto differente

Sebbene per molte di queste malattie ancora non sia stato chiarito il meccanismo che altera la correlazione genotipo-fenotipo, si ipotizza che due siano i fattori potenzialmente coinvolti: la presenza di geni “modificatori” e l’interazione con l’ambiente

Malattie poligeniche



Interazione Gene-Ambiente



A, sia G che E non hanno un effetto sul fenotipo: nessuna interazione

B, G ha un effetto sul fenotipo mentre E non ha nessun effetto: nessuna interazione

C, E ha un effetto mentre G non alcun effetto: nessuna interazione

D, G ed E hanno effetti indipendenti: nessuna interazione

E, G ed E hanno due effetti che interagiscono

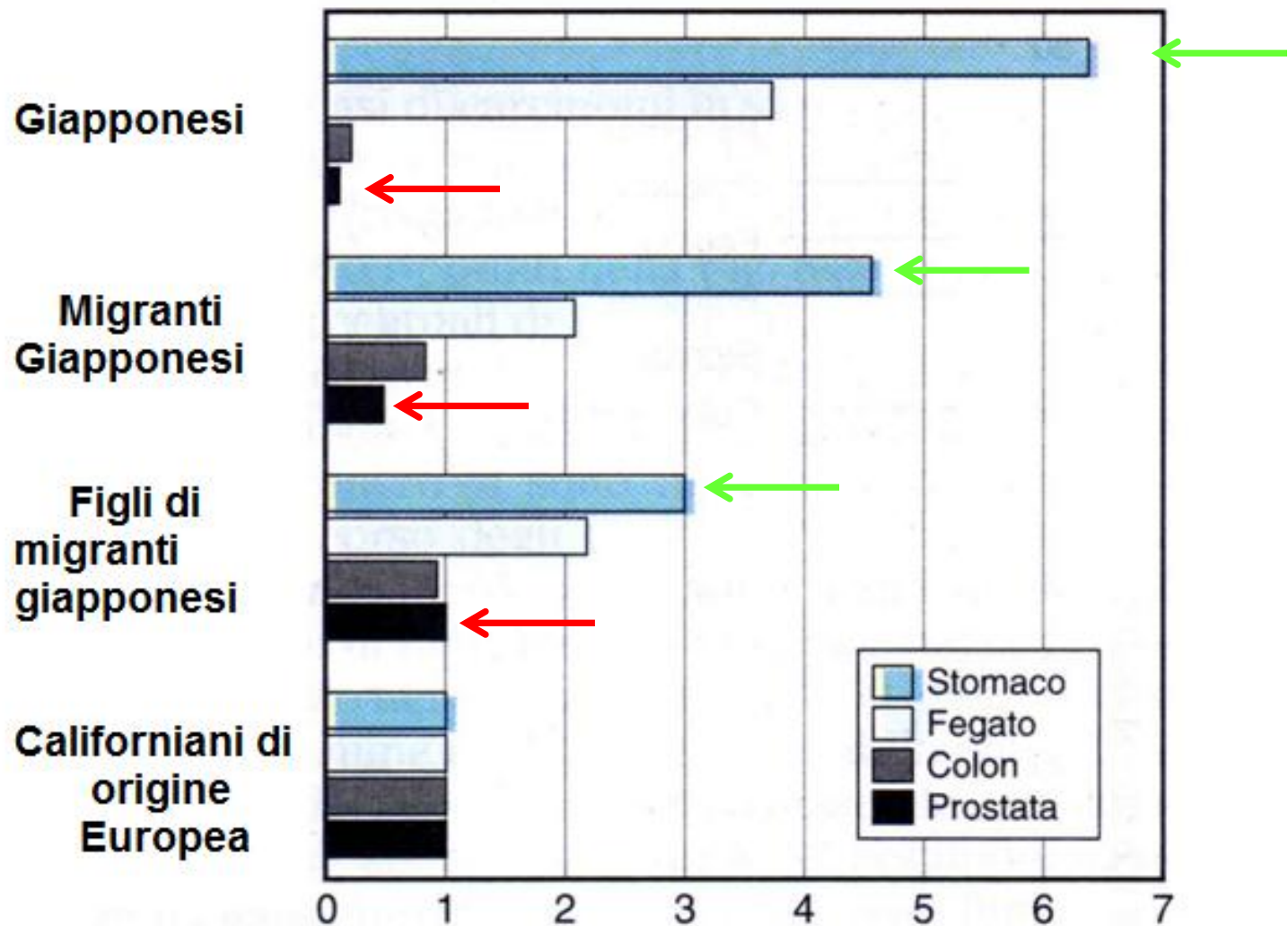
F, G ed E hanno effetti che interagiscono in direzione opposta

Patologie complesse nelle popolazioni umane

Aspetti culturali (stile di vita, stress occupazionale, condizioni igieniche, etc...)



Predisposizione genetica (differenze genetiche tra le popolazioni)



**Tasso di Mortalità per diversi tipi di cancro
(rapportato ai californiani-europei)**

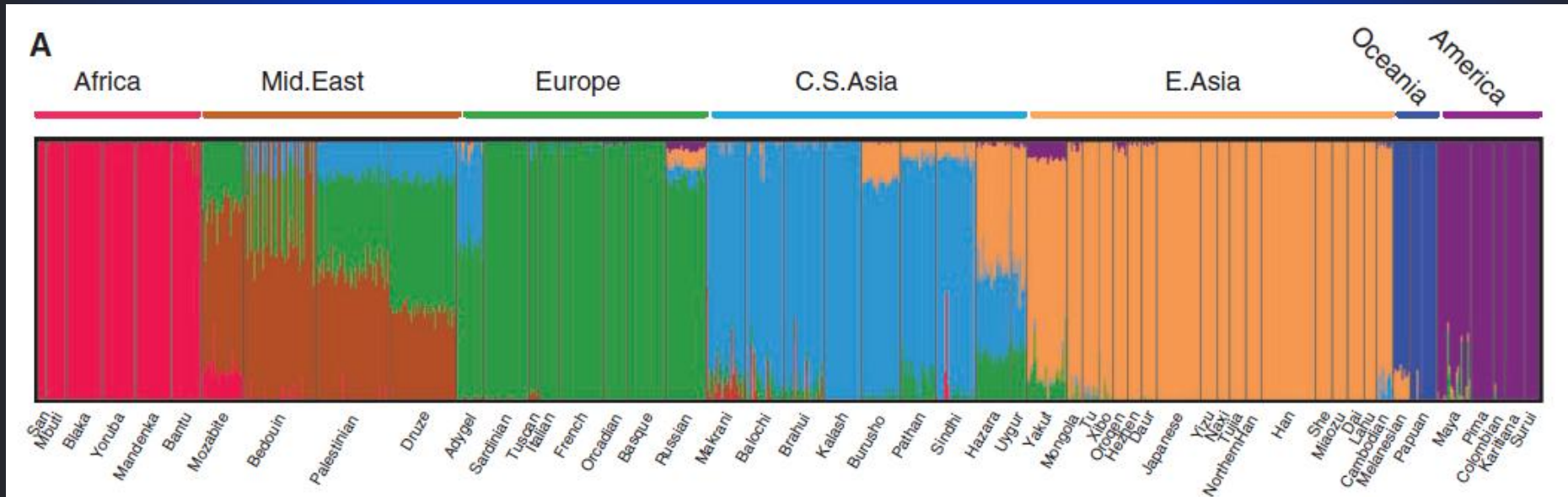
Tumore alla prostata e allo stomaco

I cambiamenti nel tasso di mortalità presente nei migranti giapponesi in California e nei loro figli sono dovuti principalmente ad un fattore importante fattore ambientale: la dieta.

La dieta giapponese è ricca di cibi salati ed affumicati che possono aumentare il rischio di sviluppare il tumore allo stomaco, mentre la forte presenza della soia e dei suoi derivati permettono ai giapponesi di assumere gli isoflavoni che hanno un effetto protettivo nei confronti del tumore prostatico

Nei migranti giapponesi e nei loro figli, l'assunzione di un regime alimentare simile a quello della popolazione californiana provoca un avvicinamento dei tassi di mortalità di questi due tipi di tumore

Differenze nella struttura genetica delle popolazioni umane



Human Genome Diversity Project

Sono stati tipizzati 650.000 SNP in 1043 individui appartenenti a 59 popolazioni differenti

Genetica della malattia di Alzheimer

Genes	Polymorphism	Ethnicity	OR (95% CI)	P value
APOE	APOE_e2/e3/e4	All	3.69 (3.30-4.12)	<1E-50
BIN1	rs744373	All	1.17 (1.13-1.20)	1.59E-26
CLU	rs11136000	European	0.88 (0.86-0.90)	3.37E-23
ABCA7	rs3764650	All	1.23 (1.18-1.28)	8.17E-22
CR1	rs3818361	European	1.17 (1.14-1.21)	4.72E-21
PICALM	rs3851179	European	0.88 (0.86-0.90)	2.85E-20
MS4A6A	rs610932	All	0.90 (0.88-0.93)	1.81E-11
CD33	rs3865444	All	0.89 (0.86-0.93)	2.04E-10
MS4A4E	rs670139	All	1.08 (1.05-1.11)	9.51E-10
CD2AP	rs9349407	All	1.12 (1.08-1.16)	2.75E-09

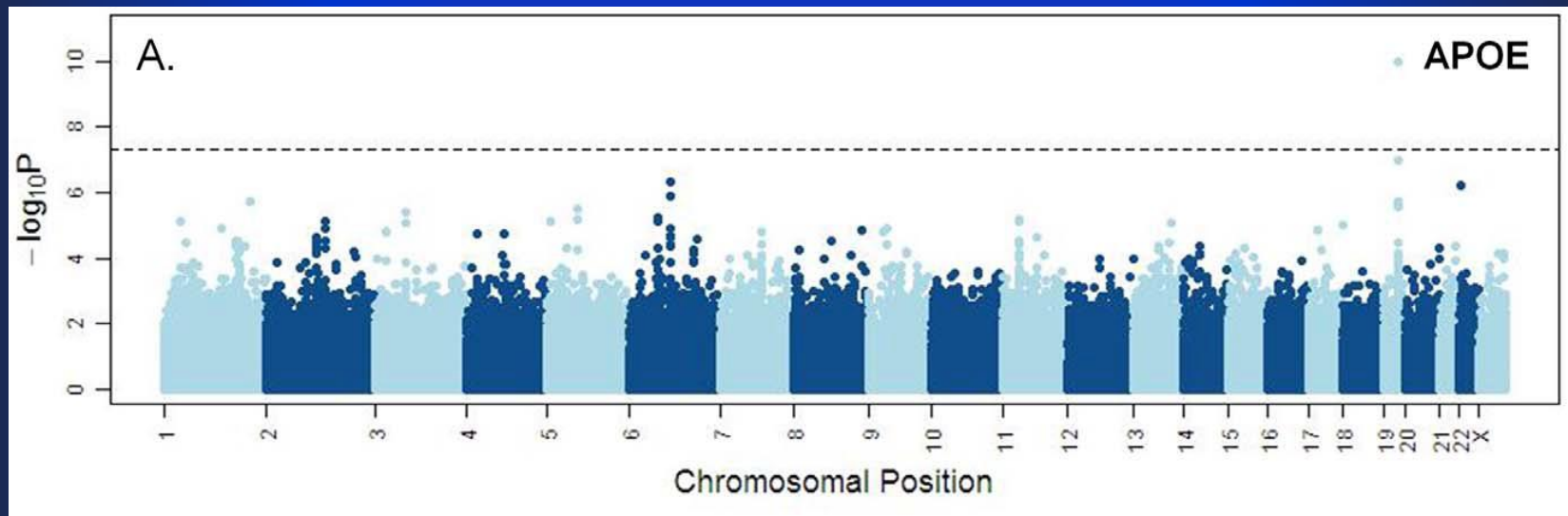
<http://www.alzgene.org>

Malattia di Alzheimer e l'allele epsilon4 del gene APOE

Origine	Genotipo APOE	OR (95%)
Africana	e2/e4	6,58 (0,26-165,96)
	e3/e4	1,69 (0,88-3,26)
	e4/e4	6,64 (1,99-22,13)
Asiatica	e2/e4	0,63 (0,08-4,76)
	e3/e4	3,62 (2,61-5,02)
	e4/e4	21,11 (9,32-47,80)
Europea	e2/e4	2,35 (1,73-3,19)
	e3/e4	3,59 (3,23-3,99)
	e4/e4	13,67 (10,87-17,20)

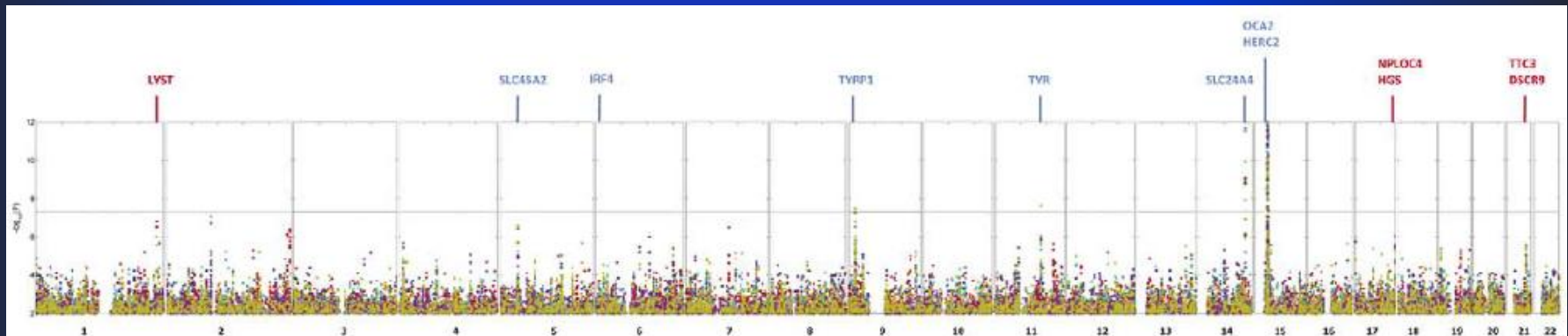
<http://www.alzgene.org>

Genome-Wide Association Studies



Hu et al. (2011) PLoS ONE 6(2): e16616

Genome-Wide Association Studies non solo malattie



GWAS – colore degli occhi

Liu et al. (2010) PLoS Genet 6(5): e1000934

Limiti dei GWAS

I GWAS hanno permesso di identificare numerose varianti genetiche associate con fenotipi complessi. Tuttavia non sempre i risultati ottenuti hanno chiarito l'ereditabilità di questi fenotipi

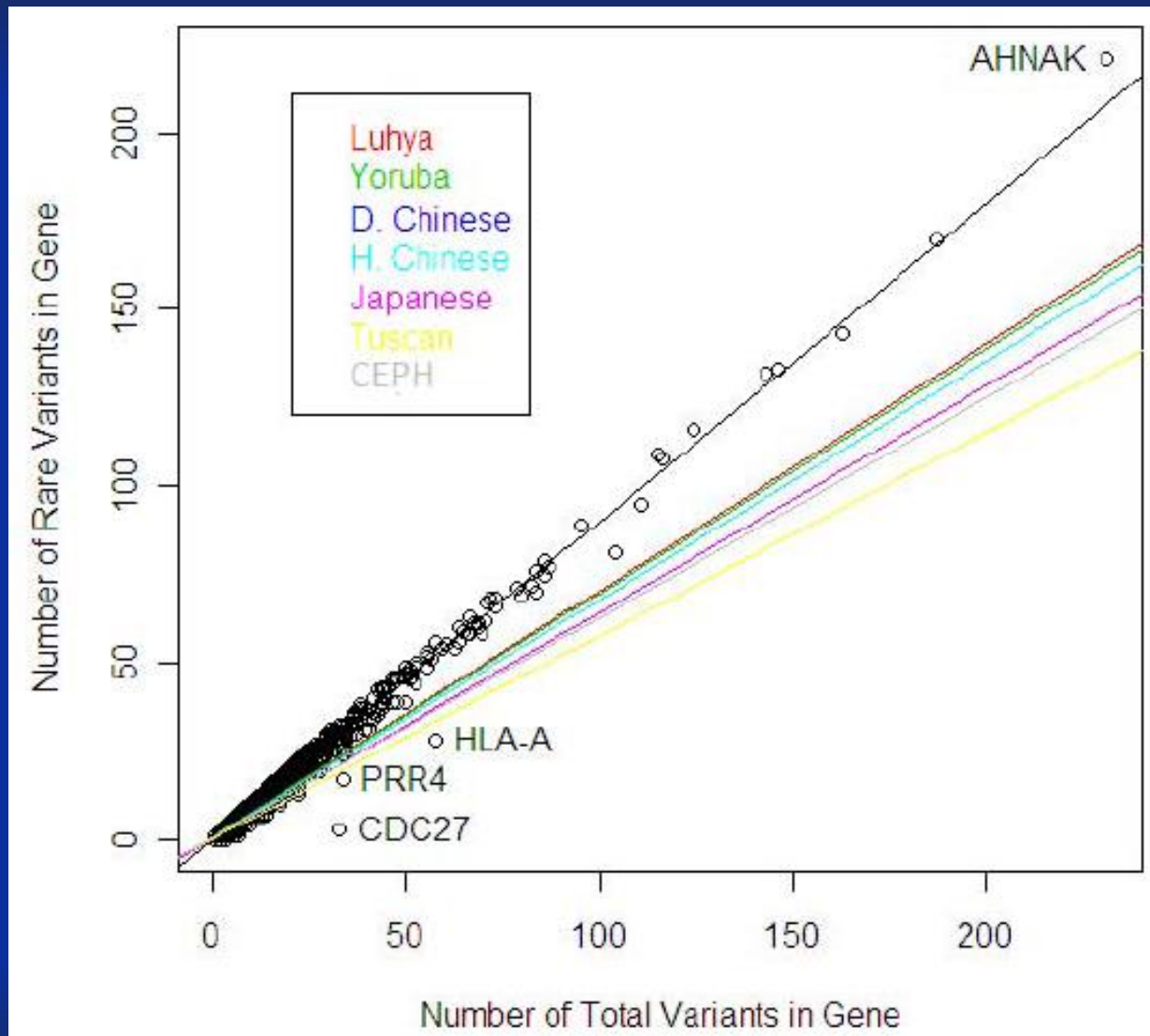
Due sono le ipotesi che potrebbero spiegare l'ereditabilità “mancante”:

- La maggior parte GWAS non tengono conto della complessità genetica e dell'interazione con l'ambiente
- I GWAS non sono stati disegnati per analizzare le varianti rare

“Common phenotype - Multiple rare variants”

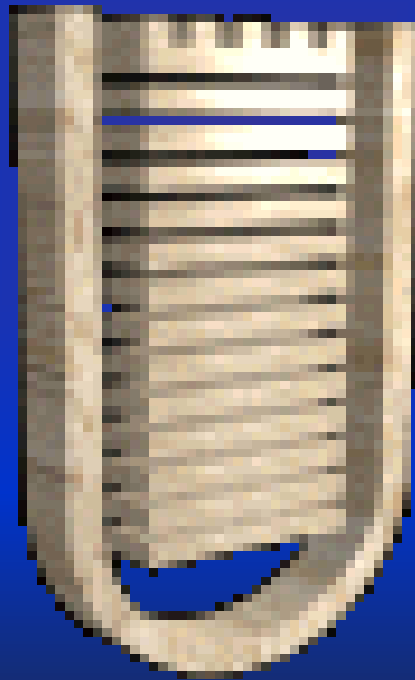
Next-Generation Sequencing

1000 Genomes Project

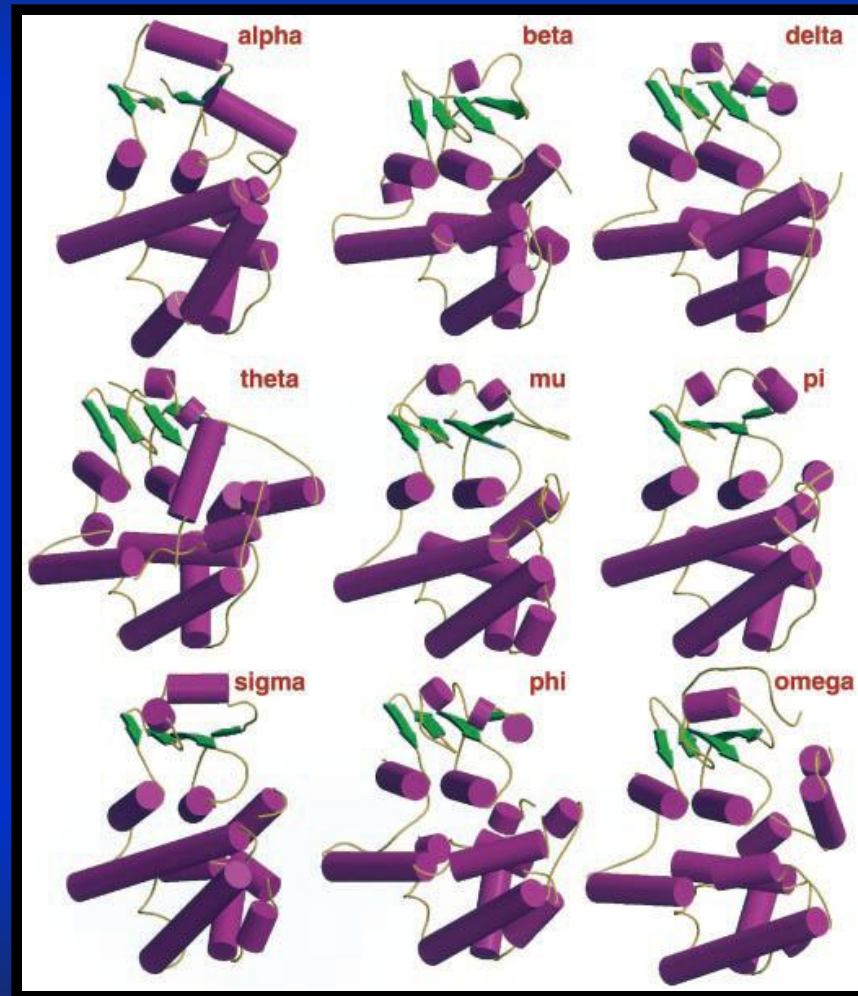


Human Ecology laboratory

University of Rome “Tor Vergata”



Glutathione S-Transferasi (GST)

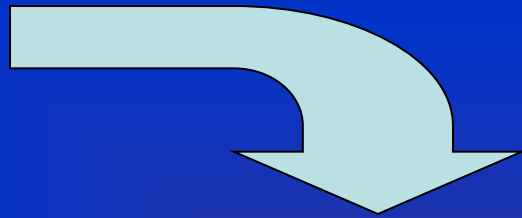


Variabilità genetica delle GST citosoliche

Allele	Localizzazione cromosomica	Sostituzione Nucleotidica/ Mutazione	Sostituzione aminoacidica/ Fenotipo
GSTA1*A	6p12	T/G-631, T-567, C-69, G-52	Livello proteico normale
GSTA1*B	6p12	G-631, G-567, T-69, A-52	Basso livello proteico
GSTA2*A	6p12.2	C328, C335, G588, A629	Pro ¹¹⁰ ;Ser ¹¹² ;Lys ¹⁹⁶ ;Glu ²¹⁰
GSTA2*B	6p12.2	C328, G335, 588G, C629	Pro ¹¹⁰ ;Ser ¹¹² ;Lys ¹⁹⁶ ;Ala ²¹⁰
GSTA2*C	6p12.2	C328, C335, G588, A629	Pro ¹¹⁰ ;Thr ¹¹² ;Lys ¹⁹⁶ ;Glu ²¹⁰
GSTA2*D	6p12.2	C328, G335, T588, C629	Pro ¹¹⁰ ;Ser ¹¹² ;Asn ¹⁹⁶ ;Glu ²¹⁰
GSTA2*E	6p12.2	T328, G335, G588, A629	Ser ¹¹⁰ ;Ser ¹¹² ;Lys ¹⁹⁶ ;Glu ²¹⁰
GSTM1*A	1p13.3	G519	Lys ¹⁷²
GSTM1*B	1p13.3	C519	Asn ¹⁷²
GSTM1*0	1p13.3	Delezione genica	No espressione proteica
GSTM1*1X2	1p13.3	Duplicazione genica	Over-espressione proteica
GSTM2*A	1p13.3	Wild tipe	Livello proteico normale
GSTM2*B	1p13.3	?	Protettivo nei processi degenerativi
GSTM3*A	1p13.3	Wild tipe	Livello proteico normale
GSTM3*B	1p13.3	Delezione di 3bp nell'introne	Struttura primaria Inalterata
GSTM4*A	1p13.3	Wild tipe	Gly ¹⁴⁷
GSTM4*B	1p13.3	T2617C nell'introne	Trp ¹⁴⁷ ; diminuzione attività catalitica
GSTO1*A	10q24.3	C419, 464-IVS4 + 1 AAG	Ala ¹⁴⁰ ;Glu ¹⁵⁵
GSTO1*B	10q24.3	C419, 464 delezione	Ala ¹⁴⁰ ;Glu ¹⁵⁵ (delezione)
GSTO1*C	10q24.3	A419, 464-IVS4 + 1 AAG	Asp ¹⁴⁰ ;Glu ¹⁵⁵
GSTO1*D	10q24.3	A419, 464 delezione	Asp ¹⁴⁰ ;Glu ¹⁵⁵ (delezione)
GSTO2*A	10q24.3	A424	Asn ¹⁴²
GSTO2*B	10q24.3	G424	Asp ¹⁴²
GSTP1*A	11q13	A313,C341, C555	Ile ¹⁰⁵ , Ala ¹¹⁴ , Ser ¹⁸⁵
GSTP1*B	11q13	G313,C341, T555	Val ¹⁰⁵ , Ala ¹¹⁴ ,Ser ¹⁸⁵
GSTP1*C	11q13	G313,T341, T555	Val ¹⁰⁵ , Val ¹¹⁴ , Ser ¹⁸⁵
GSTP1*D	11q13	A313, T341	Ile ¹⁰⁵ , Val ¹¹⁴
GSTT1*A	22q11.2	Gene unico	Thr ¹⁰⁴ ; Livello proteico normale
GSTT1*B	22q11.2	C310	Pro ¹⁰⁴
GSTT1*O	22q11.2	Delezione genica	No proteina
GSTT2*A	22q11.2	Gene unico	Met ¹³⁹ ; Livello proteico normale
GSTT2*B	22q11.2	G415	Ile ¹³⁹
GSTZ1*A	14q24	A94, A124, C245	Lys ³² , Arg ⁴² , Thr ⁸²
GSTZ1*B	14q24	A94, G124, C245	Lys ³² , Gly ⁴² , Thr ⁸²
GSTZ1*C	14q24	G94, G124, C245	Glu ³² , Gly ⁴² , Thr ⁸²
GSTZ1*D	14q24	G94, G124, T245	Glu ³² , Gly ⁴² , Met ⁸²

Enzimi detossificanti, Ambiente e Insorgenza di patologie

Xenobiotici/
Sostanze endogene



Attivatori

Inattivatori



Danno Biologico



Patologia

Variabilità genetica delle GST nelle popolazioni umane

[Human GST loci as markers of evolutionary forces: GSTO1*E155del and GSTO1*E208K polymorphisms may be under natural selection induced by environmental arsenic.](#)

Polimanti R, Piacentini S, De Angelis F, De Stefano GF, **Fuciarelli M.**

Dis Markers. 2011;31(4):231-9. doi: 10.3233/DMA-2011-0821.

PMID: 22045430 [PubMed - indexed for MEDLINE]

[Related citations](#)

[HapMap-based study of human soluble glutathione S-transferase enzymes: the role of natural selection in shaping the single nucleotide polymorphism diversity of xenobiotic-metabolizing genes.](#)

Polimanti R, Piacentini S, **Fuciarelli M.**

Pharmacogenet Genomics. 2011 Oct;21(10):665-72.

PMID: 21799460 [PubMed - indexed for MEDLINE]

[Related citations](#)

[GSTT1 and GSTM1 gene polymorphisms in European and African populations.](#)

Piacentini S, Polimanti R, Porreca F, Martínez-Labarga C, De Stefano GF, **Fuciarelli M.**

Mol Biol Rep. 2011 Feb;38(2):1225-30. Epub 2010 Jun 20.

PMID: 20563854 [PubMed - indexed for MEDLINE]

[Related citations](#)

[Glutathione S-transferase w class \(GSTO\) polymorphisms in a sample from Rome \(Central Italy\).](#)

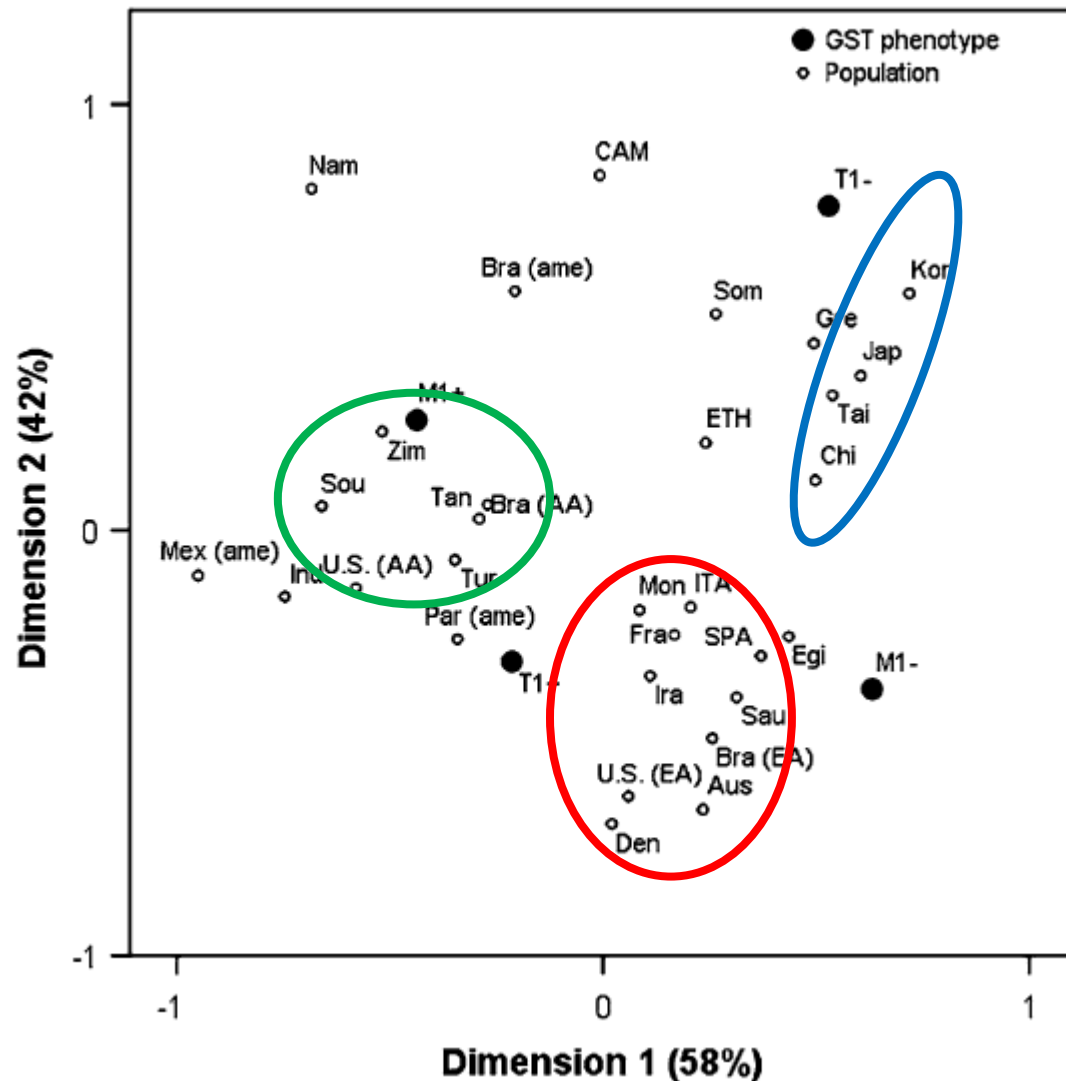
Polimanti R, Piacentini S, Porreca F, **Fuciarelli M.**

Ann Hum Biol. 2010 Aug;37(4):585-92.

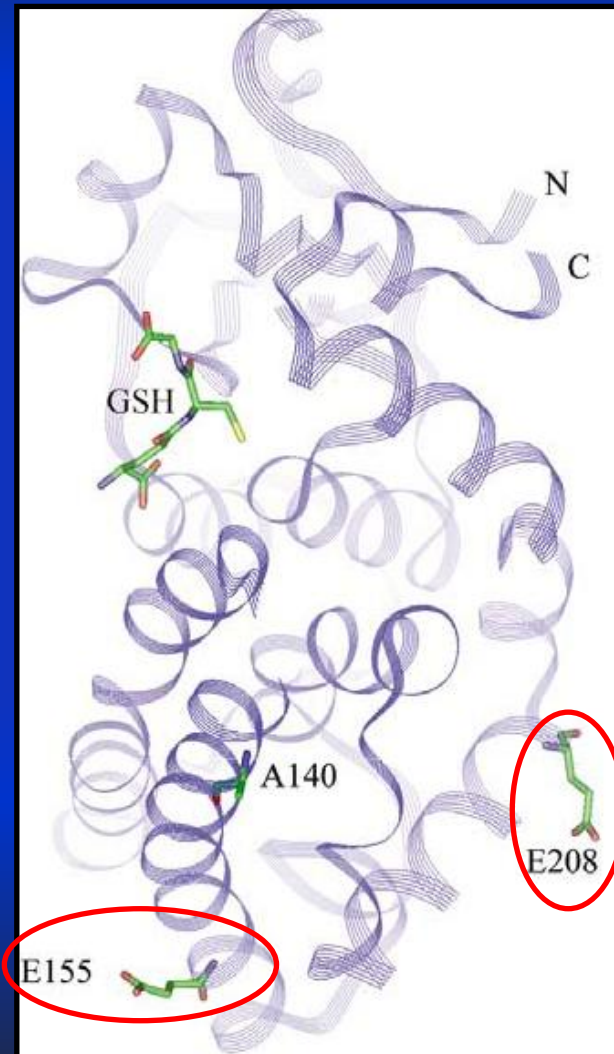
PMID: 20113212 [PubMed - indexed for MEDLINE]

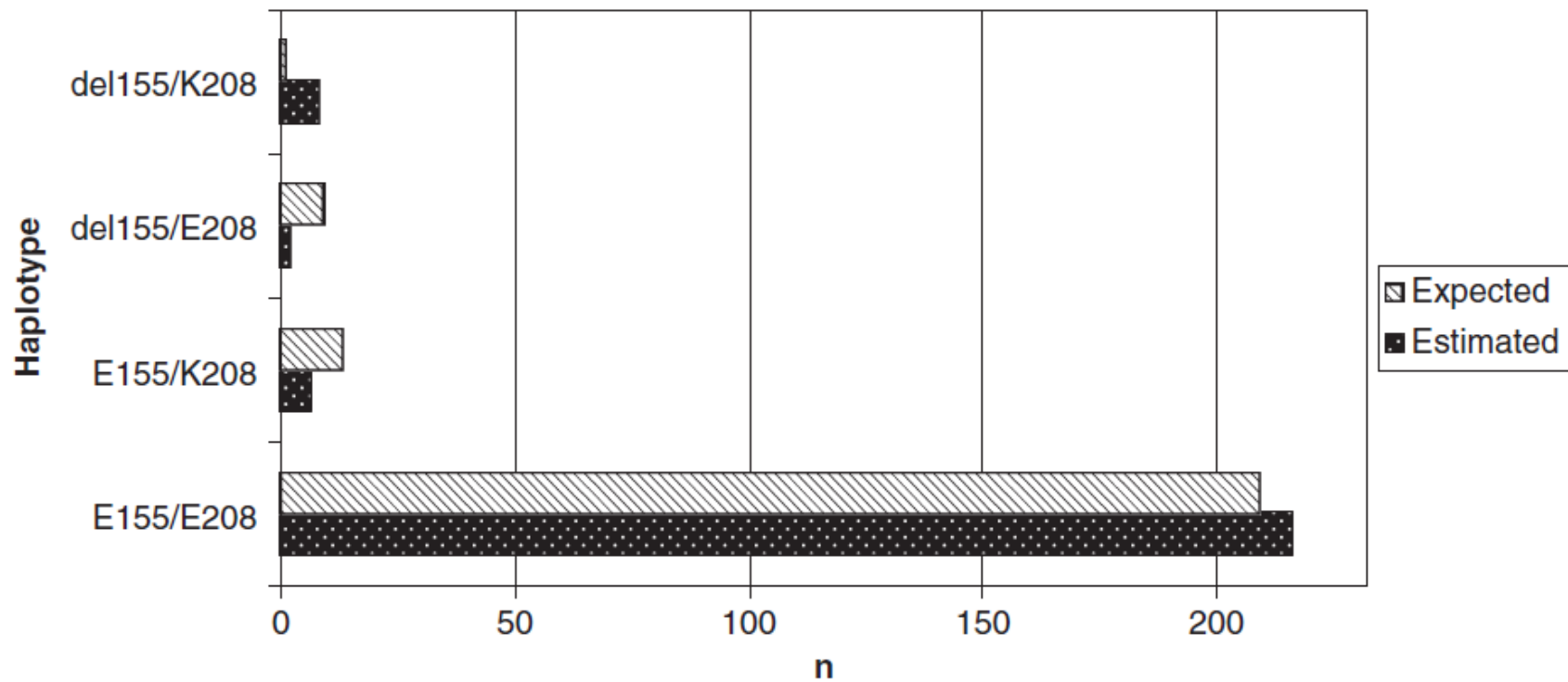
[Related citations](#)

GSTT1 and GSTM1 gene polymorphisms in European and African populations

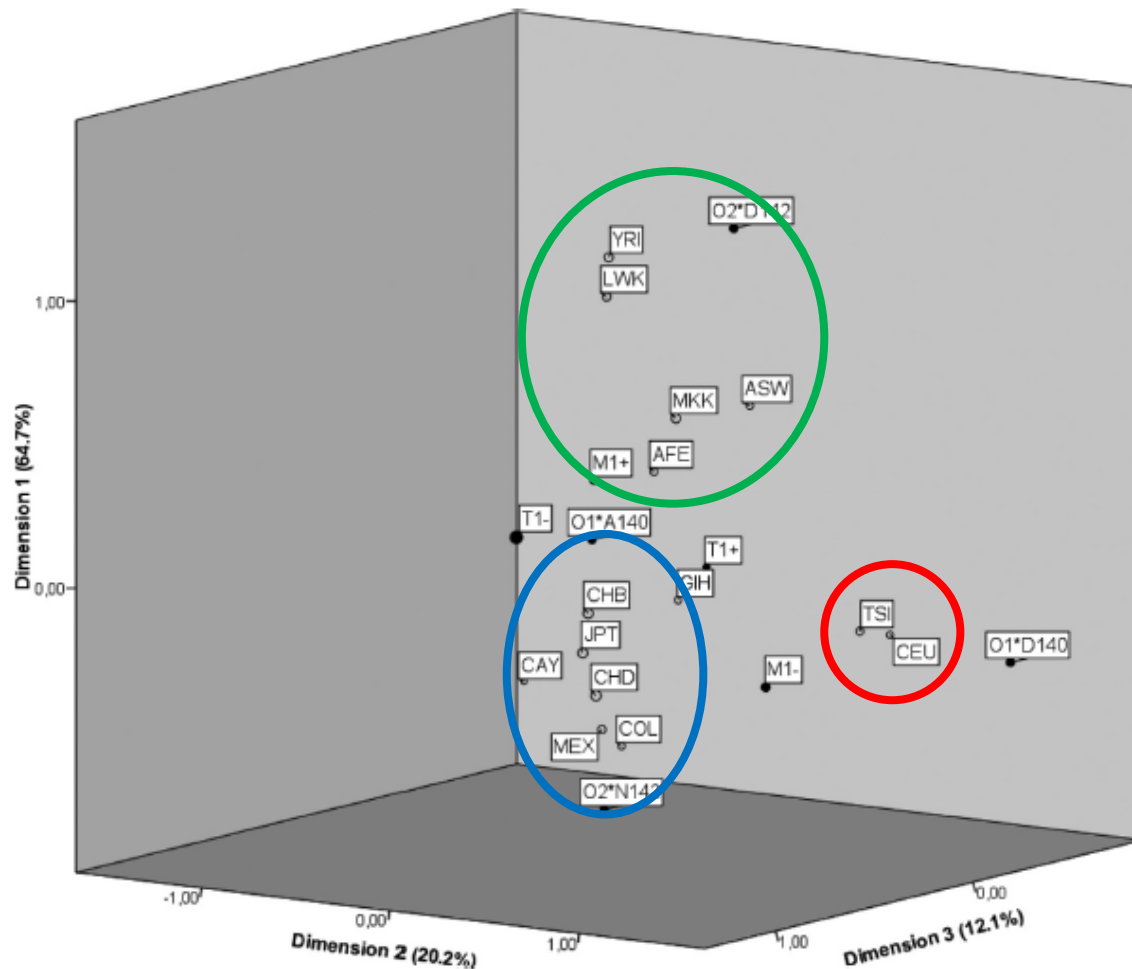


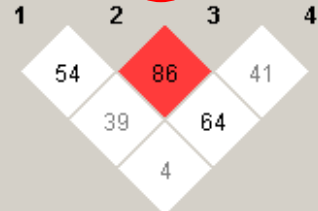
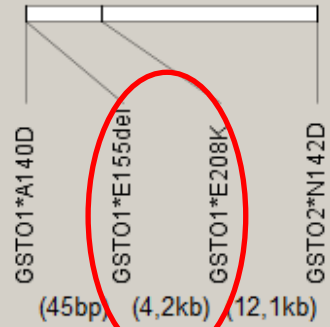
Glutathione S-transferase Omega class (GSTO) polymorphisms in a sample from Rome (Central Italy)



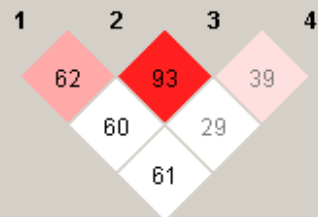


Human GST loci as markers of evolutionary forces: GSTO1*E155del and GSTO1*E208K polymorphisms may be under natural selection induced by environmental arsenic

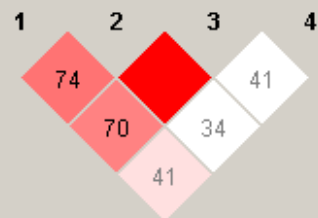




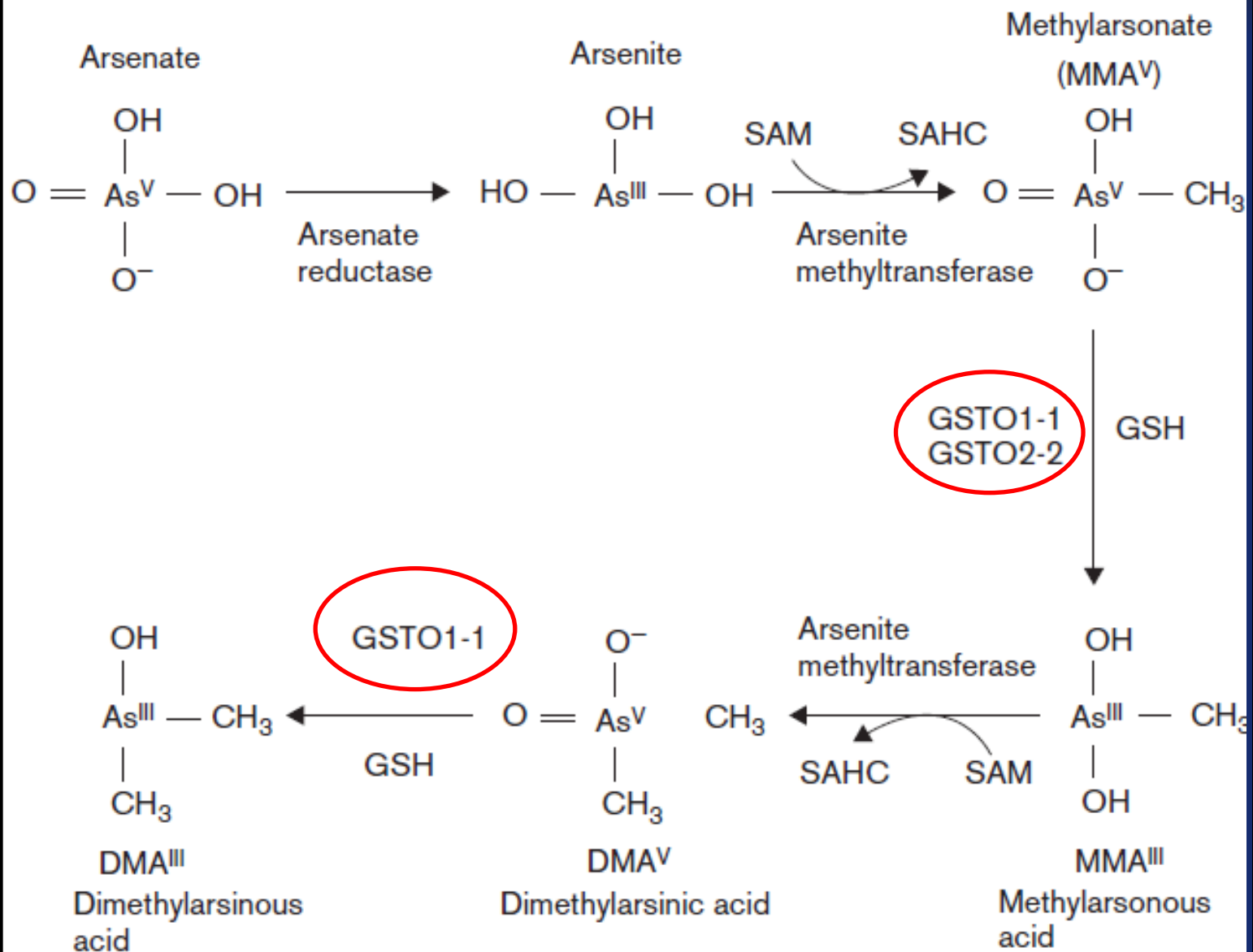
Afro-Ecuadorians



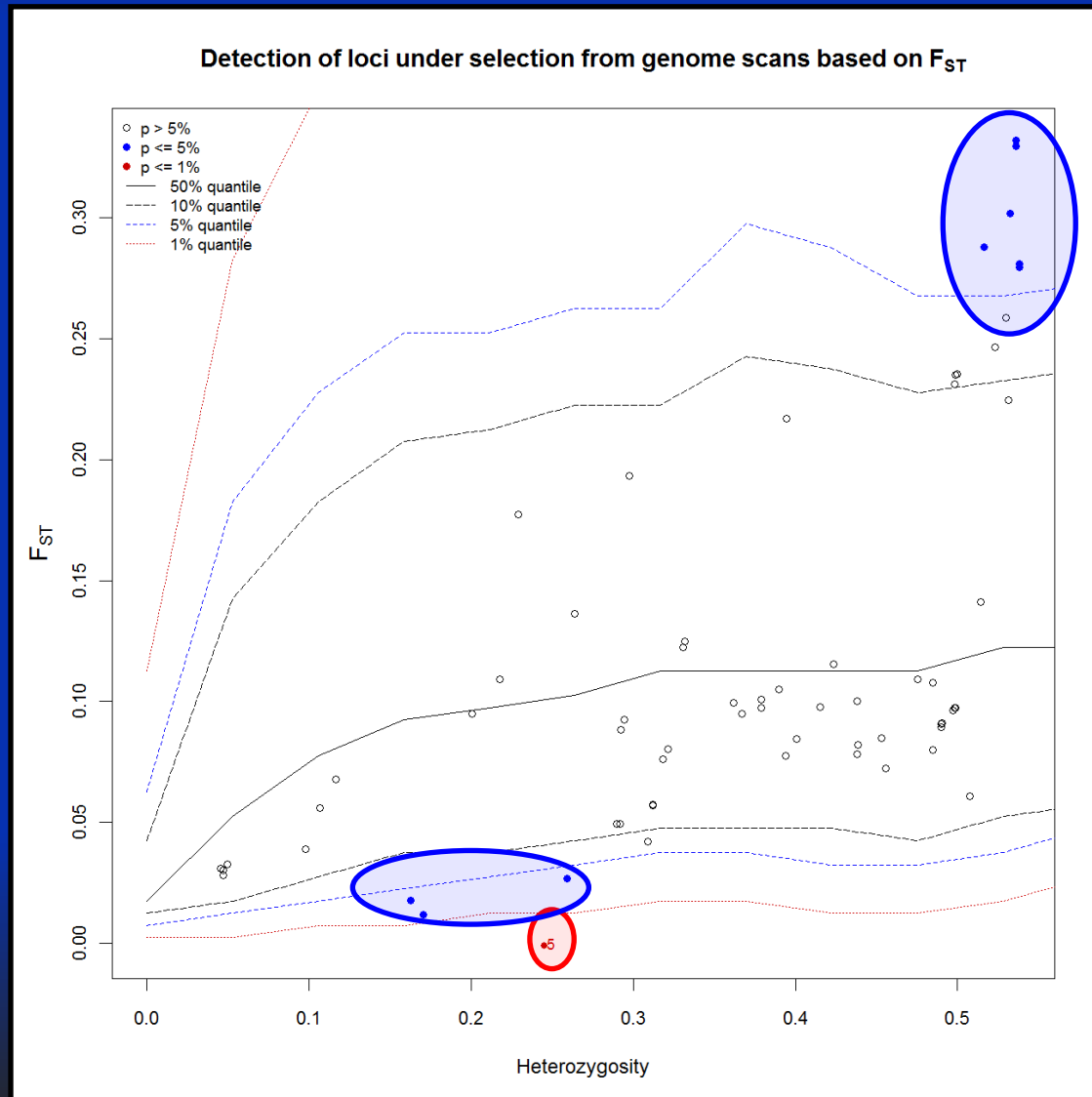
Cayapas



Colorados



HapMap-based study of human soluble glutathione S-transferase enzymes: the role of natural selection in shaping the single nucleotide polymorphism diversity of xenobiotic-metabolizing genes

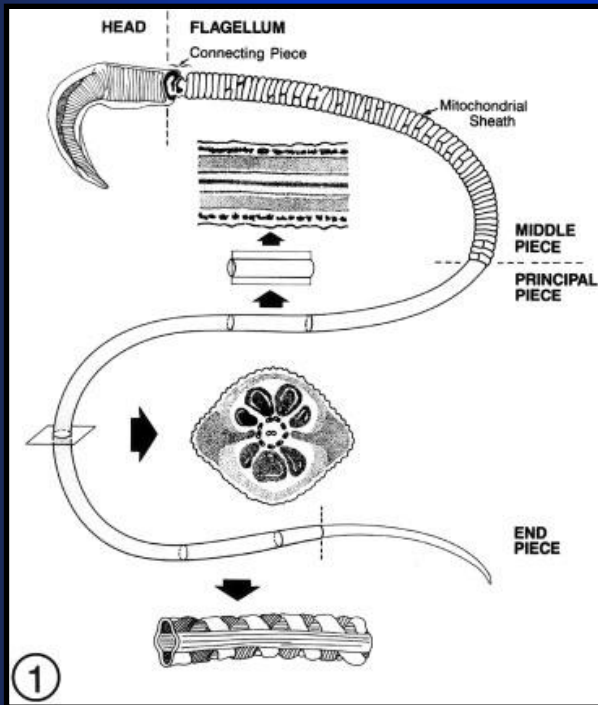


GST loci under selection

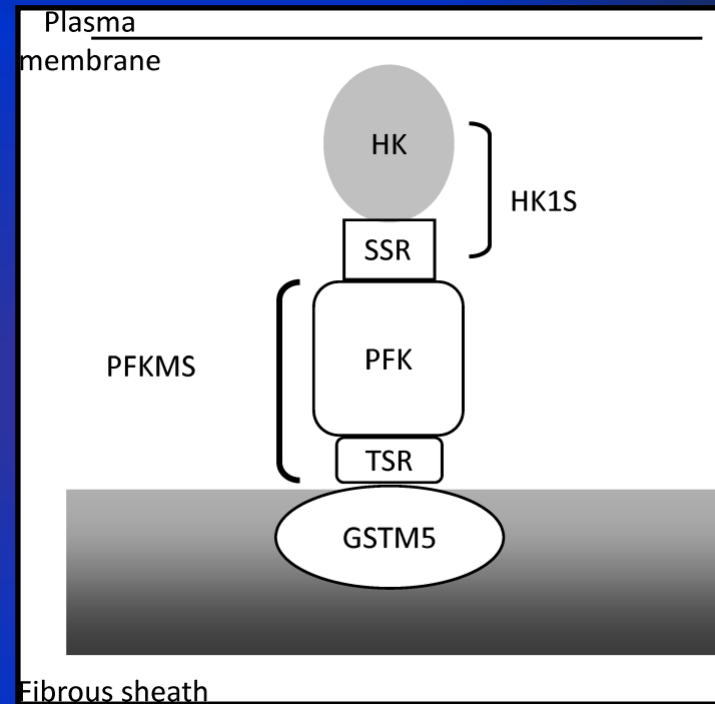
SNP ID	Gene	Location	Obs. Het.	Obs. F_{ST}	F_{ST} P-value	Obs. F_{CT}	F_{CT} P-value
rs2239892	GSTM1	Intron	0.170	0.012	0.013	0.008	0.015
rs929166	GSTM5	Intron	0.516	0.288	0.028	0.288	0.025
rs11807	GSTM5	3'UTR	0.245	0.001	0.002	0.004	0.004
rs3814309	GSTM3	3'UTR	0.536	0.329	0.020	0.334	0.016
rs7483	GSTM3	Val224Ile	0.536	0.332	0.019	0.337	0.016
rs1571858	GSTM3	intron	0.532	0.302	0.028	0.305	0.025
rs4715344	GSTA5	Intron	0.538	0.281	0.042	0.274	0.041
rs3734431	GSTA4	intron	0.163	0.018	0.027	0.272	0.043
rs3756980	GSTA4	intron	0.259	0.027	0.037	0.014	0.032

GSTM5

as spermatogenic cell-specific component

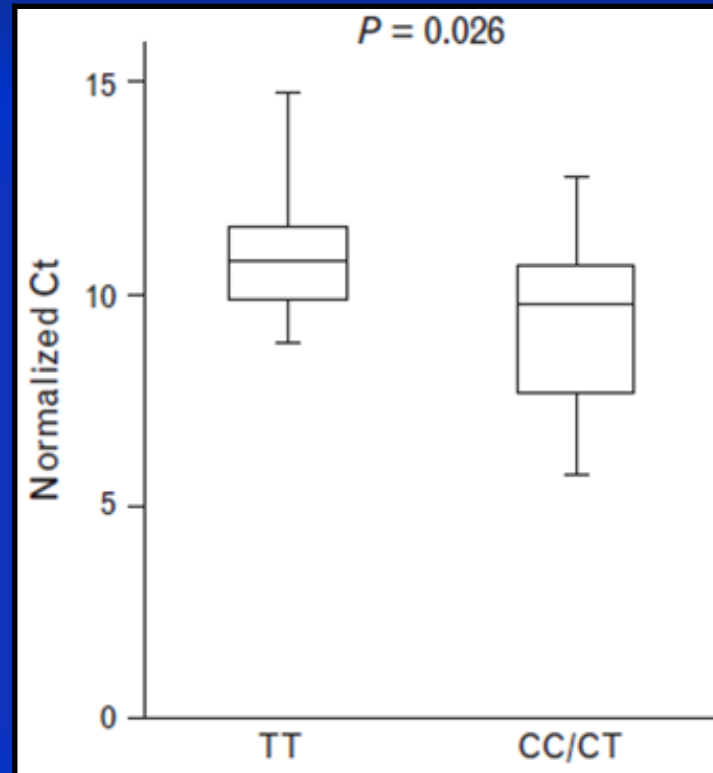


The general features of a mammalian sperm



HK1S, PFKMS, and GSTM5 complex in the fibrous sheath of sperm

rs11807 - GSTM5 mRNA expression



GSTM5 mRNA expression in specimens of 45 subjects

Variabilità genetica delle GST e patologie complesse

[GSTM1 null genotype as risk factor for late-onset Alzheimer's disease in Italian patients.](#)

Piacentini S, Polimanti R, Squitti R, Ventriglia M, Cassetta E, Vernieri F, Rossini PM, Manfredotto D, Fuciarelli M.

J Neurol Sci. 2012 Feb 28. [Epub ahead of print]

PMID: 22381228 [PubMed - as supplied by publisher]

[Related citations](#)

[Lack of Association Between Essential Hypertension and GSTO1 Uncommon Genetic Variants in Italian Patients.](#)

Polimanti R, Piacentini S, Lazzarin N, Re MA, Manfredotto D, Fuciarelli M.

Genet Test Mol Biomarkers. 2012 Jan 27. [Epub ahead of print]

PMID: 22283150 [PubMed - as supplied by publisher]

[Related citations](#)

[GSTO1*E155del polymorphism associated with increased risk for late-onset Alzheimer's disease: association hypothesis for an uncommon genetic variant.](#)

Piacentini S, Polimanti R, Squitti R, Mariani S, Migliore S, Vernieri F, Rossini PM, Manfredotto D, Fuciarelli M.

Neurosci Lett. 2012 Jan 11;506(2):203-7. Epub 2011 Nov 7.

PMID: 22100662 [PubMed - In process]

[Related citations](#)

[Functional polymorphisms of GSTA1 and GSTO2 genes associated with asthma in Italian children.](#)

Piacentini S, Verrotti A, Polimanti R, Giannini C, Saccucci P, Manfredotto D, Fuciarelli M.

Clin Chem Lab Med. 2011 Oct 31. [Epub ahead of print]

PMID: 22040239 [PubMed - as supplied by publisher]

[Related citations](#)

[Glutathione S-transferase variants as risk factor for essential hypertension in Italian patients.](#)

Polimanti R, Piacentini S, Lazzarin N, Re MA, Manfredotto D, Fuciarelli M.

Mol Cell Biochem. 2011 Nov;357(1-2):227-33. Epub 2011 Jun 9.

PMID: 21656129 [PubMed - Indexed for MEDLINE]

[Related citations](#)

[GSTA1, GSTO1 and GSTO2 gene polymorphisms in Italian asthma patients.](#)

Polimanti R, Piacentini S, Moscatelli B, Pellicciotti L, Manfredotto D, Fuciarelli M.

Clin Exp Pharmacol Physiol. 2010 Aug;37(8):870-2. Epub 2010 Mar 30.

PMID: 20374258 [PubMed - Indexed for MEDLINE]

[Related citations](#)

[Glutathione S-transferase gene polymorphisms and air pollution as interactive risk factors for asthma in a multicentre Italian field study: A preliminary study.](#)

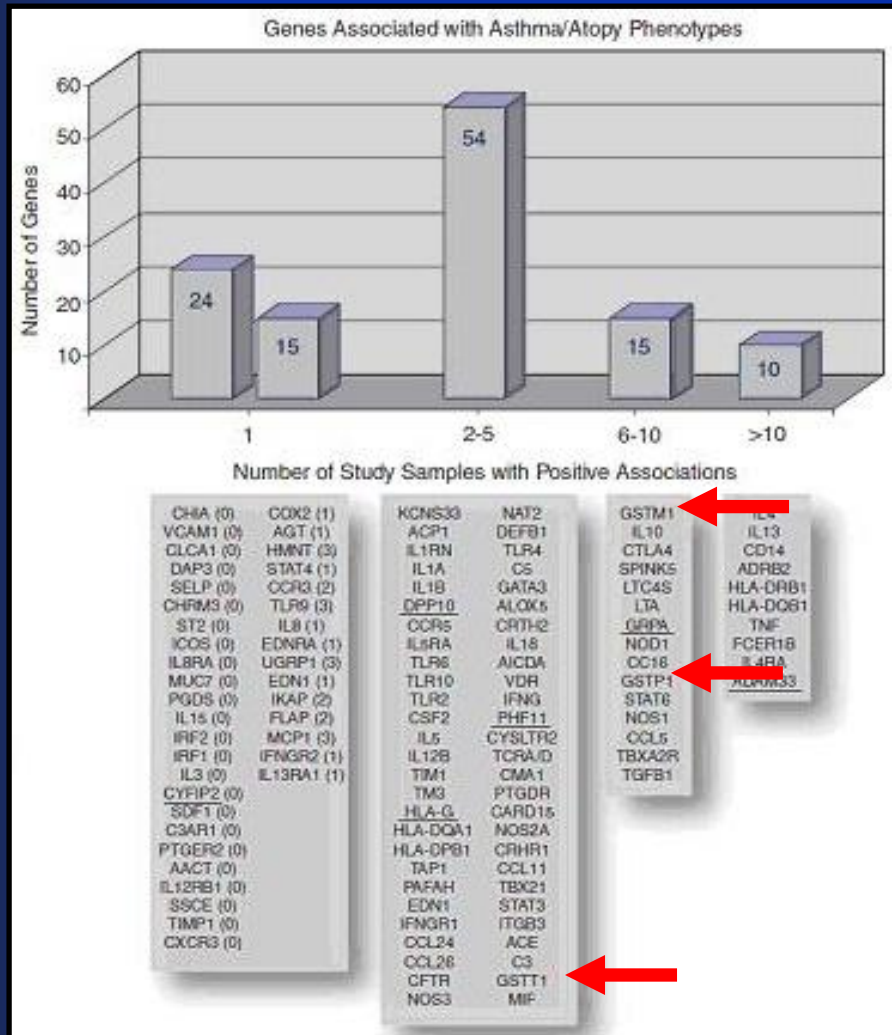
Piacentini S, Polimanti R, Moscatelli B, Re MA, Fuciarelli R, Manfredotto D, Fuciarelli M.

Ann Hum Biol. 2010 Jun;37(3):427-39.

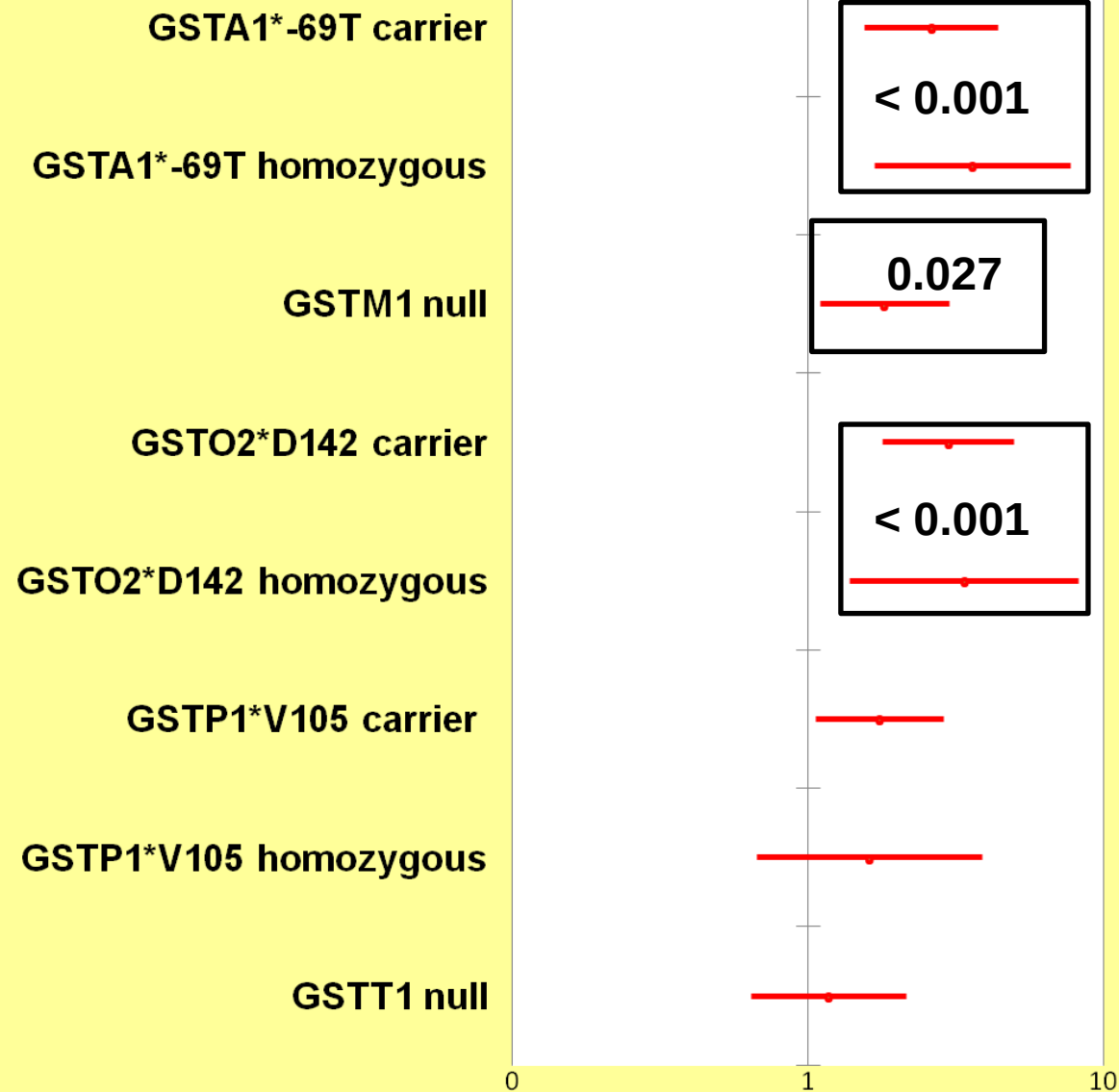
PMID: 20367187 [PubMed - Indexed for MEDLINE]

[Related citations](#)

Functional polymorphisms of *GSTA1* and *GSTO2* genes associated with asthma in Italian children



- 1) Geni associati con l'immunità innata
- 2) Geni associati con il differenziamento delle cellule TH2 e con la funzione effettrice
- 3) Geni associati con la biologia della mucosa e degli epiteli polmonari
- 4) Geni associati con la funzione polmonare e con il rimodellamento delle vie aeree

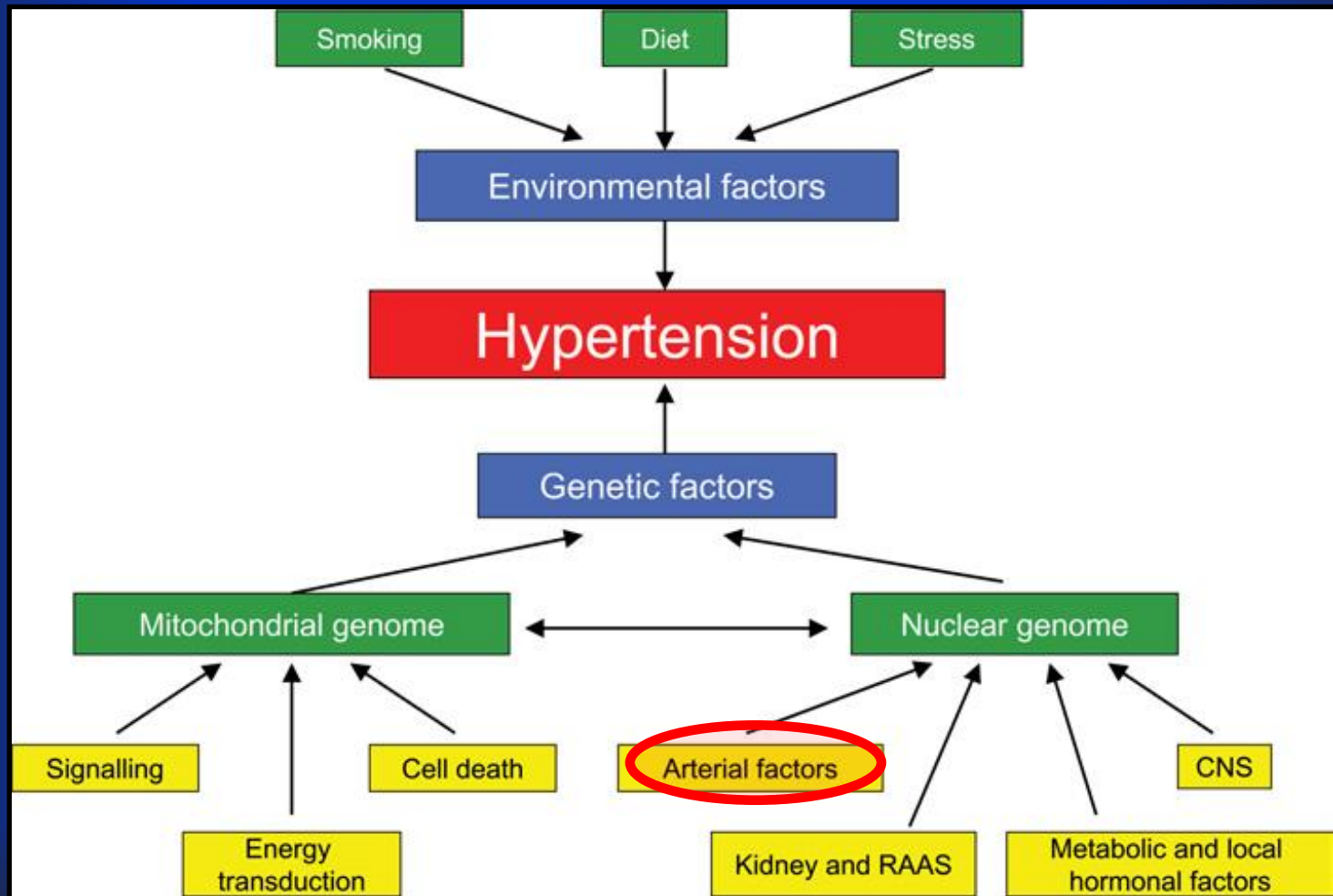


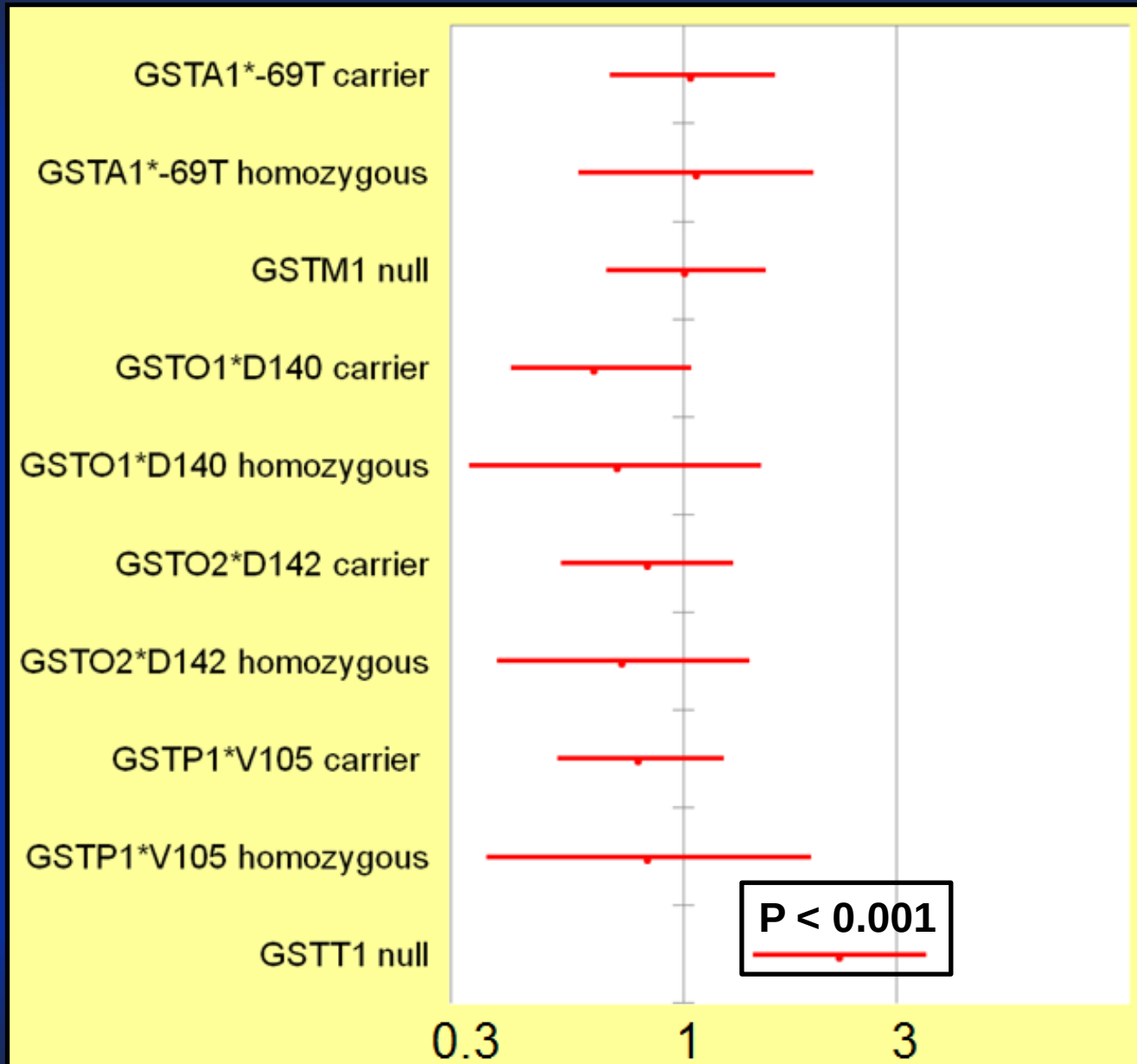
GSTA1 & GSTO2

L'enzima GSTA1-1 è implicato nella detossificazione dei composti derivati dagli Idrocarburi Policiclici Aromatici (IPA)

L'enzima GSTO2-2 presenta una forte attività deidroascorbato reduttasica che potrebbe avere un ruolo significativo nell'equilibrio tra le specie ossidanti e le specie antiossidanti presenti nel tessuto polmonare

Glutathione S-transferase variants as risk factor for essential hypertension in Italian patients





Sex-based analysis

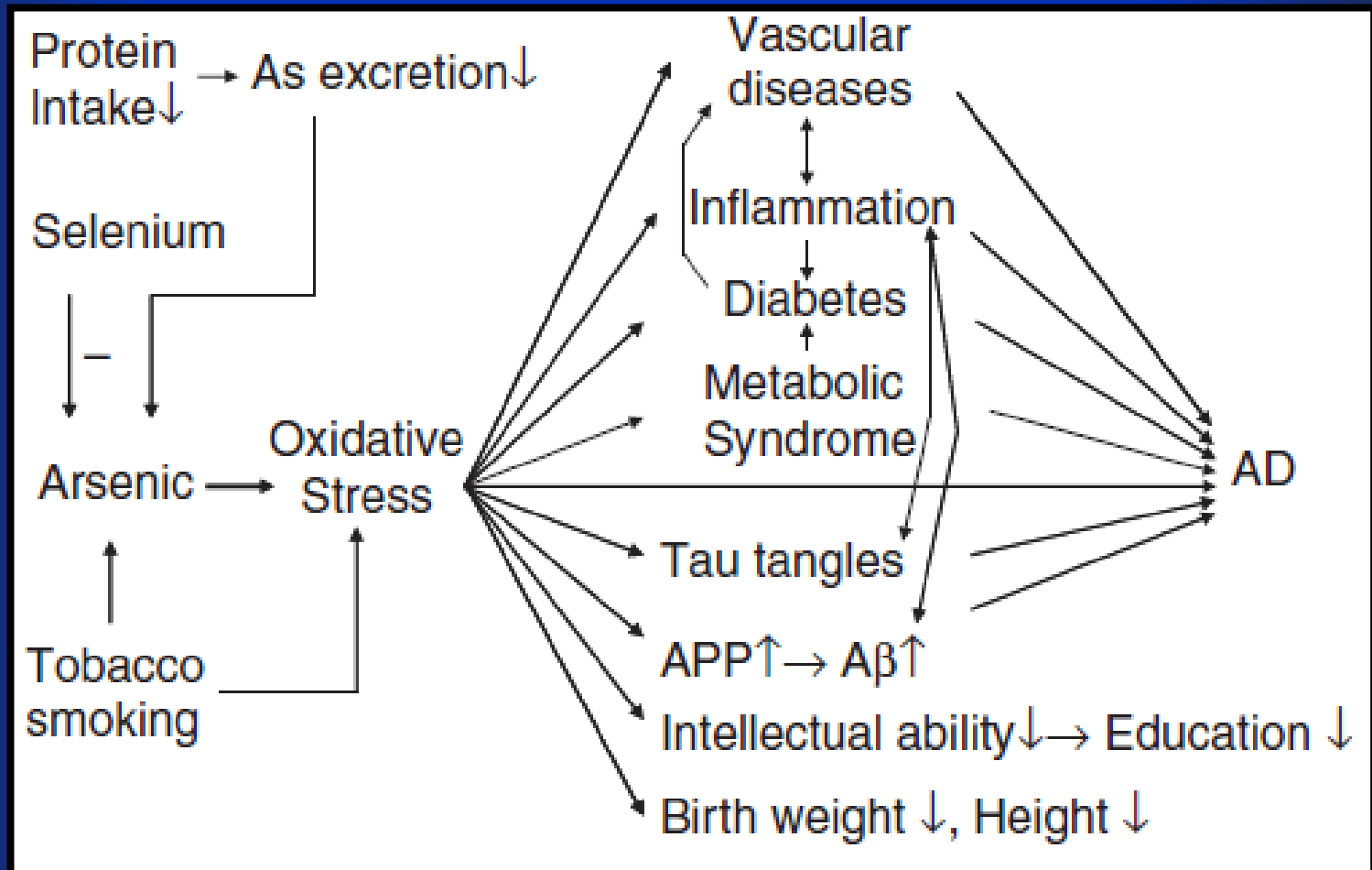
GSTT1 positive/null	OR	95%CI	P value
Whole sample	2.24	1.43–3.50	< 0.001
Men	1.66	0.74–3.74	> 0.050
Women	3.25	1.78–5.95	< 0.001

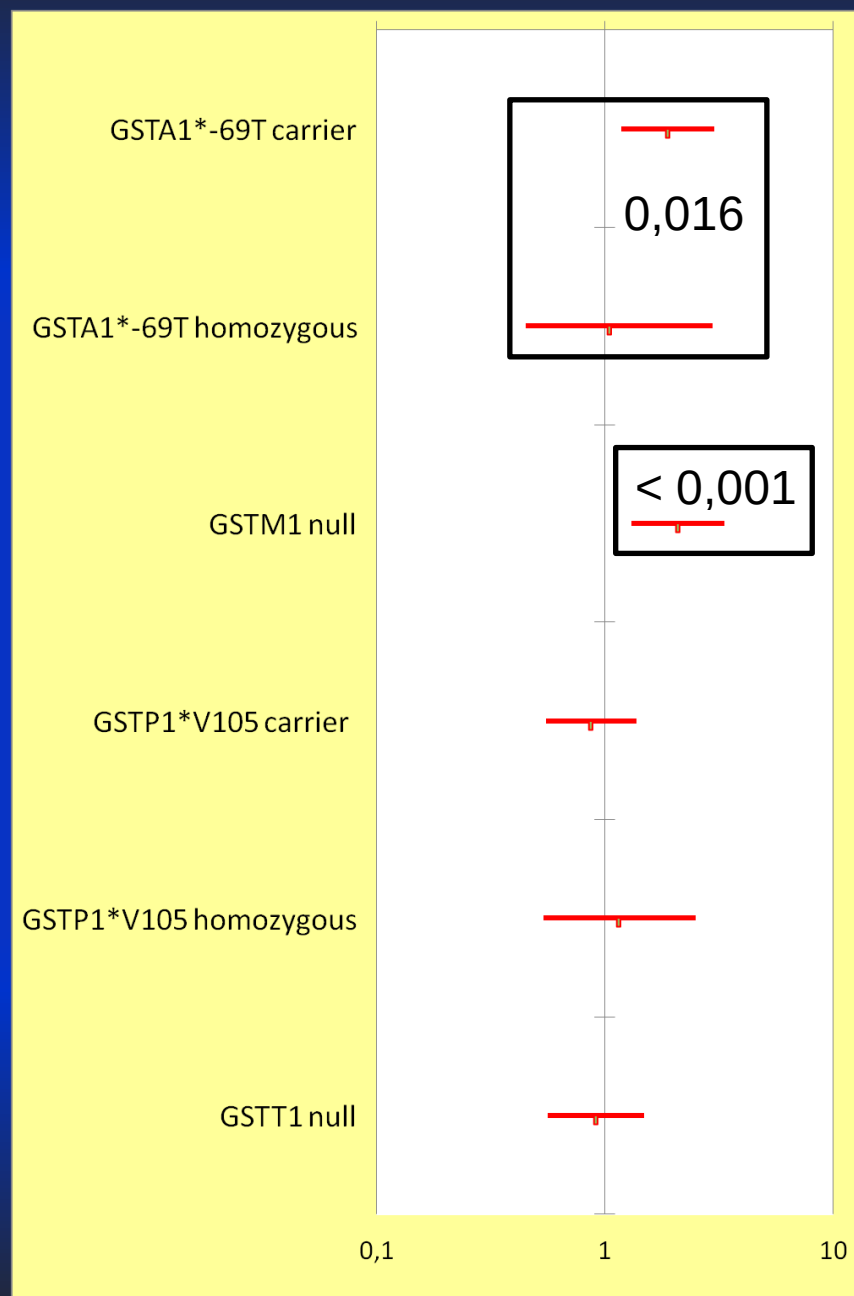
Ipotesi di associazione

Studi sulla patofisiologia dell'ipertensione arteriosa hanno dimostrato che esistono differenze significative tra i sessi

Il genotipo null del gene GSTT1 potrebbe interagire con fattori ambientali specifici per le donne (es. utilizzo farmaci anticoncezionali, menopausa)

GSTM1 null genotype as risk factor for late-onset Alzheimer's disease in Italian patients





Ipotesi di associazione

Il gene GSTM1 è stato associato in precedenza con il rischio di insorgenza di alcune patologie neurologiche, ma questo è il primo studio che associa questa variante genetica con la malattia di Alzheimer

Alcune funzioni dell'enzima GSTM1 supportano questa ipotesi di associazione genetica. Infatti questo enzima è implicato in alcuni processi cellulari legati alla risposta allo stress ossidativo, all'apoptosi e alla segnalazione cellulare

Conclusioni

Lo studio dell'interazione tra genetica e ambiente nel rischio di insorgenza delle patologie potrebbe permettere di comprendere alcune importanti differenze funzionali tra le popolazioni umane sia in termini di variabilità genetica che di aspetti culturali/ambientali