

IL RITMO DELLA VITA: L'IPERCICLO METABOLICO

Damiani Giuseppe¹, Panelli Simona², Della Franca Paola

¹ IDVGA-CNR, via Fratelli Cervi 93, 20090 Segrate, Milano

² Istituto di Patologia Generale Veterinaria, via Celoria 10, 20133, Milano
e-mail damiani@idvga.mi.cnr.it

Sommario. *I numerosi dati disponibili sui meccanismi di controllo delle diverse vie metaboliche sono consistenti con un modello, denominato "iperciclo metabolico", che utilizza le equazioni di Lotka-Volterra per descrivere l'alternanza ciclica tra una fase attiva di tipo prevalentemente entropico-catabolico, in cui l'organismo consuma energia per fare fronte a perturbazioni dei suoi equilibri, e una fase quiescente di tipo sintropico-anabolico, in cui l'organismo sintetizza i suoi componenti strutturali e cresce. L'iperciclo metabolico può essere utile per spiegare l'equilibrio tra i processi di crescita e decadimento non soltanto a livello delle molecole e delle cellule, ma anche a livello degli organismi complessi, delle popolazioni e degli ecosistemi. Sulla base del modello proposto l'evoluzione biologica non è prodotta soltanto dai processi casuali di mutazione e selezione diretti dall'ambiente ma anche dai processi "intelligenti" e "lamarckiani" di mutazione e selezione endogena che in situazioni stressanti permettono un rapido adattamento alle variazioni ambientali.*

Introduzione

Negli ultimi anni si è andata accumulando un'immensa quantità di informazioni bio-mediche, grazie soprattutto al progresso della biologia molecolare. L'elaborazione di modelli e teorie, che permettono una spiegazione sintetica dei dati accumulati, è quindi diventata indispensabile per cercare di capire i processi fondamentali che guidano lo sviluppo dei sistemi viventi. In accordo con la definizione pubblicata da Bauer nel 1935,

la biologia teorica dovrebbe cercare di individuare “*l'essenza della vita ... ossia le leggi dell'equilibrio instabile dei sistemi viventi*” da intendersi in senso di “*funzioni di base e comuni a tutti gli organismi*”.

La teoria di maggiore successo in campo biologico è sicuramente quella dell'evoluzione, enunciata nel 1859 da Darwin nell'Origine delle specie. Negli anni '40 i due principali filoni di ricerca delle scienze della vita, quello naturalistico e quello genetico sono stati fusi nella “Teoria sintetica neodarwiniana”. Secondo questa teoria l'evoluzione degli organismi viventi è il risultato di processi mutageni casuali dell'informazione genetica, contenuta nelle molecole di DNA, e della selezione naturale determinata dall'ambiente, che tende ad eliminare le mutazioni dannose o prive di significato adattativo. I processi mutageni agiscono a livello del DNA (genotipo) mentre quelli selettivi sono a livello dell'organismo (fenotipo) che è prodotto dall'espressione del genotipo. Per accordare la teoria sintetica alle recenti scoperte della genetica è stato elaborato il “Dogma centrale della biologia molecolare” secondo cui l'informazione passa dal genotipo al fenotipo lungo un flusso unidirezionale del tipo

DNA → RNA → proteine

Ne consegue che l'ambiente non può avere alcuna interazione diretta sui cambiamenti ereditari, come invece era stato suggerito da Lamarck all'inizio dello scorso secolo. Questo principio alla base della biologia moderna è stato enunciato chiaramente da Crick nel 1958 : “*Una volta che l'informazione è passata nella proteina non può uscirne fuori. In maggiori dettagli, il trasferimento dell'informazione da acido nucleico ad acido nucleico, oppure da acido nucleico a proteina è possibile, ma il trasferimento da proteina a proteina o da proteina ad acido nucleico è impossibile. Informazione qui vuol dire la precisa determinazione della sequenza, sia delle basi dell'acido nucleico che degli aminoacidi nella proteina.*”

La sintesi neodarwiniana ha avuto un enorme successo: quasi tutti i biologi sperimentali la utilizzano per interpretare i propri dati e la maggior parte dei biologi teorici è impegnata nella matematizzazione dei processi evolutivi previsti dalla teoria. Le questioni rimaste aperte e maggiormente dibattute sembrano riguardare i tempi e i modi dell'evoluzione, se questa sia stata un processo inevitabile o fortuito, graduale o discontinuo (Gould et al. 1977). Molti ricercatori sono d'accordo sul carattere contingente e imprevedibile dei processi biologici che li rende alquanto diversi dal rigido determinismo dei semplici sistemi descritti dalla fisica classica. Secondo Crick (1988) “*la biologia è perciò molto diversa dalla fisica. Le leggi di base della fisica*

possono generalmente essere descritte da precise equazioni matematiche, e sono probabilmente valide per l'intero universo. Al contrario le leggi della biologia sono spesso solo grossolane generalizzazioni poiché descrivono elaborati meccanismi chimici che la selezione naturale ha prodotto in miliardi di anni. Anche per Mayr (1999) *“nessun indirizzo della scienza dell'ultimo secolo prevalentemente fondato sul concetto di legge e sulla logica, si è rivelato adatto alla teoria dello sviluppo della biologia evuzionista”*.

Queste differenze tra fisica e biologia spiegano in parte perché la fisica teorica è una disciplina con una sua notevole dignità scientifica mentre ci si chiede se esista una biologia teorica e se possa uscire fuori qualcosa di utile dal “guazzabuglio” di proposte e modelli a volte in conflitto tra loro e poco chiari (Scannerini, 1994).

Una possibilità da non trascurare è che sia la fisica classica, sia la sintesi neodarwiniana siano teorie incomplete e parziali della realtà. Questa convinzione è rafforzata dalla scoperta di processi naturali che non sono spiegati da queste teorie, come i fenomeni quantistici della microfisica e i processi di auto-mutagenesi e auto-selezione degli organismi viventi. Non è quindi escluso che si possa elaborare una teoria unificata in cui siano comprese più a fondo sia la fisica che la biologia (Morchio, 1994).

Una visione unificante della fisica e della biologia è stata proposta nell'ambito della “Teoria binaria” (Damiani, 1984), elaborata a partire da una linea di ricerca sviluppata da Volterra (1935), da Fantappiè (1944), dai fratelli Arcidiacono (1975, 1991) e da altri fisici italiani come Caldirola e Recami. Nel 1942 Luigi Fantappiè proponeva una “Teoria unitaria del mondo fisico e biologico” basata sull'interpretazione della struttura matematica delle equazioni che rappresentano le principali leggi fisiche. Fantappiè aveva osservato che queste equazioni presentano due possibili classi di soluzioni che descrivono lo stesso fenomeno invertito rispetto al tempo: quella dei potenziali ritardati, che rappresentano onde divergenti a partire dalla sorgente che le ha generate, e quelle dei potenziali anticipati che rappresentano onde convergenti che confluiscono in un punto terminale. Queste due classi di soluzioni sono state messe in relazione rispettivamente ai processi entropici, di diffusione e di aumento del disordine, e a quelli opposti definiti “sintropici”, di concentrazione e di aumento dell'ordine. Fantappiè aveva giustamente identificato i processi entropici con quelli che avvengono nelle reazioni chimiche cataboliche di degradazione dei composti organici, come la respirazione, e quelli sintropici con quelli caratteristici delle reazioni chimiche anaboliche

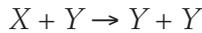
di sintesi, come la fotosintesi. Il maggiore difetto della teoria unitaria riguarda l'interpretazione quasi metafisica dei fenomeni sintropici. Secondo Fantappiè questi fenomeni distinguono la materia vivente da quella inanimata e hanno la caratteristica di essere irriproducibili e finalistici in quanto determinati da cause poste nel futuro. I recenti sviluppi della biochimica e della biologia molecolare hanno invece dimostrato che è possibile riprodurre in laboratorio molte reazioni anaboliche di sintesi di molecole organiche complesse.

Per risolvere questi problemi Salvatore e Giuseppe Arcidiacono (1975, 1991) hanno cercato di migliorare la teoria di Fantappiè sia chiarendo le relazioni fra la sintropia e la negentropia di Schrodinger e di Brillouin, sia facendo notare che in realtà non esistono fenomeni sintropici puri, ma che questi sono sempre associati a fenomeni entropici. Le reazioni sintropiche-anaboliche non sono quindi guidate da misteriose entalchie o forze vitali, ma dalla normale energia elettro-magnetica ricavata dai processi entropici-catabolici: *“L'organismo vivente, agisce in senso sintropico, o anti-entropico, nei processi di sintesi, ma questi sono resi possibili dalle reazioni di disintegrazione che avvengono con aumento di entropia. Si può concludere che si ha uno stretto legame tra i processi entropici e sintropici, tra loro accoppiati, e quindi tra ordine e disordine, in accordo con la nuova versione della teoria unitaria.”*. Nella teoria binaria (Damiani, 1984, 1997, 1998) vengono individuate nuove relazioni tra fisica e biologia e viene chiarita la natura dell'accoppiamento tra reazioni sintropiche ed entropiche a diversi livelli gerarchici.

L'iperciclo metabolico

Le simulazioni al computer hanno dimostrato che interazioni semplici possono produrre sistemi molto complessi (May, 1976); al contrario interazioni complesse possono portare alla formazione di strutture e comportamenti semplici (Sigmund 1993), (Kauffman 1993). Questo è particolarmente vero per sistemi che si trovano nel “punto critico” di transizione tra due fasi macroscopiche (Stanley 1995, 1996). Secondo la teoria binaria, una legge universale determina questo tipo di trasformazioni nell'universo reale: ogni transizione di fase, al suo punto critico, è caratterizzata da una distribuzione “frattale” (le diverse fasi sono mescolate in modo invariante rispetto a qualsiasi scala).

Un semplice automa cellulare può fornire un modello di questo processo e in particolare della transizione dall'ordine al disordine che è alla base del secondo principio della termodinamica. Un automa cellulare è un insieme di elementi (le celle) che possono interagire e cambiare il loro stato generazione dopo generazione (von Neumann, 1966). L'evoluzione di un automa cellulare dipende dalla configurazione iniziale delle celle e dalle regole per calcolare lo stato di ciascuna cella a ciascuna generazione (Wolfran, 1984). Una cella macroscopica bidimensionale è divisa in 2^z celle microscopiche bidimensionali. Solo due stati delle celle sono possibili: uno stato ricettivo (denominato X) ed uno attivo (denominato Y). Il sistema parte con una sola cella attiva che può indurre una cella adiacente ricettiva nello stato attivo secondo una reazione di dissociazione binaria:



In questo sistema il numero di celle attive crescerà in modo esponenziale a scapito del decadimento complementare del numero di celle ricettive. In accordo con le definizioni della teoria dell'informazione di Hartley e Shannon, il grado di complessità del sistema dopo n generazioni può essere misurato dall'entropia $S = n$ o dalla complementare informazione configurazionale, denominata anche negentropia, $I = z - n$ (Layzer, 1975). L'entropia è una misura del disordine del sistema, mentre l'informazione è una misura del suo ordine. Esse sono accoppiate da una semplice legge di conservazione

$$S + I = z$$

La negentropia I , o entropia negativa, può essere fatta corrispondere alla sintropia di Fantappiè e alla negentropia di Schrodinger e Brillouin. Ad ogni attivazione di una nuova cella attiva (dissociazione binaria) aumenta l'entropia del sistema e diminuisce la complementare informazione configurazionale o negentropia. Il sistema comincia in uno stato ordinato con un minimo di entropia ed un massimo di informazione, attraversa uno stato intermedio di caos frattale, e finisce in uno stato disordinato con un massimo di entropia ed un minimo di informazione. L'evoluzione del sistema è irreversibile in modo analogo al processo di diffusione di una sostanza in una regione delimitata: le molecole di una goccia di inchiostro, una volta diffuse in una certa quantità di acqua, non ritorneranno più

spontaneamente nella situazione di partenza.

Un automa cellulare più interessante viene generato quando le celle attive, oltre ad attivare delle celle ricettive, come nel modello precedente, possono essere ridotte allo stato recettivo



Questa seconda reazione di associazione binaria si oppone alla crescita delle celle attive e al complementare decadimento delle celle ricettive descritto dalla prima reazione.

In particolari condizioni, se i processi di dissociazione e di associazione si equivalgono, questo sistema può dare origine a dei cicli ripetuti di espansione e contrazione del numero di celle attive e del numero complementare di celle ricettive.

La relazione di retroazione tra i due opposti processi binari di crescita (dissociazione) e di decadimento (associazione) esponenziali e quindi “autocatalitici” può essere descritta da una semplice versione dell’equazione preda-predatore di Lotka e Volterra (1935):

$$dX / dt = X - XY$$

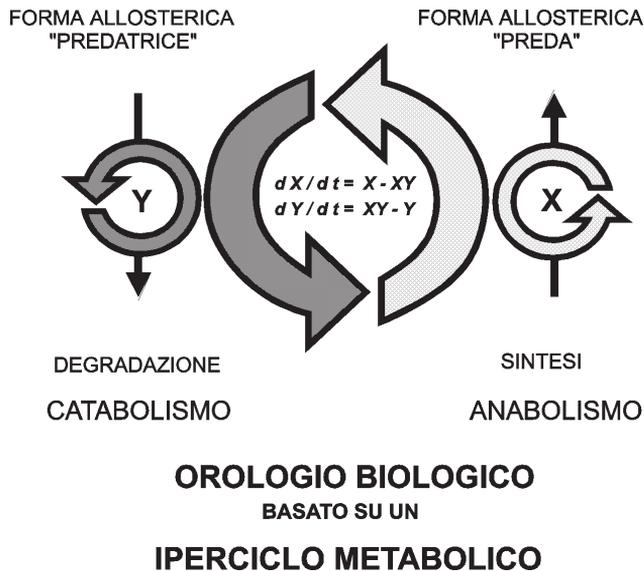
$$dY / dt = XY - Y$$

dove X è la popolazione della preda, con attività autocatalitica di crescita, Y è la popolazione del predatore, con attività autocatalitica di decadimento, e XY è il contributo dell’interazione della preda con il predatore. Le analogie tra il modello preda-predatore ed altri sistemi armonici oscillanti, come un pendolo non smorzato ed alcune particolari reazioni chimiche, sono state studiate estensivamente da Nicolis e Prigogine (1977). Molti altri modelli matematici più complessi possono comunque avere una dinamica variabile di tipo oscillante analoga a quella del modello di Lotka e Volterra (Beretta et al. 1986). L’importanza degli anelli autoregolativi e autocatalitici per l’evoluzione dei sistemi biochimici degli organismi viventi è stata analizzata da M. Eigen (1979) che li ha chiamati ipercicli. Perciò abbiamo proposto di chiamare “iperciclo metabolico” l’anello regolativo tra attività e strutture opposte di tipo catabolico (dissociazione binaria) e anabolico (associazione binaria) descritte dall’equazione di Lotka-Volterra.

Secondo questo modello i punti critici di equilibrio tra la fase catabolica

e quell'anabolica sono caratterizzati da distribuzioni caotico-frattali e da correlazioni a lungo raggio tra i differenti elementi del sistema. In questi punti critici, un sistema biologico è molto sensibile a piccole perturbazioni. Un piccolo impulso nel punto o nel momento critico può dirigere una transizione riproducibile del sistema verso uno stato definito. L'amplificazione controllata di questi eventi critici può essere uno strumento molto utile per controllare in modo sensibile, economico ed efficiente un sistema biochimico complesso (Skinner, 1994).

Forse, come sostiene Yates (1992), il concetto di equilibrio omeostatico andrebbe rimpiazzato da quello di equilibrio omeodinamico: *“Mi sembra che il mondo non lineare delle dinamiche caotiche e delle geometrie frattali giustifichi la sostituzione del termine omeostasi con quello di omeodinamica. Omeodinamica ha in sé la potenzialità per una comprensione più profonda di che cosa significhi per un sistema complesso essere stabile, e nello stesso tempo indica un comportamento molto ricco, incluse le possibilità di sviluppo degli individui e di evoluzione delle specie.”*



L'iperciclo metabolico potrebbe essere il principale meccanismo che determina l'evoluzione di tutti i sistemi fisici, sia organici sia inorganici.

Al livello macroscopico la diffusione dell'energia elettromagnetica è correlata alla contrazione gravitazionale della materia. Al livello atomico dei fenomeni quantistici gli andamenti macroscopici irreversibili possono essere parzialmente invertiti: ad esempio la degradazione dell'energia può essere temporaneamente arrestata mediante la formazione di un legame chimico. Le dinamiche evolutive dei sistemi biochimici sono il risultato della competizione tra forze elettromagnetiche repulsive e attrattive, tra reazioni cataboliche, degradanti energia e composti chimici, e reazioni anaboliche che aumentano la complessità e l'ordine configurazionale delle strutture viventi. Le reazioni oscillanti che caratterizzano i sistemi chimici dissipativi sono tipiche degli organismi viventi.

Le nostre cellule e il nostro corpo sono dei sistemi macroscopici irreversibili che nascono, crescono e decadono in modo irreversibile, mentre un apparato molecolare microscopico garantisce la trasmissione dell'informazione genetica da una generazione all'altra grazie al processo ciclico di replicazione del DNA. L'iperciclo metabolico potrebbe essere alla base dei meccanismi di controllo della fisiologia cellulare e individuale e dei numerosi orologi biologici che determinano l'esistenza dei bioritmi a diversi livelli di organizzazione.

La bioelettronica di Szent-Gyorgyi

Durante la fase catabolica i sistemi viventi consumano energia per fare fronte a perturbazioni dei loro equilibri, mentre nella fase anabolica si ricaricano di molecole energetiche, sintetizzano i componenti strutturali e riparano i danni prodotti durante la fase catabolica. Generalmente viene dato per scontato che i processi anabolici e catabolici avvengano simultaneamente in una cellula o in un organismo. Tuttavia, numerose evidenze teoriche e sperimentali dimostrano che la fase anabolica e quella catabolica devono essere necessariamente separate. Dal punto di vista bioenergetico le due diverse fasi metaboliche sono connesse chiaramente con due diversi stati redox ed un opposto gradiente di elettroni e protoni a livello delle membrane: ad esempio la fotosintesi è un processo di riduzione che produce un pH acido all'interno delle cellule (nei procarioti) o dei cloroplasti (negli eucarioti), mentre la respirazione è un processo di ossidazione che porta alla formazione di un pH basico all'interno delle cellule (nei procarioti) o dei mitocondri (negli eucarioti).

Queste osservazioni ci aiutano a capire come una separazione spaziale e temporale dei due diversi processi metabolici sia indispensabile per evitare interferenze distruttive ed ottenere un efficiente funzionamento delle reazioni biochimiche all'interno della cellula.

Le correlazioni tra processi catabolici ossidativi, processi anabolici riduttivi e fase attiva e quiescente del ciclo cellulare sono stati studiati dal biochimico ungherese Szent-Gyorgyi (1968, 1972). Mentre migliaia di biologi molecolari sono al lavoro per definire l'architettura molecolare delle strutture viventi seguendo il famoso suggerimento di F.Crick "*se non capite una funzione, studiate una struttura*", Szent-Gyorgyi ha seguito un approccio opposto ma complementare: partendo dalle funzioni vitali ha cercato di individuare le principali molecole che regolano i meccanismi energetici mediati dal passaggio di elettroni da molecole donatrici ad altre riceventi. I fenomeni di trasferimento elettronico sono alla base di tutte le reazioni chimiche di ossido-riduzione che avvengono negli organismi viventi. Sulla base sia di argomentazioni teoriche che di vaste esperienze di laboratorio, Szent-Gyorgyi ha scoperto che "*la cellula è ricca di molecole donatrici di elettroni ma povera di molecole riceventi*", perciò "*piccoli cambiamenti nella quantità delle molecole riceventi dovrebbero essere di fondamentale importanza per regolare lo stato fisico e l'attività delle cellule*".

In presenza all'interno delle cellule di sostanze ossidanti elettronegative che sono forti riceventi di elettroni, si formano spesso degli aggregati solidi di colore scuro con le molecole donatrici elettropositive.

Un aspetto fondamentale delle teorie di Szent-Gyorgyi è che sia le molecole di controllo, che le cellule ed anche l'intero organismo possono esistere in due stati : uno quiescente legato a processi di tipo riducente che possiamo definire anabolici in quanto legati alla fase di crescita, ed un altro attivato caratterizzato dal prevalere di processi di catabolici tipici della fase di decadimento. Le molecole riceventi, che sono fondamentali per il controllo delle attività cellulari, possono quindi esistere nello stato inattivo, in cui sono relativamente inerti, ed in uno attivo, in cui sono ossidanti e formano legami che portano alla formazione di aggregati. I due stati a livello molecolare sono connessi con due diversi stati, inattivo e attivo a livello cellulare. Szent-Gyorgyi afferma che "*una delle cose che mi ha più impressionato è il comportamento della cellula che quando si divide si comporta come una singola entità passando dallo stato quiescente a quello attivato*". E' noto che diverse proteine segnale chiamate fattori di crescita possono interagire con le proteine di superficie attivando la cellula nello

stato proliferativo. Una espressione sregolata dei geni che codificano per queste proteine può portare la cellula alla trasformazione tumorale. Ma anche la “pressione elettronica” dell’ambiente extracellulare contribuisce al controllo della crescita cellulare.

Secondo Szent-Gyorgyi il principale freno antiproliferativo è costituito dalla presenza di particolari molecole riceventi all’esterno della cellula, come ad esempio le cheto-aldeidi e in particolare il metilgliosale. Queste molecole elettronegative reagendo con i gruppi tiolici contribuiscono a mantenere le proteine di superficie in uno stato polarizzato. Grazie alla presenza di forze elettromagnetiche attrattive viene favorita l’aggregazione cellulare e viene inibita la replicazione. La trasformazione del metilgliosale in acido lattico e la conseguente presenza di un eccesso di molecole donatrici di elettroni sulla superficie cellulare esterna determina una “pressione elettronica” che porta alla depolarizzazione delle proteine esterne e alla produzione di forze elettromagnetiche repulsive tra le proteine di membrana e quindi anche tra le cellule. Questi eventi possono indurre o la proliferazione della cellula o la sua morte in un processo chiamato apoptosi. Diverse sostanze antiossidanti, come ad esempio la vitamina C e la vitamina E, stabilizzano l’equilibrio redox rinforzando l’azione antiproliferativa del metilgliosale (Lieber 1996).

Secondo questo schema un fattore epigenetico, e cioè l’equilibrio tra molecole donatrici elettropositive e riceventi elettronegative nell’ambiente extracellulare, può determinare la scelta della cellula tra stato differenziato quiescente e stato indifferenziato proliferante. Szent-Gyorgyi ha messo alla prova le sue speculazioni in diversi esperimenti. Somministrando una dose non tossica di metilgliosale a dei topi cui aveva precedentemente iniettato una quantità mortale di cellule tumorali ha ottenuto un’inibizione della mortalità con un’efficacia tanto maggiore quanto più rapida era stata la somministrazione di metilgliosale.

Benché le teorie di Szent-Gyorgyi siano praticamente cadute nel dimenticatoio l’enorme quantità di dati accumulati dai biologi molecolari e cellulari negli ultimi anni non sono in contrasto con lo scenario da lui ipotizzato ed anzi sembrano confermarlo. La presenza di fattori epigenetici nel processo di controllo della crescita cellulare è confermata da numerosi esperimenti. Ad esempio, iniettando cellule di teratocarcinoma maligno in animale adulto si induce la formazione di un tumore mortale mentre le stesse cellule iniettate in un embrione non creano problemi e si differenziano producendo normali tessuti differenziati. Cellule con lo stesso DNA

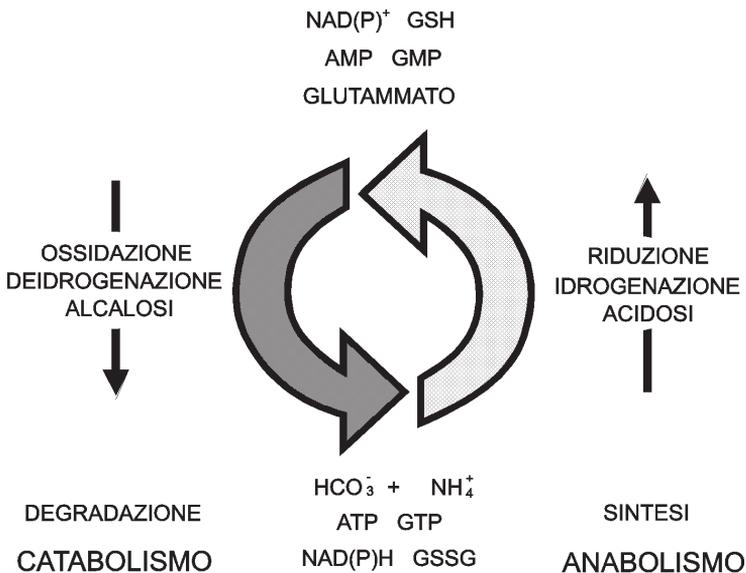
possono quindi prendere strade diverse a seconda dell'ambiente in cui si trovano: questo è proprio quello che succede nei processi differenziativi che portano da una cellula uovo ad un organismo adulto.

L'iperciclo metabolico a livello molecolare

I lavori di Szent-Gyorgyi suggeriscono che esiste una stretta relazione tra forze elettromagnetiche attrattive e repulsive tra molecole, tra reazioni chimiche ossidanti e riducenti e tra lo stato attivo o quiescente della cellula. Rimane da capire come possa avvenire il controllo dell'alternanza tra le due fasi opposte e complementari del metabolismo. Il principale meccanismo ipotizzato per spiegare l'omeostasi e la regolazione dei processi metabolici dei sistemi viventi è la semplice retroazione negativa: il prodotto di una reazione inibisce la sua sintesi regolando quindi la sua quantità. Questo meccanismo produce un equilibrio statico in cui i valori degli elementi in gioco rimangono costanti.

La dinamica dell'iperciclo metabolico suggerisce invece che i due diversi tipi di attività metaboliche a retroazione positiva tendono ad essere mutuamente esclusive, producendo dei ritmi oscillanti. Dato che l'esistenza dei bioritmi a diversi livelli di organizzazione è nota da anni, sembra incredibile che non si sia ancora compresa l'importanza dell'iperciclo metabolico nel controllo della fisiologia cellulare e individuale. Il modello dell'iperciclo metabolico è in accordo con il fatto che la regolazione di molti processi cellulari avviene per mezzo di due forme alternative di molecole biologiche come proteine, tRNA, mRNA e semplici metaboliti, come gli amminoacidi e i loro derivati. La forma anabolica, generalmente nello stato ridotto, ha la funzione della "preda". La forma catabolica "predatrice" reagisce con la forma anabolica degradandola e trasformandola in uno stato ossidato. Nella fase catabolica le molecole organiche complesse vengono degradate da processi di ossidazione-deidrogenazione in molecole semplici come il biossido di carbonio, con carica negativa, e l'ammoniaca, con carica positiva. Il biossido di carbonio, essendo volatile, si perde nell'ambiente esterno lasciando la cellula con un eccesso di ammoniaca e quindi con un pH alcalino. L'energia libera rilasciata dalle reazioni cataboliche viene utilizzata per produrre ATP e ridurre i trasportatori di elettroni come il NADH e il NADPH. Nella fase anabolica precursori semplici vengono assemblati dalle reazioni di riduzione-idrogenazione a formare molecole

complesse, come ad esempio gli amminoacidi glutammato e glutammina. Il glutammato con il suo gruppo carbossilico contribuisce a rendere acido il pH cellulare. Le reazioni anaboliche avvengono utilizzando l'energia derivata dall'idrolisi dell'ATP a ADP e dalla riduzione del NADH e NADPH a NAD^+ e NADP^+ .



IPERCICLO METABOLICO A LIVELLO MOLECOLARE

L'esistenza dell'iper ciclo metabolico spiega perché spesso un metabolita regolatore stimoli la sua stessa produzione, in un processo autocatalitico. Ad esempio il glutammato, il principale neurotrasmettitore attivatore del sistema nervoso centrale, depolarizza i neuroni provocando il rilascio di altro glutammato che può portare alla morte della cellula nervosa. Questo processo, denominato eccitotossicità, gioca un ruolo fondamentale nella progressione di numerose malattie neurodegenerative come la sclerosi laterale amiotrofica e il morbo di Alzheimer.

Tra le molecole regolative, oltre al glutammato e alla glutammina, sembrano essere particolarmente importanti gli amminoacidi glicina, fenilalanina e

triptofano e i loro prodotti. Queste molecole oltre ad essere importanti per la regolazione del metabolismo cellulare, sono anche i principali neurotrasmettitori e, come vedremo più avanti, l'alternanza delle forme cataboliche-eccitatorie ed anaboliche-inibitorie permette di ipotizzare un semplice modello dei cicli di attività e di riposo del sistema nervoso centrale.

Tra i casi di proteine che possiedono tutte le caratteristiche di un orologio biologico possiamo ricordare i famosi prioni, che avrebbero un ruolo importante nel determinare la morte della cellula nervosa. La resistenza alla degradazione della forma mutata nella patologia della mucca pazza accelera i battiti dell'orologio determinando una fine prematura del neurone rispetto ai tempi della situazione normale.

Esistono anche proteine che sono specifiche solo per una delle due fasi metaboliche. Queste proteine sono soprattutto enzimi che trasformano le molecole regolatrici. Un modo per classificare questi enzimi è di osservare quale trasportatore di elettroni usano come cofattore: il NADH è usato prevalentemente nelle ossidazioni cataboliche mentre il NADPH partecipa alle riduzioni anaboliche. Anche i geni possono essere classificati in anabolici e catabolici studiando le sequenze regolative che li differenziano.

L'iperciclo metabolico a livello cellulare

Se in una cellula si alternano due fasi allora dovremmo osservare andamenti ciclici dei suoi comportamenti metabolici. Infatti, sono stati descritti numerosi ritmi oscillatori nell'attività della cellula, che sono spesso connessi con il controllo del ciclo cellulare. Ad esempio, Dioguardi (1990) usando tecniche istochimiche ha messo in evidenza il comportamento oscillatorio degli epatociti, caratterizzato dall'alternarsi della migrazione di alcune proteine dal nucleo alla membrana esterna e da una successiva migrazione nella direzione opposta. Dioguardi ha ipotizzato l'esistenza di due stati metabolici alternativi nell'epatocita che ha denominato omeoresi e omopoiesi. Possiamo identificare l'omeoresi con una fase di tipo prevalentemente anabolico e l'omopoiesi con quella di tipo catabolico.

Dall'analisi di una enorme quantità di dati sulla fisiologia cellulare si può dedurre che questi due stati sono presenti in tutte le cellule, procariotiche ed eucariotiche, e sono collegati a due fasi opposte del comportamento

della cellula: quella quiescente anabolica, e quella attiva catabolica. Durante lo stato quiescente la cellula è nella fase del ciclo cellulare denominata G₀, si trova in condizioni ottimali, sintetizza i precursori per la sintesi delle macromolecole, ricarica le riserve energetiche, cioè sintetizza molecole che immagazzinano energia per tempi lunghi (come ad esempio i polisaccaridi, i lipidi, le proteine e gli acidi nucleici) e ripara i danni alle strutture cellulari. Durante lo stato attivo catabolico la cellula, si trova in condizioni ambientali sfavorevoli, è stressata, e perciò mette in atto una serie di risposte adattative alle condizioni di stress, sintetizza enzimi specializzati a svolgere specifiche funzioni, e utilizza le reazioni ossidative per degradare le macromolecole immagazzinando energia nell'ATP e nel NADH. I radicali liberi prodotti durante questi processi portano ad un progressivo accumulo dei danni alle strutture cellulari. Questi danni possono causare la morte della cellula per necrosi od apoptosi, oppure possono essere riparati e la cellula può entrare nella fase replicativa del ciclo cellulare.

Il controllo del passaggio dalla fase anabolica a quella catabolica e viceversa è determinato dall'interazione tra fattori genetici ed altri epigenetici. La cellula ha infatti sviluppato quello che Sarà (1996) chiama "il sistema sensitivo" per adattare e sincronizzare le sue attività alle variazioni delle condizioni ambientali. Generalmente la fase catabolica viene attivata in presenza di una perturbazione dei normali equilibri di una cellula quiescente. Ad esempio, l'attivazione della cellule del sistema immunitario è analoga ad altri fenomeni noti di attivazione dei processi catabolici di trasduzione dell'energia per attività che consentono l'adattamento della cellula e dell'organismo a situazioni di stress, come ad esempio l'heat shock.

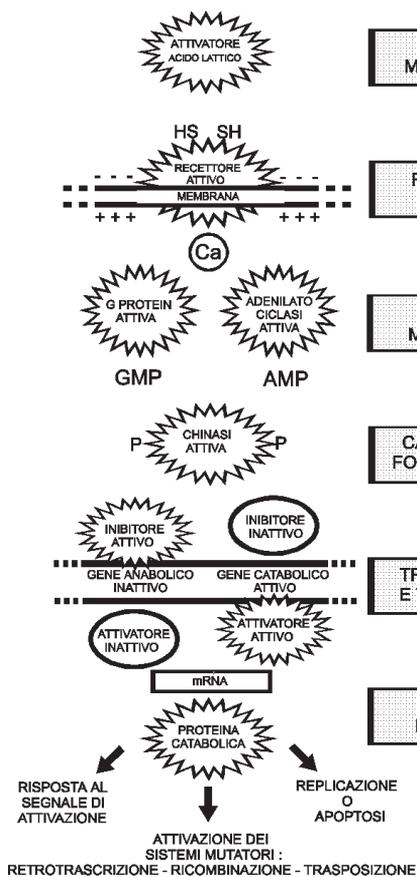
Queste osservazioni suggeriscono che sia nel differenziamento che nella trasformazione tumorale sia possibile individuare alcuni meccanismi comuni, pur tenendo presente la complessità e l'eterogeneità dei tipi cellulari. Il differenziamento ha generalmente come risultato la formazione di aggregati organizzati di cellule anaboliche quiescenti, la trasformazione tumorale porta alla diffusione disorganizzata di cellule cataboliche attivate. La soppressione delle attività di riparo dei danni alle strutture cellulari è infatti quasi sempre collegata allo sviluppo cellulare oncogeno e ha come risultato la produzione di gran numero di cellule tumorali con mutazioni nel DNA.

E' importante osservare che durante la fase catabolica non solo aumentano i danni al DNA, che possono produrre mutazioni se non vengono

CONDIZIONI STRESSANTI



CELLULA ATTIVATA



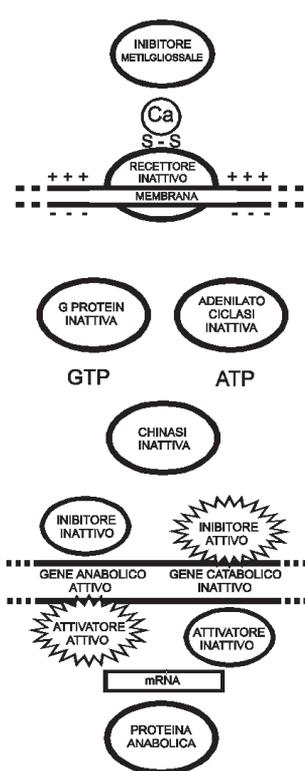
CATABOLISMO

CONSUMO DI ENERGIA
 REAZIONI OSSIDANTI
 ACCUMULO DEI DANNI

CONDIZIONI OTTIMALI



CELLULA RICETTIVA



ANABOLISMO

ACCUMULO DI ENERGIA
 REAZIONI RIDUCENTI
 RIPARAZIONE DEI DANNI

IPERCICLO METABOLICO A LIVELLO CELLULARE

riparati correttamente, ma vengono attivati diversi processi come la retrotrascrizione, la trasposizione e la ricombinazione che portano ad un aumento della variabilità genetica.

La risposta allo stress e le mutazioni adattative

Molti dati ormai indicano il ruolo “adattativo” dell’aumentata frequenza di mutazioni in risposta a vari tipi di stress, confermando così quanto intuito ormai più di cinquant’anni fa da Barbara McClintock (1984). La preadattatività delle mutazioni, secondo cui i processi di mutazione del DNA sono completamente indipendenti da influenze ambientali, venne dimostrata dal famoso test di fluttuazione di Luria e Delbruck. Da allora non si fecero più esperimenti in proposito, sino a pochi anni fa, quando Cairns e collaboratori (1989) pubblicarono un articolo sulle mutazioni adattative, ipotizzando che stress ambientali potessero aumentare le mutazioni utili per far fronte alla situazione stressante. Gli esperimenti di Cairns non sono risultati completamente convincenti mentre invece chiare evidenze di mutazioni adattative causate dalla mobilizzazione di trasposoni batterici sono state ottenute da Barry Hall (1999) in diversi sistemi sperimentali.

Numerosi dati sperimentali suggeriscono l’esistenza di un legame tra trasposizione e trascrizione, mettendolo in relazione alla diffusione di sequenze regolative comuni a geni che devono essere sottoposti a regolazione coordinata perché ad esempio coinvolti nella risposta ad uno stesso segnale ambientale. Nei procarioti, la maggior parte dei fenomeni di trasposizione è causata da trasposoni di DNA; negli eucarioti è invece molto più frequente la mobilizzazione di retroelementi come retrovirus, LINE (*Long Interspersed Element*) e SINE (*Short Interspersed Elements*).

Per lungo tempo gli elementi mobili sono stati considerati “DNA egoista” non avente alcuna funzione e mantenuti nel genoma esclusivamente in virtù della propria capacità di autoreplicarsi. Dati relativamente recenti dimostrano invece che esiste una stretta relazione tra risposta a cambiamenti nelle condizioni ambientali ed espressione di retroelementi. Cellule di diverse specie sottoposte a diversi tipi di stress (heat-shock, infezioni virali, presenza di inibitori della traduzione quali la cicloesimide) mostrano, accanto ad un generalizzato blocco della sintesi proteica, una aumentata e specifica trascrizione di RNA dei SINE (Liu et al. 1995).

Inoltre aumenta anche la quantità di mRNA che contengono degli elementi SINE all'estremità 3' non tradotta (3'UTR). Questi dati mettono in evidenza come la trascrizione dei SINE sia parte di una risposta allo stress altamente conservata nel corso dell'evoluzione, il cui significato è ancora poco noto. Una possibile funzione di trascritti SINE è di inibire la proteina chinasi PKR, che a sua volta fosforila, inibendolo, il fattore di inizio della traduzione eIF-2 (Chu et al. 1998). In questo modo i trascritti SINE potrebbero attivare la traduzione degli mRNA catabolici mentre quella degli mRNA anabolici viene bloccata in seguito alla risposta cellulare allo stress.

Abbiamo di recente prodotto alcuni dati che rafforzano l'ipotesi che i trasposoni giochino un ruolo importante nel controllo dell'espressione genica (Flavell et al. 1994). Studiando la distribuzione dei SINE nei genomi di alcune specie appartenenti all'ordine dei Bovidi ci siamo accorti del fatto che i retroelementi sono concentrati nel promotore, o negli introni, o all'estremità 3'UTR di geni "catabolici" attivamente trascritti in seguito a diversi segnali di attivazione (Damiani et al. 1999). E' molto interessante notare come tali geni abbiano tutti un importante significato nell'adattamento a mutate condizioni ambientali e codificano per fattori coinvolti nella risposta immune (citochine e loro recettori, molecole di adesione), nella comunicazione intercellulare (ormoni e recettori) e nella produzione di latte (prolattina, caseine).

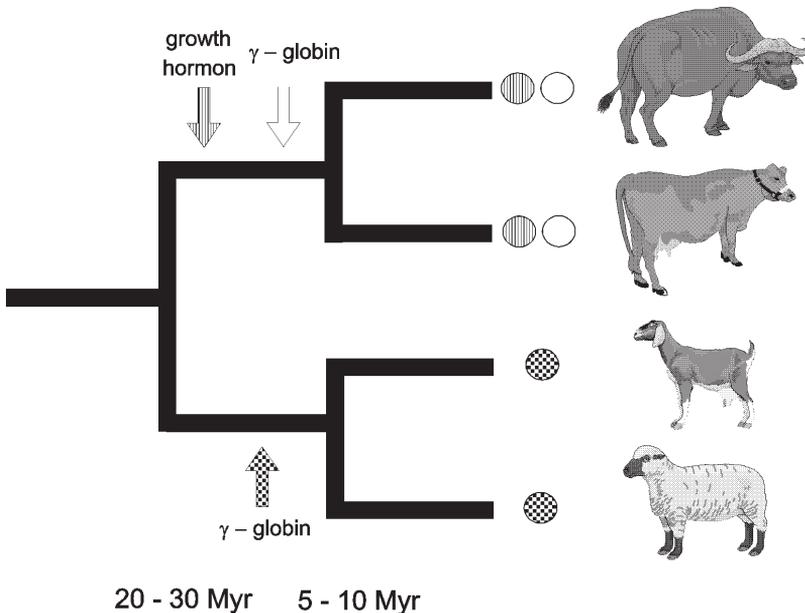
Probabilmente i retroelementi possono regolare alcuni meccanismi post-trascrizionali di controllo dell'espressione genica. Ad esempio nei SINE e nei LINE sono spesso presenti sequenze ripetute come quella $(AUUU)_n$ denominata AURE (*AU - Rich Element*) che si trova nei 3'UTR di messaggeri codificanti per citochine e fattori di crescita. Le sequenze AURE sono coinvolte nella destabilizzazione di tali messaggeri e la loro funzione è controllata dal legame con proteine denominate AUBP (*AURE Binding Proteins*), alcune delle quali funzionano da stabilizzatrici, altre da destabilizzatrici (Ross 1996). Vari tipi di segnali ambientali agiscono su diversi membri della famiglia delle AUBP, inducendo variazioni conformazionali che cambiano le loro proprietà di legame agli mRNA. In questo modo, attraverso l'azione di singole proteine, è possibile controllare la stabilità di molti messaggeri diversi e consentire risposte rapide e coordinate a cambiamenti nelle condizioni ambientali. Dato che numerose sequenze regolative come le AURE sono portate e diffuse da elementi mobili solo nei geni "catabolici" attivamente trascritti in risposta a diversi

tipi di stress ambientali, si potrebbe spiegare la distribuzione genomica particolare di alcuni retrotrasposoni grazie ad un flusso informativo del tipo

ambiente \rightarrow proteine \rightarrow mRNA \rightarrow cDNA \rightarrow DNA

A volte l'RNA può fungere direttamente da sensore delle variazioni ambientali, senza l'intervento di proteine (Storz 1999). Sulle funzioni di regolazione dell'RNA sappiamo ancora molto poco, anche se alcune conoscenze sugli RNA intronici (Mattick 1994) sembrano confermare l'ipotizzata importanza del "ribotipo" nel controllo dell'espressione genica e del metabolismo.

In seguito a segnali di stress le sequenze di RNA possono essere copiate in cDNA dall'enzima trascrittasi inversa, e inseriti nel genoma in siti particolari. In alcuni casi sono state individuate delle regolarità nelle sequenze dei siti di inserzione dimostrando che questi non sono sempre casuali. Ad esempio nella figura sono indicati due eventi indipendenti di integrazione di un SINE denominato BovA2 nella stessa regione del gene di una globina durante la filogenesi dei bovidi. Inoltre nella figura è riportata anche l'integrazione specie-specifica di un BovA2 nel promotore dell'ormone della crescita del progenitore dei bovini e dei bufali.



L'inserzione in una regione regolativa, seguita dall'excisione del trasposone, può portare ad una duplicazione della sequenza regolativa, rafforzandone quantitativamente la funzione. In questo modo si può produrre una sorta di adattamento genetico che conserva la memoria della risposta all'attivazione cellulare.

La trasposizione è solo uno dei meccanismi mutageni che vengono attivati nelle cellule stressate (Bridges 1995, 1997). Altri meccanismi sono la ricombinazione omologa recA dipendente seguita dalla conversione genica, riarrangiamenti programmati e processi di variazione delle sequenze microsatelliti (Rosenberg 1994, 1995), (Taddel et al. 1997), (Pennisi 1998), (Radman 1999). Tutti questi meccanismi sono coinvolti nella produzione di variazioni genetiche nei geni del sistema immunitario e in numerosi geni catabolici. Ad esempio Steele e collaboratori (Blanden et al. 1998) hanno ipotizzato che un complesso enzimatico, chiamato "mutatorsome", sia responsabile dei processi di ipermutazione somatica dei geni delle immunoglobuline, retrotrascrivendo e ricombinando il cDNA delle sequenze che codificano per il sito di legame agli anticorpi. Anche l'elevata velocità di mutazione dei retroelementi sembra essere prodotta da episodi di micro-ricombinazione con sequenze di cDNA seguiti dal processo di conversione genica (Kass et al. 1995) (Damiani et al. 2000, 2001). A differenza delle altre polimerasi, la trascrittasi inversa non ha un'attività di "correzione degli errori" e quindi produce un numero relativamente elevato di mutazioni puntiformi nel cDNA. In ogni caso la maggior parte delle mutazioni osservate in natura non sono sostituzioni di singole basi prodotte casualmente da agenti mutageni, ma sono soprattutto riarrangiamenti del DNA dovuti all'attivazione dei sistemi mutageni (Hall 1994). Inoltre in alcuni casi i retrovirus endogeni possono trasferire nella linea germinale le mutazioni prodotte dai sistemi mutageni endogeni nelle cellule somatiche (Rothenfluh et al. 1995). La funzione di questi meccanismi è di produrre nuova variabilità genetica in zone mirate del genoma, producendo una variazione, spesso solo quantitativa, dei caratteri fenotipici che possono permettere l'adattamento a variazioni delle condizioni ambientali (Lieber, 1998), (Foster 1993), (von Sternberg 1996).

La variabilità genetica prodotta dai sistemi mutageni viene spesso resa silente grazie alla metilazione (Jaenisch 1997). Ci sono evidenze che variazioni ambientali sono in grado di far esprimere questa variabilità, oltre che di indurre i processi ricombinativi. In *Drosophila* è stato dimostrato che alcune proteine heat-shock, come la hsp90, giocano un ruolo chiave

nel rendere in qualche modo ereditari i cambiamenti indotti dall'ambiente (Rutherford et al. 1998), in un processo denominato assimilazione genetica da Waddington (1975). Una possibilità da dimostrare è che le proteine heat-shock siano coinvolte in processi di selezione endogena dei gameti o degli embrioni in modo da velocizzare l'adattamento di una popolazione alle variazioni ambientali.

L'iperciclo metabolico e la fisiologia di un organismo complesso

L'evoluzione generalmente procede in modo cumulativo: la generazione di nuove strutture si sovrappone a quelle precedenti. Perciò i principali meccanismi regolativi presenti a livello cellulare sono stati mantenuti anche ai livelli successivi di organizzazione, anche se con una maggiore ridondanza e complessità. L'iperciclo metabolico può essere utile per spiegare l'equilibrio tra i processi di crescita e decadimento non soltanto a livello delle molecole e delle cellule, ma anche a livello degli organismi complessi. Il ruolo dell'equilibrio tra processi anabolici e catabolici nel determinare il funzionamento della cellula e dell'individuo, è dimostrato dai numerosi ritmi oscillatori tipici delle dinamiche fisiologiche. Diversi parametri fisiologici e biochimici rivelano oscillazioni di diverso periodo, spesso correlate ad eventi astronomici: esistono ritmi circadiani (sincronizzati sulla successione del giorno e della notte), settimanali (dipendenti dalle fasi lunari), mensili (correlati all'attività magnetica solare) e annuali (che dipendono dall'alternarsi delle stagioni). Anche il ciclo vitale di un organismo complesso può essere descritto da un singolo ciclo di variazione tra attività e strutture di tipo anabolico e catabolico. Durante questo ciclo, le componenti anaboliche aumentano, raggiungono un massimo nella fase riproduttiva e infine declinano. Nello stesso tempo, le componenti cataboliche aumentano continuamente sino a prevalere su quelle anaboliche determinando l'invecchiamento e la morte dell'organismo. Il controllo delle fasi anaboliche e cataboliche viene realizzato in modo integrato dai sistemi nervoso, endocrino ed immunitario.

Il pH dei liquidi extracellulari ha un ruolo importante nella regolazione dell'attività nervosa e quindi del nostro stato emotivo. A livello dell'organismo l'alcalinizzazione dei liquidi extracellulari induce un aumento dell'eccitabilità neuronale, mentre l'acidificazione ha un effetto opposto. Ricerche condotte a livello delle singole trasmissioni sinaptiche

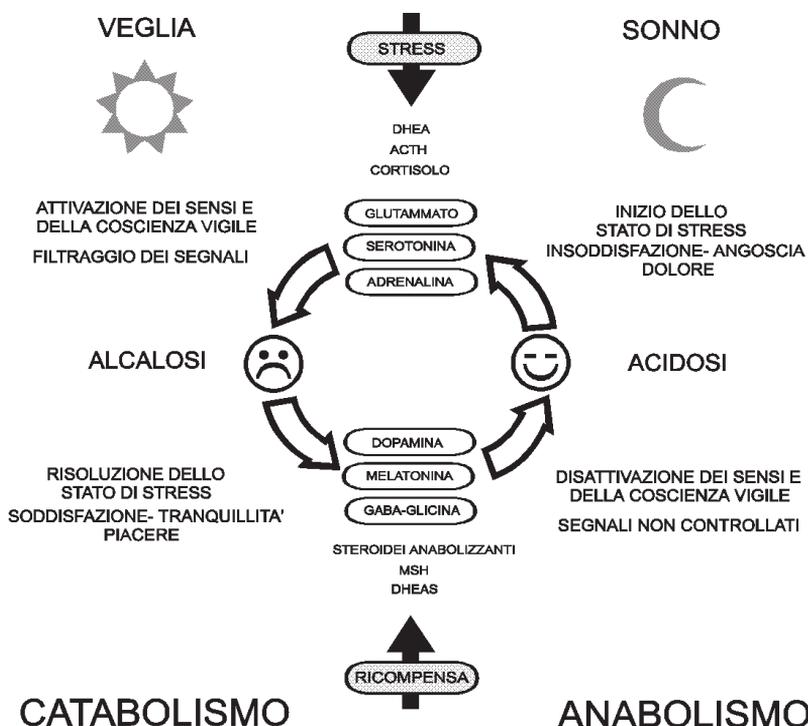
hanno dimostrato che variazioni di pochi decimi di unità di pH sono sufficienti per modulare l'attività di enzimi, canali e recettori presenti sulle membrane dei neuroni.

Il principale sistema tampone coinvolto nella regolazione del pH dei liquidi extracellulari è basato sull'equilibrio tra acido carbonico e bicarbonato che a sua volta dipende dalla concentrazione del biossido di carbonio. Respirando più in fretta si elimina una maggiore quantità di biossido di carbonio, diminuisce la concentrazione di acido carbonico e di ioni H^+ , aumenta il pH dei liquidi extracellulari (alcalosi) e aumenta l'eccitabilità neuronale. Un effetto dello stesso tipo è prodotto dalla diminuzione di biossido di carbonio causata dal rallentamento dell'attività metabolica (ad esempio in un clima caldo o durante il sonno). Al contrario una diminuzione della ventilazione polmonare o un aumento dell'attività metabolica (ad esempio in un clima freddo o durante una intensa attività muscolare) portano ad un aumento della concentrazione idrogenionica (acidosi) e ad una depressione dell'attività nervosa. Chiaramente la ventilazione polmonare e l'attività metabolica tendono a compensarsi a vicenda: respiriamo più in fretta durante un intensa attività muscolare e più lentamente durante il sonno. Quindi il sistema respiratorio può compensare in pochi minuti alterazioni dell'equilibrio acido-base dei liquidi extracellulari.

Un sistema più efficace ma anche più lento per la regolazione della concentrazione degli ioni idrogeno è costituito dai reni. Questi organi sono in grado di secernere gli H^+ nelle urine assieme al bicarbonato od in modo più efficiente mediante la reazione con l'ammoniaca che porta alla formazione della molecola neutra di cloruro d'ammonio. La maggior parte dell'ammoniaca necessaria per la rimozione degli idrogenioni deriva dalla glutammina che viene trasformata in glutammato.

Questo meccanismo di controllo contribuisce all'induzione della fase catabolica non solo contrastando l'aumento di acidità, ma anche grazie alla produzione di glutammato. Infatti questo amminoacido è il principale neurotrasmettitore attivatore del sistema nervoso centrale mentre il suo metabolita decarbossilato, denominato GABA e prodotto dall'enzima glutammato decarbossilasi, è il principale neurotrasmettitore inibitore.

Altri importanti neurotrasmettitori sono i metaboliti della fenilalanina e del triptofano. Questi amminoacidi sono particolarmente reattivi poiché dotati di anelli aromatici e derivano in modo alternativo dall'acido corismatico negli organismi in grado di sintetizzarli.



L' IPERCICLO METABOLICO NEL SISTEMA NERVOSO DEI MAMMIFERI

E' logico quindi aspettarsi che la fenilalanina, il triptofano e i loro metaboliti decarbossilati analoghi svolgano un ruolo opposto nel controllo dell'attività metabolica e nervosa. Infatti, la dopamina induce la fase anabolica, mentre la serotonina attiva quella catabolica. Al contrario i loro prodotti noradrenalina-adrenalina e melatonina inducono rispettivamente la fase catabolica e quella anabolica.

Dai centri del sistema nervoso centrale i segnali sono trasmessi direttamente ad una serie di organi mediante il sistema parasimpatico (fase anabolica) e il sistema ortosimpatico (fase catabolica). Un controllo indiretto è

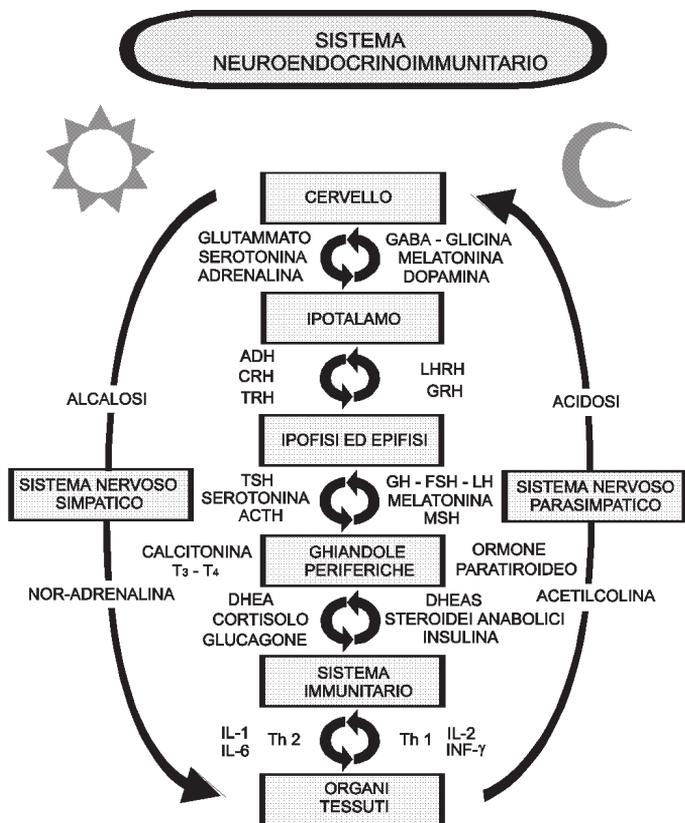
effettuato dall'asse ipotalamo-ipofisi-surrene mediante il rilascio di una serie di ormoni di tipo anabolico, come gli androgeni, e di tipo catabolico, come i glucocorticoidi. Il sistema nervoso e quello endocrino sono collegati al sistema immunitario, in cui possiamo distinguere due tipi opposti di attività a livello dell'immunità acquisita: la risposta di tipo cellulare (fase anabolica) e quella di tipo umorale (fase catabolica) controllate rispettivamente dalle popolazioni di linfociti T-helper 1 (Th1) e 2 (Th2). In condizioni non patologiche, la produzione ormonale del sistema nervoso e dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrene regola l'alternanza delle attività di tipo Th1 e Th2, in accordo con gli altri ritmi dell'organismo. In particolare, la produzione di deidroepiandrosterone solfato (DHEAs) promuove la risposta cellulare Th1 di tipo anabolico durante il riposo notturno, mentre i glicocorticoidi (come il cortisolo) promuovono la risposta umorale Th2 di tipo catabolico durante la veglia.

E'interessante notare che alcune cellule, come i neuroni che producono melatonina, le cellule delle ghiandole che producono ormoni anabolici e i linfociti Th1, sono nella loro fase attiva e quindi catabolica mentre il resto dell'organismo è prevalentemente nella fase opposta, quella anabolica. Quindi queste cellule devono aver imparato a reagire ai regolatori generali del metabolismo in modo opposto rispetto a quello delle altre cellule.

La coordinazione tra il sistema nervoso, quello endocrino e quello immunitario è tale che la distinzione tra neurotrasmettitori, ormoni e immunomodulatori è puramente convenzionale e dipende da cause storiche e soggettive. Tutte queste sostanze agiscono, infatti, sia sulle cellule del sistema immunitario che su quelle del sistema neuroendocrino.

Queste osservazioni indicano che negli organismi superiori un unico sistema integrato di controllo delle attività metaboliche, il sistema neuro endocrinoimmunitario, determina l'adattamento fisiologico a condizioni stressanti che è indispensabile per garantire la crescita e lo stato di salute dell'organismo (Bottaccioli, 1995).

Gli studi di Ottaviani e Franceschi (1997) suggeriscono che il sistema neuroendocrinoimmunitario sia presente, con vari livelli di complessità, in organismi che rappresentano diversi stadi evolutivi: le stesse molecole vengono usate per attivare i processi catabolici di trasduzione dell'energia, come la chemiotassi e la fagocitosi, in risposta a particolari stress.



CATABOLISMO

- ATTIVITA'
- CONDIZIONI STRESSANTI
- CONSUMO DI ENERGIA
- REAZIONI OSSIDANTI
- ACCUMULO DEI DANNI

ANABOLISMO

- RIPOSO
- CONDIZIONI OTTIMALI
- ACCUMULO DI ENERGIA
- REAZIONI RIDUCENTI
- RIPARAZIONE DEI DANNI

Le frecce che puntano verso il basso indicano attività di tipo catabolico e le frecce che puntano verso l'alto indicano attività di tipo anabolico

IPERCICLO METABOLICO A LIVELLO INDIVIDUALE NEI MAMMIFERI

Il codice metabolico e la selezione endogena

Gli enzimi che catalizzano le trasformazioni delle principali molecole regolative sono “marcati” da brevi sequenze amminoacidiche che differenziano gli enzimi “catabolici” da quelli “anabolici”. Ancora più interessante è che queste sequenze interagiscano con le proteine heat shock e siano anche a loro volta presenti in alcune proteine heat shock e in proteine del complesso maggiore di istocompatibilità (MHC). Ad esempio la sequenza FWYIPPSLRLED ha una carica negativa nella parte terminale ed è presente nella regione 506-518 della glutammato decarbossilasi 65 umana. Questa sequenza è molto conservata perché è presente anche nella glutammato decarbossilasi 67 umana e nei corrispondenti enzimi degli altri mammiferi. Inoltre sequenze analoghe sono presenti anche nella pro-insulina. Questa sequenza si lega alla sequenza QKRAA che ha una carica nettamente positiva ed è presente in hsp40 di *Escherichia coli* e in diverse proteine MHC. La sequenza QKRAA si lega all’hsp70 di *Escherichia coli* e alla corrispondente proteina eucariotica hsp73. Il legame tra hsp40 e hsp70 è essenziale per il loro funzionamento. La presenza di questa sequenza nella zona delle molecole MHC che si lega agli antigeni è spesso associata con la comparsa di gravi malattie autoimmuni, come l’artrite reumatoide e il diabete mellito insulino-dipendente. Il significato di tutte queste osservazioni può essere compreso ipotizzando l’esistenza di un “codice metabolico” a livello delle sequenze amminoacidiche che viene utilizzato per controllare l’equilibrio tra anabolismo e catabolismo dell’individuo e delle popolazioni. Il codice metabolico, basato sulle interazioni elettromagnetiche tra molecole biologiche, sarebbe alla base degli altri codici organici. Il significato funzionale di questo codice è stato parzialmente chiarito nel caso del gene DRB che codifica per una proteina MHC di classe seconda.

I geni MHC dei vertebrati si sono probabilmente evoluti da quelli delle proteine heat-shock e codificano per proteine di membrana molto polimorfiche, che giocano un ruolo chiave nel controllo della risposta immunitaria presentando peptidi antigenici ai linfociti T (Moss 1999). Nell’uomo sono noti centinaia di alleli diversi dei geni di classe I e II. Inoltre si trovano alleli simili in specie diverse. Per spiegare l’estesa somiglianza interspecifica degli alleli è stata proposta una teoria trans-specifica secondo cui i diversi alleli erano presenti nell’antenato comune dei mammiferi e sono stati conservati nelle diverse specie (Klein 1987).

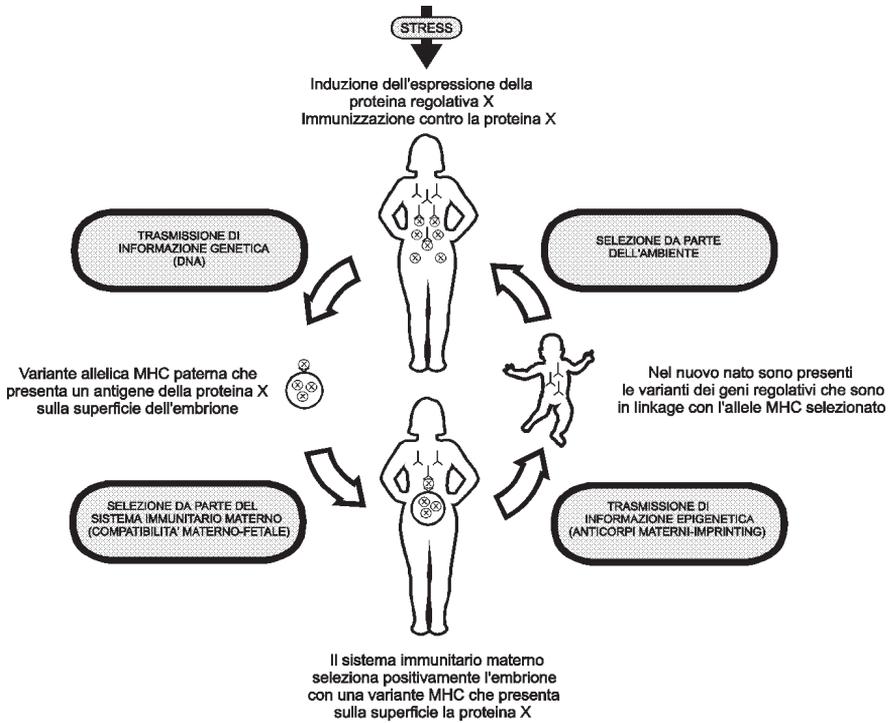
Un'ipotesi alternativa alla teoria trans-specifica è quella dell'evoluzione convergente, secondo la quale alleli di specie diverse potrebbero essere diventati simili perché sottoposti ad un elevato tasso di mutazione e ad una rapida selezione funzionale (Gustafsson et al. 1994).

L'analisi delle sequenze nucleotidiche e amminoacidiche delle centinaia di alleli più comuni dei geni DR indicano che la ricombinazione e una forte selezione funzionale sono responsabili dell'evoluzione convergente dei diversi alleli in diverse specie. Il confronto tra mutazioni sinonime e non sinonime e tra sequenze di diverse specie conferma un'origine indipendente delle sequenze umane e di quelle bovine (Andersson et al. 1991).

La presenza di sequenze "Chi" che favoriscono la ricombinazione omologa proprio all'inizio delle regioni variabili suggerisce che un meccanismo mutagenico analogo al "mutatorsome" sia responsabile della rapida evoluzione delle sequenze che codificano per il sito di legame agli antigeni.

Il numero impressionante di informazioni disponibili in campo umano sull'associazione tra malattie e polimorfismi MHC ha permesso di sviluppare una classificazione funzionale degli alleli DRB umani (Ou et al. 1998). Da questa classificazione si evince che esiste un'interessante relazione tra la carica della regione polimorfica del sito di legame agli antigeni, compresa tra l'amminoacido 70 e il 79, e la sua funzionalità. In particolare, alleli come il DR3, con la regione 70-79 carica positivamente, stimolano nell'uomo la risposta immunitaria umorale di tipo Th2, tipica della fase catabolica dell'organismo, mentre alleli carichi negativamente, come il DR2, stimolano la risposta cellulare di tipo Th1, tipica della fase anabolica.

La maggior parte dei peptidi presentati dalle molecole MHC sono frammenti conservati di proteine endogene espresse in presenza di particolari stress ambientali e implicate nella regolazione delle risposte metaboliche adattative. Diversi esperimenti indicano che per l'attecchimento dell'embrione sia necessaria una reazione dell'immunità cellulare materna contro le molecole presenti sulla superficie embrionale (Lappè 1997). L'esistenza di un meccanismo che elimina in media il 60% degli embrioni è stata dedotta da diverse evidenze e in particolare dai risultati degli esperimenti di trasferimento embrionale (Diamond 1992). L'associazione fisica tra un peptide di una proteina regolativa e un particolare allele dei geni MHC che lo presenta può determinare, grazie alla selezione materno-fetale, un cambiamento genetico ereditario associato



alla variante delle proteine MHC e dei peptidi selezionati. Nella regione MHC sono presenti numerosi geni la cui funzione è in gran parte ancora poco conosciuta. In alcuni casi questi geni come quelli codificanti per hsp70, CYP21 e la proteina RAGE sono implicati in processi che hanno un chiaro significato adattativo.

Lo scenario ipotizzato è stato confermato da un'analisi dei polimorfismi e delle frequenze dei diversi alleli dei geni DRB nel bovino e nell'uomo e dalla caratterizzazione di alcuni mRNA espressi in modo differenziale nei linfociti attivati (Damiani et al. 1998, 1999). Ad esempio nella razza bovina Frisone sono prevalenti alleli carichi positivamente, cioè catabolici, mentre nella Pezzata Rossa italiana troviamo una frequenza maggiore rispetto alle altre razze di alleli neutri o carichi negativamente, cioè intermedi e anabolici (Damiani et al. 1999). Questo dato trova una corrispondenza funzionale nelle diverse attitudini produttive delle due razze cosmopolite, essendo la Frisone intensamente selezionata per la produzione di latte, mentre la

Pezzata Rossa italiana è tipicamente una razza a duplice attitudine (carne e latte). Inoltre la distribuzione frattale dei diversi alleli nelle razze bovine analizzate dipende soprattutto dalla frequenza degli alleli nelle popolazioni e sembra indipendente dal regime di selezione scelto dall'uomo e dai recenti "colli di bottiglia" avvenuti durante i processi di formazione delle razze. Per chiarire il funzionamento del meccanismo ipotizzato prendiamo il caso della risposta adattativa a lunghi periodi di stress. In questi periodi una aumentata espressione del gene della CYP21 che porta ad un aumento della sintesi di cortisolo può determinare un adattamento fisiologico a livello dell'individuo. L'enzima CYP21 controlla la biforcazione della via metabolica che a partire dal colesterolo porta da una parte alla sintesi del cortisolo e dell'aldosterone e dall'altra alla sintesi di testosterone. In caso di ridotta attività dell'enzima la mancata inibizione da feed-back del cortisolo sulla sintesi di CRH e il conseguente accumulo di precursori degli ormoni steroidei, porta ad una maggiore produzione di testosterone. E' noto che alcuni peptidi della CYP21 sono presentati alle cellule del sistema immunitario dalle proteine MHC. Questi peptidi sono i principali autoantigeni nella forma idiopatica del morbo di Addison. Il sistema immunitario, sensibilizzato dall'aumentata espressione di CYP21 nei surreni, può favorire l'attecchimento di embrioni che esprimono gli alleli MHC che legano con maggiore efficacia i determinanti antigenici della CYP21. Dato che esistono diverse associazioni tra alleli MHC e varianti del gene per la CYP21 l'adattamento fisiologico può essere trasformato in un adattamento genetico in una sola generazione. In questo modo nella popolazione aumenta rapidamente il numero degli individui catabolici. Inoltre un'eccessiva stimolazione degli individui anabolici stressati della vecchia generazione porta alla loro eliminazione grazie allo sviluppo di diverse malattie autoimmuni, come la sindrome di Addison dovuta a ipofunzione corticosurrenalica, o anche alla comparsa di iperplasie e tumori, come quelli che portano alla sindrome di Cushing dipendente dalla presenza di un adenoma basofilo ipofisario con conseguente iperfunzione corticosurrenalica. Alla generazione successiva la selezione materno-fetale a favore dei catabolici non ha più effetto perché i peptidi della CYP21 vengono presentati già nei tessuti fetali e quindi riconosciuti come self. Inoltre a mano a mano che diminuisce la frequenza degli individui anabolici, questi hanno una maggiore probabilità di essere selezionati positivamente dalle numerose madri cataboliche. Grazie a questo meccanismo selettivo che dipende sia dalle variazioni

ambientali sia dalla frequenza degli alleli MHC nella popolazione si ottiene il fenomeno dell'assimilazione genetica, aumentando rapidamente la frequenza degli individui più adatti ai cambiamenti dell'ambiente, e allo stesso tempo si mantiene la diversità genetica della popolazione. Quando cesseranno gli eventi stressanti gli individui anabolici sopravvissuti potranno rapidamente aumentare di numero a scapito dei catabolici che però a loro volta verranno mantenuti nella popolazione. In questo modo il numero degli individui catabolici e anabolici può aumentare e diminuire in funzione delle variazioni ambientali come previsto dal modello dell'iperciclo metabolico.



IPERCICLO METABOLICO A LIVELLO DELLA POPOLAZIONE

Com'è noto nell'uomo la sindrome adrenogenitale, dovuta alla carenza dell'enzima CYP21, è associata all'aplotipo A3, Bw47, DR7 o all'aplotipo B14, DR1. Esiste quindi una più che ragionevole possibilità che il meccanismo ipotizzato sia un utile sistema per velocizzare e ottimizzare cambiamenti evolutivi ricorrenti e ciclici, anche se l'aumento della crescita di peli non viene considerato un piacevole evento adattativo dalle donne che sono affette da carenza di CYP21.

Di particolare interesse è la presenza nella regione MHC di numerosi retroelementi che costituiscono circa il 60% dell'intera regione. Gli aplotipi catabolici, oltre ad essere associati ad una maggiore suscettibilità alle infezioni virali, hanno anche una maggiore variabilità soprattutto nelle sequenze dei retroelementi. Sembra quindi che gli individui catabolici abbiano un maggior grado di plasticità genomica che può portare alla comparsa di gravi patologie ma garantisce anche una maggiore frequenza della comparsa di mutazioni potenzialmente utili.

Il sistema neuroendocrinoimmunitario, grazie ai meccanismi della selezione materno-fetale e alla produzione endogena di mutazioni prodotte dai sistemi mutatori, potrebbe controllare negli animali superiori non solo l'equilibrio tra processi anabolici e catabolici degli individui durante l'ontogenesi, ma anche quello delle popolazioni durante la filogenesi per mezzo dell'incompatibilità materno-fetale. Considerando che l'incompatibilità è presente anche nelle Angiosperme ed è determinata da geni poliallelici, i meccanismi ipotizzati potrebbero essere importanti per la sopravvivenza di tutti gli organismi superiori. I dati geologici e paleontologici indicano che le estinzioni hanno un andamento frattale (Solé et al. 1997), analogo alla distribuzione degli alleli dei geni MHC che presentano antigeni e delle popolazioni negli ecosistemi (Ritchie et al. 1999), (McMahon 1973, 1983). Lo sviluppo dei meccanismi evolutivi basati sull'incompatibilità potrebbe essere la conseguenza delle instabilità cicliche delle condizioni ambientali del nostro pianeta che si sono verificate con maggiore frequenza a partire dal Cretaceo.

L'evoluzione dell'intelligenza genetica anti-darwiniana

L'aumento della plasticità genetica, prodotto dai processi di retrotrascrizione, trasposizione e ricombinazione, rappresenta una risposta universale che procarioti ed eucarioti mettono in atto se sottoposti a vari tipi di stress

o segnali ambientali (Lieber 1998). Nei procarioti questo meccanismo è stato denominato risposta SOS. Allo stato attuale delle nostre conoscenze il significato adattativo e la portata di tale risposta ci sono noti solo parzialmente. Un numero sempre maggiore di risultati sperimentali sembra tuttavia indicare che meccanismi endogeni indotti da variazioni ambientali potrebbero essere in grado di riarrangiare rapidamente e “intelligentemente” le parti non codificanti del genoma (Thaler 1994) (von Sternberg 1996), come suggerito da Barbara McClintock: *“Ritengo che non ci siano ragioni per dubitare dell’esistenza di sistemi innati capaci di rimodellare un genoma. E’ ora necessario studiare tali sistemi e capire perché molti di essi sono quiescenti e rimangono in questo stato per lunghi periodi essendo attivati solo in seguito a diverse forme di stress, con conseguenze variabili a seconda del tipo di cambiamento che deve essere ottenuto”*.

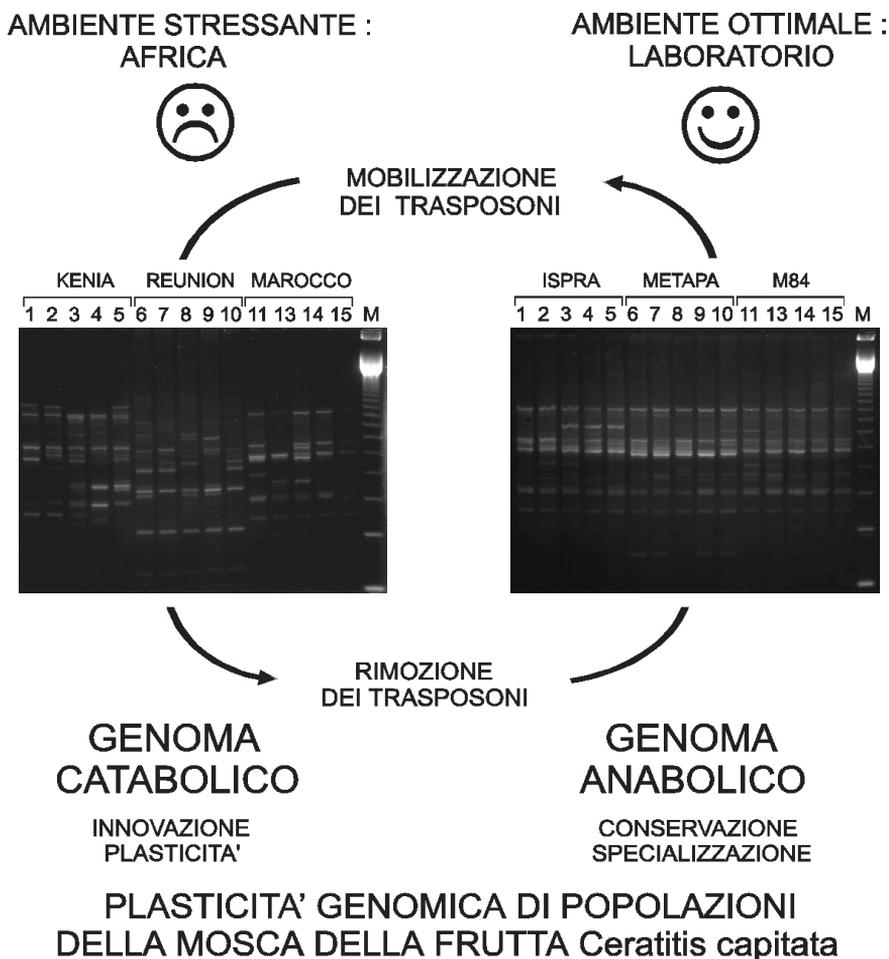
Dal punto di vista sperimentale è oggi possibile cercare di quantificare il ruolo dei processi di produzione della variabilità genetica nell’evoluzione delle popolazioni naturali e di laboratorio. Ad esempio, utilizzando diverse tecniche basate sulla PCR, abbiamo effettuato un’indagine comparativa del grado di diversità genetica intra-specifica in diverse popolazioni di animali, vegetali, e microorganismi. L’analisi RAPD (da Random Amplified Polymorphic DNA) generalmente ha messo in evidenza solo pochi polimorfismi tra individui della stessa specie nei vertebrati (e in particolare nei mammiferi) mentre in diversi casi è stato osservato un elevato grado di variabilità nei microorganismi, negli artropodi e in alcune piante.

Sono emerse alcune interessanti relazioni tra il grado di variabilità presente e il tipo di organismo, le sue dimensioni, la sua collocazione geografica e le variazioni climatiche stagionali (Baruffi et al. 1995) (Damiani et al. 1997). I dati suggeriscono che la variabilità genetica rilevata dall’analisi RAPD fornisce un’indicazione del grado di plasticità dei genomi esaminati. Quest’ipotesi è confermata dall’osservazione di variazioni nei RAPD fingerprint indotti sperimentalmente da cambiamenti ambientali, che non sono facilmente spiegabili solo sulla base dei normali processi di selezione e di deriva genetica.

Ad esempio nella figura sono riportati i polimorfismi RAPD ottenuti in cinque individui presi a caso di mosche della frutta *Ceratitis capitata* di tre popolazioni africane (a destra) e tre di laboratorio (a sinistra). I risultati sono stati ottenuti utilizzando il primer NP1 e il protocollo descritto in Baruffi et al. (1995). Le bande polimorfiche delle mosche africane non sono artefatti perché segregano in modo mendeliano nella F1. Quando le mosche

africane vengono cresciute in laboratorio perdono in poche generazioni i polimorfismi e diventano simili agli individui degli altri ceppi mantenuti in laboratorio (vedi Figura nella pagina successiva).

L'analisi di questi polimorfismi dimostra che sono prodotti soprattutto dalla mobilizzazione di elementi trasponibili e in parte da eventi di ricombinazione omologa RecA-dipendente o da variazioni a carico dei microsatelliti.



Negli animali superiori la maggior parte della variabilità genetica prodotta da questi processi è presente nei geni del sistema immunitario e nelle sequenze trasponibili, come gli elementi SINE e LINE, che sono localizzate preferenzialmente nei geni espressi in seguito a processi di attivazione cellulare.

In particolare sta diventando sempre più evidente il ruolo fondamentale svolto dai trasposoni e della metilazione nella regolazione dell'espressione genica, attraverso la diffusione di sequenze regolative comuni in introni, promotori e 3'UTR, il coinvolgimento in fenomeni di splicing alternativo e l'aumento della plasticità genomica, tramite fenomeni di ricombinazione e duplicazione genica. Si può quindi concludere che il genoma possiede la capacità di modificare in modo parzialmente programmato la propria sequenza in basi come adattamento a specifici stimoli ambientali attraverso l'intervento di meccanismi definiti da Shapiro come "ingegneria genetica naturale" (1997, 1999). Come scrive Eva Jablonka (1998, 1999), tali fenomeni costituiscono degli esempi di meccanismi "lamarckiani".

I meccanismi epigenetici e i riarrangiamenti parzialmente programmati del genoma potrebbero essere una forma di adattamento genetico in risposta a cambiamenti improvvisi delle condizioni ambientali (Foster 1993) (Rosche et al. 1999) (Lebel 1993). Se la variazione ambientale è ciclica e la sua durata è molto maggiore del tempo di generazione, un riarrangiamento programmato e reversibile del DNA può essere un meccanismo di regolazione dell'espressione genica più economico di quelli consueti basati sulla produzione di proteine regolatrici. Regolando il determinismo del riarrangiamento è possibile aumentare la variabilità fenotipica di un carattere anche se a prezzo di una certa quantità di "mutagenesi" potenzialmente dannosa. Inoltre meccanismi di selezione endogena in funzione della frequenza di determinate varianti alleliche nella popolazione possono consentire di mantenere una quota di biodiversità necessaria per far fronte a rapide variazioni ambientali.

La risposta a cambiamenti inaspettati può consistere in particolari adattamenti dei processi catabolici, nell'acquisizione di meccanismi per la generazione, parzialmente programmata, di diversità genetica e nella produzione di una progenie numerosa di piccola taglia e con ridotta longevità (strategia di riproduzione r). In seguito all'aumento di dimensioni e allo sviluppo di adattamenti fisiologici, gli organismi diventano più indipendenti dagli stress ambientali. Le migliori possibilità di sopravvivenza individuale e l'allungamento dei tempi di sviluppo ontogenetico portano ad

organismi caratterizzati da un metabolismo spostato verso la fase anabolica, da una maggiore stabilità genetica e dalla produzione di una progenie di numero limitato di grossa taglia e con una maggiore longevità (strategia di riproduzione k) (Gould 1977).

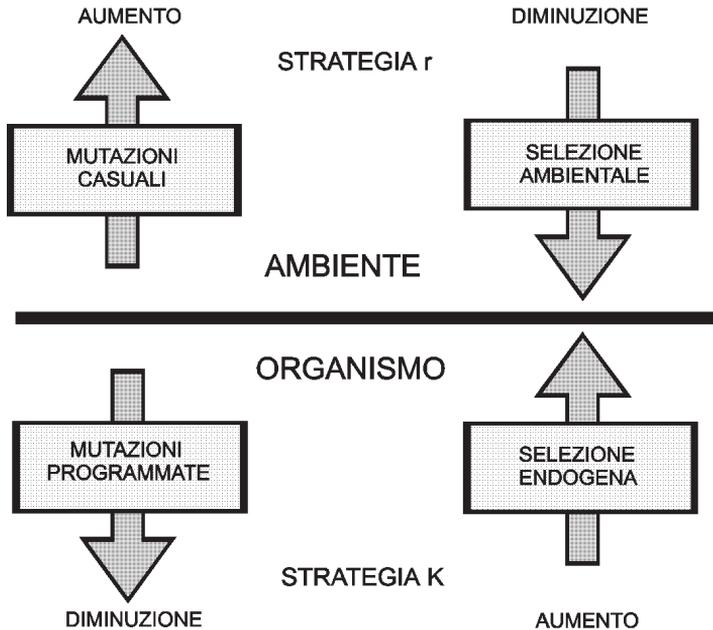
Quindi il grado di adattamento metabolico e di plasticità genomica potrebbe essere correlato con la strategie riproduttive e di sopravvivenza degli organismi viventi: genomi “variabili” sono caratteristici di batteri, piante e piccoli animali mentre gli animali più complessi e di grosse dimensioni sono dotati di genomi più stabili. L’equilibrio evolutivo tra svantaggi e vantaggi di un genoma mobile oppure stabile, tra un fenotipo catabolico di tipo r e uno anabolico di tipo k, probabilmente dipende dal rapporto tra la selezione individuale e quella a livello delle popolazioni. Gli organismi possono modulare l’intensità di questi processi operando una selezione autodeterminata e producendo mutazioni adattative in risposta a segnali ambientali.

I meccanismi anti-darwiniani di mutagenesi e di selezione endogena potrebbero servire per controbilanciare alcuni aspetti dannosi dei processi darwiniani di mutagenesi casuale e di selezione naturale. L’evoluzione degli organismi viventi è, infatti, determinata dalla competizione tra processi mutageni, che portano ad un aumento della variabilità genetica e delle conseguenti possibilità di adattamento ad ambienti diversi, e processi di selezione naturale, che tendono ad eliminare le mutazioni dannose e portano all’adattamento specializzato ad un particolare ambiente. Ma un eccessivo carico di mutazioni casuali e un’eccessiva specializzazione possono risultare controproducenti in un ambiente variabile. In presenza di fluttuazioni irregolari delle condizioni ambientali la popolazione più adatta è quella in grado di ottimizzare l’equilibrio tra selezione e mutagenesi, tra specializzazione e plasticità. Inoltre la capacità “finalistica” di prevenire le future variazioni ambientali è sicuramente utile per la sopravvivenza (Symonds 1989).

L’esistenza di fattori endogeni nell’evoluzione dei viventi è stata sostenuta da numerosi autori tra cui ricordiamo Lamarck, Rosa, Berg e Osborn, i fratelli Arcidiacono (1975, 1991), Sermoniti (1991) e molti altri biologi della scuola strutturalista. Nel modello proposto i meccanismi “neodarwiniani” e quelli endogeni contribuiscono entrambi ai processi evolutivi anche se in modo alternativo a seconda delle situazioni di crisi o di stabilità ambientale. Sorprendentemente, la concezione della natura alla base della teoria binaria è molto simile a quella di alcuni grandi pensatori del passato, e in particolare

BIODIVERSITA'

EVOLUZIONE DARWINIANA



EVOLUZIONE ANTI-DARWINIANA

a quella dei taoisti cinesi: “Il principio di Yin e Yang, elementi maschile e femminile della natura, è il principio fondamentale dell'intero universo. È il principio di ogni cosa della creazione. Esso determina la trasformazione in esseri viventi; è la radice e la sorgente della vita e della morte. Il Cielo venne creato da un accumulo di Yang, elemento della luce; la Terra venne creata da un accumulo di Yin, elemento del buio. Yang significa pace e serenità, Yin significa inquietudine e disordine. Yang significa distruzione e Yin significa

conservazione. Yang provoca evaporazione e Yin condensazione.” (Veith 1995). Uno dei vantaggi del modello proposto è quello di offrire una visione unitaria di una serie numerosa di fenomeni che vanno dai comportamenti delle molecole a quelli degli organismi complessi: “ *Noi sappiamo che l'organismo pluricellulare, in quanto è un insieme, funziona in modo unitario, proprio come l'organismo unicellulare. Simile all'ameba, quando un organismo pluricellulare si espande, lo fa come un organismo unico. Ugualmente, quando ha paura si contrae come un organismo unico, proprio come l'ameba quando ritrae i suoi pseudopodi. Dunque tutti gli organismi viventi hanno una fondamentale componente comune che segue un certo sistema di norme, nonostante le differenziazioni e le relazioni antitetiche. All'inizio fu sorprendente, quasi sconvolgente, notare che le antitesi del piacere e dell'angoscia psichica dal punto di vista funzionale sono identiche alle funzioni fisiologiche del vago e del simpatico, che le funzioni del vago e del simpatico sono identiche a quelle di sostanze organiche come la lecitina e la colesterina, e che queste ultime a loro volta sono identiche all'effetto di sostanze inorganiche come il potassio e il calcio. Se rovesciamo la sequenza e partiamo dal potassio o dal calcio per arrivare alla lecitina o alla colesterina, da qui al vago o al simpatico e infine al piacere o all'angoscia, seguiamo lo sviluppo progressivo di una funzione in forme sempre più elevate, complesse, differenziate. Il carattere fondamentale della vita domina tutto lo sviluppo e tutti i prodotti dello sviluppo. Esso consiste nelle due funzioni antitetiche di espansione e contrazione, tensione e distensione, carica e scarica.*” (Reich 1938).

Da un punto di vista pratico il modello dell'iperciclo metabolico potrebbe spiegare numerosi meccanismi alla base di malattie del sistema neuroendocrinoimmunitario, come le malattie autoimmuni, la schizofrenia e la sindrome bipolare. La medicina occidentale ha infatti una visione eccessivamente riduzionista e “lineare” delle patologie e dei loro trattamenti farmacologici. La comprensione dei meccanismi dinamici alla base della fisiologia umana dovrebbe fornire degli strumenti utili per sviluppare terapie che tengano conto dell'interdipendenza delle diverse componenti metaboliche e del loro sviluppo cronologico di tipo ciclico.

BIBLIOGRAFIA

- Arcidiacono S. *Ordine e Sintropia*. Ed. Studium Christi, Roma, 1975.
- Arcidiacono S., Arcidiacono G. *Entropia, sintropia, informazione*. Di Renzo Editore, Roma, 1991.
- Andersson L., Sigurdadotitir S., Borsch C., Gustafsson K. Evolution of MHC polymorphism: extensive sharing of polymorphic sequence motifs between human and bovine DRB alleles. *Immunogenetics* 33: 188-193, 1991.
- Baruffi L., Damiani G., Guglielmino C.R., Bandi C., Malacrida A.R., Gasperi G. Polymorphism within and between populations of *Ceratitix capitata* Wied: comparison between RAPD and multilocus enzyme electrophoresis data. *Heredity*, 74: 425-437, 1995.
- Bauer E.S. *Theoretical Biology*. UIEM, Moscow-Leningrad, 1935.
- Blanden R.V., Rothenfluh H.S., Zylstra P., Weiller G.F., Steele E.J. The signature of somatic hypermutation appears to be written into the germline IgV segment repertoire. *Immunological Reviews* 162: 117-132, 1998.
- Beretta E., Capasso V. On the global structure of epidemic systems. Global asymptotic stability. *Comp. & Maths. With Appls.* 12A (6): 677-694, 1986.
- Bottaccioli F. *Psiconeuroimmunologia - La grande connessione tra psiche, sistema nervoso, sistema endocrino e sistema immunitario*. Red edizioni - Como, 1995.
- Bridges B.A. mutY directs mutation? *Nature*, 375: 741, 1995.
- Bridges B.A. Hypermutation under stress. *Nature* 387: 557-558, 1997.
- Cairns J., Overbaugh J., Miller S. The origin of mutants. *Nature* 335: 142-145, 1989.
- Chu W-M., Ballard R., Carpick B.W., Williams B.R., Schmid C.W. Potential Alu function: regulation of double-stranded RNA-activated Kinase PKR. *Mol. Cell. Biol.* 18: 58-68, 1998.
- Crick F. *What mad pursuit* Basic Books, Inc., New York, 1988.
- Damiani G. *Il gioco della vita, la teoria binaria dell'Universo fisico*. Editrice Italiana Audiovisivi, Roma, 1984.
- Damiani G., Della Franca P. Morphé and Evolution. *Biology Forum* 90: 227-266, 1997.
- Damiani G., Della Franca P. Transizioni di fase e controllo dei metabolismo. In: *La matematizzazione della biologia. Storia e problematiche attuali*. Cerrai P., Freguglia P. editori. Urbino QuattroVenti 97-106, 1997.

- Damiani G. Evolution of life in a fractal Universe. *Fractals in biology and medicine Vol. 2*, Editors G.A.Losa, D.Merlini, T.F.Nonnenmacher, E.R.Weibel, Birkhauser Verlag – Basel, 169-187, 1998.
- Damiani G. Why are fractals everywhere? *Chaos - fractals - models*, Editors G.Guineani and F.Salvatori. Pavia, 384-390, 1998.
- Damiani G., Capelli E., Comincini S., Mori E., Panelli S., Cuccia M. Identification of mRNAs differentially expressed in lymphocytes following interleukin-2 activation. *Exp. Cell. Res.* 245: 27-33, 1998.
- Damiani G., Florio S., Budelli E., Bolla P., Caroli A., Pagnacco G. Possible role of SINEs in metabolism control and in animal productions *Recent progress in animal production science*. Editors Piva G. et al., Franco Angeli s.r.l., Milano 149-151, 1999.
- Damiani G., Florio S., Budelli E., Bolla P., Caroli A., Pagnacco G. Identificazione del “genotipo metabolico” degli animali mediante tipizzazione del locus DRB. *Strumenti innovativi per la ricerca avanzata nelle produzioni animali*. Editors G.F.Greppi, G.Enne. GM Scientific publications, Milano, 273-280, 1999.
- Damiani G., Florio S., Budelli E., Bolla P., Caroli A. HpaII PCR-RFLP within a Bov-A2 element in the promoter of the bovine CYP21 (steroid 21hydroxylase) gene. *Animal Genetics* 31, 101-102, 2000.
- Damiani G., Florio S., Budelli E., Bolla P., Caroli A. Single nucleotide polymorphisms (SNPs) within Bov-A2 SINE in the second intron of bovine and buffalo k-casein (CSNK) gene. *Animal Genetics*. 32, in press, 2000.
- Damiani G., Florio S., Della Franca P., Capelli E., Cuccia M. Anti-darwinian “intelligent” evolution driven by the MHC system. in Atti del “7th Congress of the European Society for Evolutionary Biology”, 23-28 august, Barcellona, II-72, 1999.
- Dioguardi N. Geometry of liver system functioning: from a helix to a trajectory on curved space. In “*The future of Science has begun – An approach to complexity: opinions on nine different topics*”, Pagina Gruppo Editoriale s.a.s., Milano, 1993.
- Diamond J. Our phantom children. *Natural History* 5: 18-23, 1992.
- Fantappiè L. *Principi di una teoria unitaria del mondo fisico e biologico*. Ed.Nova, Roma, 1944.
- Flavell A.J., Pearce S., Kumar A. Plant transposable elements and the genome. *Current Op. Genet. Dev.* 4: 838-844, 1994.
- Foster P. Adaptive mutation: the uses of adversity. *Annu. Rev. Microbiol.* 47: 467-505, 1993.

- Gould S.J. *Ontogeny and Phylogeny* Belknap Press of Harvard Univ. Press, 1977.
- Gould S.J., Eldredge N. Punctuated Equilibria: the tempo and mode of evolution reconsidered. *Paleobiology* 3: 115-151, 1977.
- Gustafsson K., Andersson L. Structure and evolution of horse MHC class II DRB genes: convergent evolution in the antigen binding site. *Immunogenetics*, 39, 355-358, 1994.
- Hall B.G. Spectra of spontaneous growth-dependent and adaptive mutations at *ebgR*. *J. Bacteriol.* 181: 1149-1155, 1999.
- Hall L.M.C. Are point mutation or DNA rearrangements responsible for the restriction fragment length polymorphisms that are used to the type bacteria? *Microbiology.* 140: 197-204, 1994.
- Jablonka E., Lamb M.J. *Epigenetic inheritance and evolution* Oxford University Press, 1999.
- Jablonka E., Lamb M.J., Avital E. Lamarckian mechanisms in darwinian evolution. *Trends Ecol. Evol.* 13: 206-210, 1998.
- Jaenisch R. DNA methylation and imprinting: why bother? *Trends in Genet.* 13: 323-328, 1997.
- Kass D.H., Batzer M.A., Deininger P.L. Gene conversion as a secondary mechanism of Short Interspersed Element (SINE) evolution. *Molecular and Cellular Biology.* 15(1): 19-25, 1995.
- Kauffman S. A. *The origin of order* Oxford University Press, 1993.
- Klein J. Origin of the major histocompatibility complex MHC polymorphism: the trans-species hypothesis. *Hum. Immunol.* 19: 155-162, 1987.
- Layzer D. The arrow of time. *Sci. Am.*, 233: 6, 56-69, 1975.
- Landman O. Inheritance of acquired characteristics revisited. *BioScience* 43 (10):696-705.
- Lappé M. *Il Tao dell'Immunità*. Ed. Armenia, Milano, 1998.
- Lebel E.G., Masson J., Bogucki A., Paszkowski J. Stress-induced intrachromosomal recombination in plant somatic cells. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 90: 422-426, 1993.
- Lieber M.M. Force, development, and neoplasia: development from another perspective as illustrated through a study of *in vitro* plant development from neoplasm. *Biology Forum* 89 (2): 245-274, 1996.
- Lieber M.M. Environmentally responsive mutator systems: toward a unifying perspective. *Biology Forum* 91(3): 425-458, 1998.

- Liu W-M., Chu W-M., Choudary P.V., Schmid C.W. Cell stress and translational inhibitors transiently increase the abundance of mammalian SINE transcripts. *Nucl. Acid Res.* 23: 1758-1765, 1995.
- Mattick J. Introns: evolution and function. *Current Op. Genet. Dev.* 4: 823-831, 1994.
- May R.M. Simple mathematical models with very complicated dynamics. *Nature* 261: 459-467, 1976.
- Mayr E. *Il modello biologico*. McGraw-Hill, Milano, 1999.
- McClintock B. The significance of responses of the genome to challenge. *Science*, 226: 792-801, 1984.
- McMahon T.A., Size and shape in biology. *Science*, 173: 1201-1204, 1973.
- McMahon T.A., Bonner J.T. *On size and life* Freeman, New York, 1983.
- Morchio R., L'insufficienza della chiave combinatoria. In *Biologia teorica*, Jaca Book, Milano, 141-174, 1994.
- Moss D.J., Khanna R. Major histocompatibility complex: from genes to function. *Immunology today* 20 : 165-167, 1999.
- Nicolis G., Prigogine I. *Self-Organization in Non-Equilibrium Systems. From Dissipative structures to Order through Fluctuations*. Wiley, New York, 1977.
- Ou D., Mitchell L.A., Tingle A.J. New categorization of HLA DR alleles: a functional basis. *Hum. Immunol.* 59: 665-676, 1998.
- Pennisi E. Molecular Evolution: How The Genome Readies Itself For Evolution. *Science* 281: 1131-1134, 1998.
- Radman M. Enzymes of evolutionary change. *Nature* 401: 866-867, 1999.
- Reich W. *Die Bione*. Sexpol-Verlag, 1938.
- Ritchie M., Olff H. Spatial scaling laws yield a synthetic theory of biodiversity. *Nature* 400: 557-560, 1999.
- Rosche W.A., Foster P.L. with appendix by Cairns J. The role of transient hypermutators in adaptive mutations in *Escherichia coli*. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 96: 6862-6867, 1999.
- Rosenberg S.M., Longrich S., Gee P., Harris R.S. Adaptive mutations by deletions in small mononucleotide repeats *Science* 265: 405-407, 1994
- Rosenberg S.M., Harris R.S., Longrich S., and Galloway A.M. Recombination-dependent mutation in non-dividing cells. *Mutation Research* 350: 69-76, 1995.
- Ross J. Control of messenger RNA stability in higher eukaryotes. *Trends in Genet.* 12: 171-175, 1996.

- Rothenfluh H.S., Blanden R.V., Steele E.J. Evolution of V genes: DNA sequence structure of functional germline genes and pseudogenes. *Immunogenetics* 42: 159-171, 1995.
- Rutherford S.L., Lindquist S. Hsp 90 as capacitor for morphological evolution. *Nature* 396: 326-342, 1998.
- Sarà M. A "sensitive" cell system-Its role in a new evolutionary paradigm. *Biology Forum* 89(1): 139-148, 1996.
- Scannerini S., La biologia teorica: un guazzabuglio o un mazzo di chiavi? In *Biologia teorica*, Jaca Book, Milano, 9-44, 1994.
- Scott V.E., Hedrick P.W. Evolution and ecology of MHC molecules: from genomics to sexual selection. *TREE* 13: 305-311, 1998.
- Sermonti G. Evolution in absence of mutation. *Biology Forum* 84(3): 411-422, 1991.
- Shapiro J.A. A third way, alternative to Darwinism & Creationism. *Boston Review* 22: 32-33, 1997.
- Shapiro J.A. Genome organization, natural genetic engineering, and adaptive mutation. *Trends in Genet.* 13: 98-104, 1997.
- Shapiro J.A. Genome system architecture and natural genetic engineering in evolution, *Annals New York Acad. Sci.* 870:23-35,1999.
- Sigmund K. *Games of life* Oxford University Press, 1993.
- Skinner J. E. Low-dimensional Chaos in biological systems. *Bio/technology*, 12: 596-600, 1994.
- Solé R.V., Manrubia S.C., Benton M., Bak P. Self-similarity of extinction statistics in the fossil record. *Nature* 388: 764-767, 1997.
- Stahl, F.W. A Unicorn in the Garden. *Nature* 335: 112-113, 1988.
- Storz G. An RNA thermometer. *Genes Dev.* 13: 633-636, 1999.
- Symonds N. Anticipatory mutagenesis. *Nature* 337: 119-120, 1989.
- Szent-Gyorgyi A. *Bioelectronics - A study in cellular regulation, defense, and cancer* Academic Press, New York-London, 1968.
- Szent-Gyorgyi A. *The living state - With observations on cancer* Academic Press, New York-London, 1972
- Taddel F., Radman, M., Maynard-Smith, J., Toupance, B., Gouyon, P.H., and Godell, B. Role of mutator alleles in adaptive evolution. *Nature* 387: 700-702, 1997.
- Thaler D. The evolution of genetic intelligence. *Science*, 264: 224-225, 1994.
- Veith I. *Nei-Ching*. Edizioni Mediterranee, Roma, 1995.
- Volterra V., D'Ancona U. Les associations biologiques étudiées au point de vue mathématique. Paris, 1935.

von Neumann J. *Theory of self-reproducing automata* University of Illinois Press, Urbana, 1966. von Sternberg R. Genome self-modification and cellular control of genome reorganization. *Biology Forum* 89(3): 423-462, 1996.

Waddington C.H. *The evolution of an evolutionist* Cornell University Press, Ithaca, New York, 1975.

Walbot V., Cullis A.C. The plasticity of the plant Genome – Is it a requirement for success? *Plant Molecular Biology Reporter* 1 (4): 3-11, 1983.

Wolfram S. Cellular automata as models of complexity. *Nature*, 311: 419-424, 1984.

Yates F.E. Fractal Applications in Biology: Scaling Time in Biochemical Networks. *Methods in Enzymology* 210: 636-675, 1992.