

Parte 1

LA SAGGEZZA
DI UNA SPECIE MICROSCOPICA

Capitolo 1

LA BIOLOGIA EVOLUTIVA SPIEGA L'ADATTABILITÀ BATTERICA

I primi microrganismi viventi sul pianeta Terra

Dopo essere emersi come i primi abitanti del nostro pianeta quasi quattro miliardi di anni fa, i microbi si sono rapidamente diffusi in tutte le parti del mondo. Da una macchia di neve che si scioglie in Groenlandia alla polvere vulcanica dell'Australia occidentale, gli scienziati hanno osservato la natura onnipresente e tenace della prima vita microbica e da tempo hanno accertato l'enorme effetto che un minuscolo organismo può avere sul nostro ambiente fisico. Per esempio, una singola specie di cianobatteri, recentemente identificata nella Groenlandia occidentale, sembra accelerare l'oscuramento della calotta glaciale della Groenlandia. Il microbo causa l'aggregazione di polvere e fuliggine, provocando uno scioglimento più rapido del maggiore corpo di ghiaccio dell'emisfero settentrionale.¹

Un altro gruppo di estremofili, come sono stati chiamati i microbi che possono sopravvivere a condizioni difficili, è stato studiato nelle zone più remote della penisola di Kamchatka. In questa regione vulcanica del Pacific Rim of Fire, gli organismi sopravvivono a condizioni impensabili per la maggior parte delle forme di vita.² Gli archaea, microrganismi unicellulari senza nucleo, sono un dominio distinto di vita insieme ai batteri e agli eucarioti (vedi oltre). Sono ben rappresentati nelle temperature acide ed estremamente calde presenti nei vulcani, nei geysers e nelle sorgenti termali, che caratterizzano questo paesaggio spettacolare.

Gli archaea, che in greco significa "cose antiche", prosperano sullo zolfo invece che sull'ossigeno e si pensa che siano alcuni degli organismi più antichi del pianeta. Gli scienziati si stanno impegnando a fondo per comprendere come le alte temperatu-

re possano accogliere la vita di queste creature primordiali. Un gruppo di studiosi ha identificato una comunità di archaea nelle profondità di una bocca termica nell'Oceano Pacifico in grado di sopravvivere per 2 ore a 130 °C.³ Inoltre, nel 2012 gli scienziati della University of Colorado Boulder hanno individuato una manciata di batteri, funghi e archeobatteri appena identificati nei vulcani sudamericani, che sopravvivono a un range di temperature che va dai 10 ai 56 °C in mezzo ad alte radiazioni ultraviolette.⁴

I ricercatori hanno classificato i fossili microbici risalenti a quasi quattro miliardi di anni fa, non molto tempo dopo la formazione del pianeta Terra, secondo l'attuale pensiero scientifico. Steve Schmidt, fondatore dell'Alpine Microbial Observatory, fa parte della nuova generazione di cacciatori di microbi che perlustrano luoghi desolati e inospitali sul pianeta Terra e non solo. Schmidt collabora con altri scienziati di tutto il mondo che esaminano i campioni di ghiaccio dall'Antartide al fine di studiare i crioconiti, delle sacche di vita microbica, che potrebbero fornire alcuni indizi sull'insediamento di comunità in un ambiente estremo. Grazie alla loro caratterizzazione di virus a DNA a filamento singolo provenienti da tre siti della Taylor Valley, in Antartide, i ricercatori sono stati in grado di determinare la presenza di un "viroma regionale unico" negli ospiti di acqua dolce delle McMurdo Dry Valleys.⁵

Dati i rapidi e continui cambiamenti dell'atmosfera e del clima che si sono verificati tanto tempo fa, possiamo giungere alla conclusione che l'adattamento a questi improvvisi cambiamenti richiedesse una grande flessibilità genetica. Non sorprende che i microrganismi, noti per la loro esaustiva capacità di adattarsi rapidamente, fossero molto probabilmente le prime creature viventi a colonizzare il nostro pianeta. A causa della mancanza di ossigeno nell'atmosfera primordiale della Terra, la stragrande maggioranza dei microrganismi era anaerobica e poteva quindi sopravvivere senza ossigeno.

Evoluzione degli eucarioti

Per apprezzare più pienamente la grande adattabilità che caratterizza lo stile di vita dei procarioti, dobbiamo esaminare l'aspetto evolutivo dei procarioti e degli eucarioti. I procarioti, che includono la forma di vita che chiamiamo batteri, sono organismi unicellulari privi di nucleo. Si pensa che, nella catena evolutiva, essi precedano lo sviluppo degli eucarioti, organismi multicellulari che includono i funghi, le piante e gli animali. La storia dell'evoluzione è stata scritta concentrandosi principalmente sugli organismi eucarioti, trascurando i microbi che rappresentano l'insieme più antico e vario della diversità degli organismi. Questo limita la nostra comprensione generale della biologia evolutiva.

Il percorso evolutivo della maggior parte degli eucarioti è definito come anagenesi, un processo graduale in cui una specie accumula lentamente alcuni cambiamenti genetici adattativi sotto la pressione delle modificazioni ambientali. Con il passare del tempo, dopo migliaia o milioni di anni, la specie originaria si estingue a favore della nuova specie.

Un classico esempio di anagenesi è l'evoluzione del cavallo, che iniziò il suo viaggio evolutivo come un piccolo mammifero chiamato *Eohippus*, che significa “cavallo dell'alba”.⁶ Si trattava di un piccolo animale la cui altezza variava da 30 a 50 cm circa, con un dorso arcuato, il collo e il muso corti e una lunga coda. Una prolungata catena di cambiamenti di specie nel corso di decine di milioni di anni ha portato l'evoluzione dell'*Eohippus* al cavallo moderno, *Equus*. I cambiamenti evolutivi più visibili hanno coinvolto la dimensione complessiva dell'animale e soprattutto le sue estremità inferiori.

Circa 56 milioni di anni fa, l'*Eohippus* viveva principalmente nelle foreste e nella giungla e si nutriva principalmente di foglie. Nel tempo, l'habitat preferito degli equidi (la famiglia evolutiva del cavallo moderno) si è spostato dalle foreste alle pianure. Il vagare per gli ampi spazi aperti delle pianure costringeva gli equidi a diventare sempre più grandi, in modo da scoraggiare i predatori più piccoli e poter correre più velocemente di quelli più grandi. Adattandosi lentamente dalle foreste alle pianure, gli antenati del cavallo moderno persero gradualmente la maggior parte delle imbottiture delle dita e le dita stesse, sviluppando così un unico zoccolo.

Evoluzione dei procarioti

Al contrario la cladogenesi, un percorso evolutivo più tipico ma non esclusivo dei procarioti, è la scissione evolutiva di una specie madre in due specie distinte, che formano un “clade”. Questo evento si verifica solitamente quando alcuni organismi finiscono in aree nuove, spesso lontane, o quando i cambiamenti ambientali provocano diverse estinzioni, aprendo nuove nicchie ecologiche per i sopravvissuti.

L'analisi degli alberi filogenetici per i microbi suggerisce che la macroevoluzione (importante cambiamento evolutivo) può differire tra i procarioti stessi, ma anche tra i micro e i macroeucarioti. Gli alberi filogenetici, dei diagrammi che rappresentano le relazioni evolutive tra gli organismi, hanno suggerito che i procarioti e alcuni eucarioti microbici si conformano alle aspettative, che presuppongono un tasso costante di cladogenesi nel tempo e tra le linee evolutive.

Tuttavia, la differenza fondamentale riscontrata nelle dinamiche macroevolutive tra procarioti e molti eucarioti è dovuta, almeno in parte, alle differenze nella prevalenza del trasferimento genico laterale principalmente mediato dai batteriofagi tra i due gruppi. L'ereditarietà è in prevalenza, se non interamente, verticale all'interno degli eucarioti, una caratteristica che consente l'emergere e il mantenimento di variazioni ereditabili tra le linee evolutive per lunghi periodi di tempo, il che non è però l'ideale per un rapido adattamento.

Al contrario, la frequenza del trasferimento genico laterale nei procarioti può aumentare il tasso di cladogenesi attraverso la variazione ereditaria, che risulta dall'insorgere di rapidi cambiamenti ambientali. Tenendo conto di tutto ciò, la differenza dedotta nella macroevoluzione potrebbe riflettere la relativa esclusività delle innovazioni chiave negli eucarioti e la loro natura meno rigidamente controllata nei procarioti.

Gli esseri umani beneficiano di un felice incidente del destino

Con la comparsa degli oceani e dell'ossigeno nell'atmosfera, si verificò una relazione simbiotica tra alcuni dei primi microrganismi anaerobi e altri organismi unicellulari noti come mitocondri. I mitocondri, strutture specializzate all'interno delle cellule, sono i "motori" cellulari che producono la maggior parte dell'energia di cui le cellule hanno bisogno per sopravvivere.

L'interazione avvenne tra organismi cosiddetti "semplici", a una cellula o unicellulari; questo fenomeno può essere visto come il primo esempio di come lo sviluppo di una relazione reciprocamente vantaggiosa possa aver dato un vantaggio evolutivo a entrambi i partecipanti. Scegliendo uno stile di vita intracellulare, i mitocondri ottennero l'accesso alle vie metaboliche dei loro primi ospiti microbici, che divennero fondamentali per lo sviluppo dei mitocondri.

Allo stesso tempo, i batteri ottennero l'enorme vantaggio di massimizzare la produzione di energia attraverso la glicolisi, la scomposizione del glucosio da parte di enzimi. L'ossidazione di una singola molecola di glucosio in condizioni anaerobiche produce circa due moli di adenosina 5'-trifosfato (ATP), una molecola che immagazzina e trasferisce energia nelle cellule.

In condizioni aerobiche, tuttavia, la produzione di ATP da una molecola di glucosio sale vertiginosamente fino a trentadue moli, il che vuol dire che l'aggiunta di ossigeno rende la produzione di ATP sedici volte più efficiente. Anche nelle prime fasi dello sviluppo della vita sul nostro pianeta, unire le forze e lavorare insieme ha

dato un enorme vantaggio a entrambe le parti, un'interazione che oggi si riscontra sia negli esempi di batteri simbiotici e altri microbi, così come nelle comunità animali e umane.

Combattere una guerra o imparare a convivere?

Il successivo passo evolutivo si è verificato quasi due miliardi di anni fa con lo sviluppo di organismi unicellulari in organismi pluricellulari. Come questo sia successo è rimasto un mistero fino a poco tempo fa; sembra però che alcuni ricercatori giapponesi abbiano recentemente trovato l'anello mancante.⁷ Gli scienziati sanno da tempo che devono esserci stati dei predecessori lungo la strada evolutiva. A giudicare dai reperti fossili, però, alcune specie multicellulari complesse sono apparse semplicemente dal nulla. La nuova specie scoperta dagli scienziati giapponesi sul fondo dell'Oceano Pacifico, chiamata *Candidatus*, *Prometheoarchaeum syntrophicum*, ceppo MK-D1, risulta essere proprio una di queste forme di transizione, che aiuta a spiegare le origini di tutti gli animali, le piante, i funghi e, naturalmente, degli esseri umani.

Uno degli esempi più eloquenti dei primi organismi multicellulari è *Caenorhabditis elegans*, un antico verme cilindrico costituito solo da una manciata di cellule. Questo organismo eucariotico multicellulare, che non ha un sistema respiratorio e neppure un sistema nervoso, esemplifica il vantaggio fondamentale, che è l'obiettivo principale di qualsiasi organismo vivente: la conservazione della specie. Con uno stile di vita pluricellulare e con solo otto cellule che compongono il suo sistema gastrointestinale, il *C. elegans* può portare la raccolta di energia a un livello di efficienza ancora più sofisticato.

Ma anche in un organismo pluricellulare così basilare e rudimentale, l'ottimizzazione della raccolta e della riproduzione di energia dipende fortemente da un altro esempio di simbiosi. L'intestino di questi animali, infatti, non può funzionare al meglio se non è stato colonizzato da batteri. Non importa se si tratta di vermi, dinosauri o esseri umani, in qualsiasi caso si può affermare che non esiste vita pluricellulare sulla Terra senza coevoluzione con i microrganismi. Allo stesso modo in cui un microbo può influenzare il più grande ecosistema di ghiaccio dell'emisfero settentrionale, un microbo può persino avere un enorme effetto sull'ecosistema umano.

Naturalmente, la nostra attuale comprensione dei diversi ecosistemi a cui siamo esposti è ancora agli inizi. Tuttavia, è ovvio e intuitivo che, se studiamo dei microbi che si trovano in diversi habitat – nel suolo, nell'oceano, nelle sorgenti e nei fiumi,

nei vulcani, nell'aria, nelle piante e negli animali – non possiamo considerarli come ecosistemi distinti, perché non sono compartimentati e non sono ambienti totalmente isolati. Esiste invece un continuo scambio di microrganismi dal suolo all'uomo, dall'uomo all'acqua, all'aria e così via. Per comprendere il microbioma umano e le sue implicazioni per la salute e la malattia, dobbiamo quindi considerare l'intero ecosistema terrestre come un ciclo continuo della vita.

Ipotesi dei “microbi mancanti”

Se vogliamo apprezzare le conseguenze sulla salute derivanti dall'allontanamento da questo coadattamento evolutivo, dobbiamo comprendere il percorso evolutivo della relazione di questo simbiotico microbioma umano. Sappiamo che la composizione e la funzione del microbioma umano, in particolare del microbioma intestinale, è influenzata da una varietà di fattori tra cui l'habitat, lo stile di vita e la dieta. Sebbene ogni persona abbia un microbioma diverso, i ricercatori hanno identificato alcune tendenze studiando il microbioma umano in tutto il mondo.

Per esempio, il microbioma intestinale nelle persone dei paesi industrializzati sembra contenere dal 15 al 30% di specie in meno rispetto al microbioma intestinale delle persone provenienti da nazioni non occidentali. A parte le ovvie differenze nello stile di vita, ci sono diverse teorie che tentano di spiegare queste differenze. Una proposta è l'ipotesi dei “microbi mancanti” avanzata nel 2014 da Martin Blaser, il quale ha teorizzato che le perdite di particolari specie batteriche del nostro microbiota ancestrale, dovute in gran parte a trattamenti antibiotici, hanno alterato il contesto in cui si verifica lo sviluppo immunologico, metabolico e cognitivo nei primi anni di vita, con conseguente aumento della malattia infiammatoria cronica.⁸ Ma su quali premesse si basa questa teoria dei microbi mancanti?

Nel Capitolo 2 sarà rivisitata la teoria di Blaser in modo più dettagliato e verrà esaminata l'analisi comparativa dei microbiomi antichi rispetto a quelli moderni. Supponendo che la teoria del microbioma estinto sia corretta, per definizione nessuna popolazione vivente oggi reca alcuna traccia di un microbioma “ancestrale”.

Nel tentativo di colmare questa lacuna di conoscenza, gli scienziati hanno completato le analisi della composizione del microbioma dei resti umani mummificati e dei coproliti (materia fecale fossilizzata). I risultati mostrano un'evoluzione del microbioma umano che rivela cambiamenti importanti che coincidono con cambiamenti radicali nello stile di vita, come il passaggio da foraggiatore-raccogliatore (tipico delle scimmie) a cacciatore-raccogliatore (tipico degli ominidi) o l'avvento dell'agricoltura.

Microbioma intestinale di primati non umani rispetto a quelli umani

Le analisi comparative dei microbiomi intestinali dei primati umani e non umani di Rob Knight, Emily Davenport e altri, mostrano che gli esseri umani hanno una minore diversità microbica intestinale, una maggiore abbondanza relativa di *Bacteroides* (un genere di batteri Gram-negativi, anaerobi) e una ridotta abbondanza relativa dei generi *Methanobrevibacter* (archaea anaerobi) e *Fibrobacter* (batteri anaerobi ruminanti). Questi cambiamenti sembrano testimoniare il passaggio a una dieta carnivora. Altri importanti cambiamenti storici ed evolutivi identificati confrontando primati non umani e microbiomi umani forniscono anche un'indicazione di quanto velocemente stia cambiando il microbioma umano. La composizione del microbioma intestinale umano sembra essersi discostata dallo stato ancestrale a un ritmo accelerato rispetto a quello delle grandi scimmie.⁹

Alcuni segni distintivi dell'evoluzione umana e della storia potenzialmente responsabili di questo cambiamento accelerato nella composizione del microbioma intestinale includono l'avvento dell'agricoltura, del cibo cotto, dell'urbanizzazione e dell'aumento della densità di popolazione. Le differenze di interpopolazione umana sembrano essere guidate dalla dieta, mentre nei primati non umani la forza motrice chiave sembra essere correlata all'habitat ospite e alla stagione.

Per riassumere, sembra probabile che esista una forte interrelazione tra l'ospite e il microbioma intestinale dell'ospite con un'influenza potenzialmente reciproca sui tratti evolutivi; ciò che resta da stabilire sono le conseguenze sulla salute. Più specificamente, sarà importante determinare quando i cambiamenti nella composizione e nella funzione del microbioma sono necessari per gli adattamenti evolutivi, al contrario dei cambiamenti dannosi e non pianificati che possono portare all'insorgenza della malattia.

Sulla base delle prove descritte in precedenza, è probabile che gli esseri umani e il loro microbioma condividano un destino coevolutivo che sembra essere specie-specifico. Per esempio, i "topi umanizzati", in cui il microbioma del roditore viene sostituito da un microbioma umano, mostrano una compromissione di un sistema immunitario intestinale completamente maturo e sono meno protetti dalle infezioni rispetto ai topi con microbiota nativo. Questa evidenza porta all'introduzione di un altro concetto di coevoluzione uomo-microbioma, vale a dire l'ologenoma.

I fautori di questa teoria dell'evoluzione sostengono che esiste una forte e reciproca influenza tra i fenotipi indotti nell'ospite umano dal suo genoma e quelli indotti dai microbi in un sistema combinato ospite-microbo, o olobionte.

Questi teorici evolucionisti considerano questo legame così interconnesso che il sistema ospite-microbo diventa l'estensione di un organismo unitario nello stesso viaggio evolutivo.

Nove mesi contro venti minuti

Non dovrebbe sorprendere che un microrganismo che si sia adattato a vivere a 56 °C in un vulcano o a -67 °C nell'Artico possa rapidamente acclimatarsi in un ambiente di 37 °C se ha bisogno di convivere con un essere umano. Questa pregevole capacità di adattamento è la conseguenza del rapido ciclo di vita di un microrganismo che può riprodursi ogni 15-20 minuti. Durante questo processo si verificano mutazioni genetiche casuali. Gli adattamenti utili a un nuovo stile di vita saranno conservati, mentre quelli inutili o addirittura dannosi non sopravviveranno a questo processo evolutivo.

Anche se non siamo stati testimoni degli enormi cambiamenti che si sono verificati all'inizio della genesi della Terra, i mutamenti climatici a cui stiamo assistendo oggi dimostrano, ancora una volta, che l'adattamento è l'attributo vincente necessario per sopravvivere. Alcune specie multicellulari sono sull'orlo dell'estinzione a causa dei cambiamenti climatici. Mentre i batteri geneticamente agili possono trarre vantaggio da questi cambiamenti climatici e ambientali, gli esseri umani nei paesi industrializzati stanno vivendo diverse epidemie di malattie infiammatorie, inclusa la recente pandemia di COVID-19, che sono potenzialmente correlate a questi cambiamenti.

Se gli esseri umani potessero riprodursi ogni 20 minuti, è certo che godremmo della stessa plasticità che caratterizza i batteri e altri microrganismi. Ma il nostro orologio biologico richiede 9 mesi per riprodursi. Le mutazioni genetiche casuali nell'uomo, benefiche o dannose, si verificano troppo raramente per adattarsi ai cambiamenti improvvisi nel nostro ambiente.

In quanto organismi unicellulari, i batteri potrebbero essere considerati dei "pesci piccoli" rispetto a organismi multicellulari più complessi come la *Sequoiadendron giganteum* (sequoia gigante) o l'*Homo sapiens*. Mentre utilizziamo le nuove tecnologie per approfondire il dominio microbico della vita per studiare i microrganismi dentro e intorno a noi, allo stesso tempo stiamo espandendo il nostro concetto di biologia molecolare e cellulare per includere la biologia evolutiva e l'ecologia come scienze essenziali nello studio del ruolo del microbioma umano.

Il colera ci insegna una lezione

Un ottimo esempio di flessibilità batterica tratto dal mondo microbico è *Vibrio cholerae*, un patogeno enterico responsabile del colera, la malattia diarroica più rapidamente fatale che colpisce l'umanità. Il colera è tuttora una delle principali cause di morbilità e mortalità in molte parti del mondo in via di sviluppo. Quando si verificano delle calamità naturali o causate dall'uomo, come terremoti o guerre, il colera può diffondersi rapidamente attraverso i campi profughi in condizioni sanitarie non ottimali, rappresentando una significativa minaccia mondiale.

I vibrioni (in greco *vibrio*, che significa “virgola”) sono batteri Gram-negativi a forma di singoli bastoncini fortemente ricurvi con un lungo flagello polare. Con questa “coda” simile a una virgola, *V. cholerae* sviluppa la sua motilità caratteristica e rapida in un ambiente acquoso. Questi batteri letali sono ottimi nuotatori.

Tipicamente trasmesso attraverso la via oro-fecale, l'agente patogeno mortale si diffonde principalmente attraverso cibo e acqua contaminati. Durante l'epidemia di colera di Londra nel 1854, John Snow osservò che la malattia si diffondeva attraverso l'acqua contaminata prelevata da una pompa dell'acqua in Broad Street.¹⁰ Dopo aver convinto le autorità pubbliche a rimuovere la maniglia della pompa, i nuovi casi diminuirono notevolmente. Utilizzando campioni autoptici di pazienti ospedalieri e delle lavandaie durante la stessa pandemia di colera, Filippo Pacini nel 1854 isolò il bacillo a forma di virgola, che chiamò “vibrion”, nella mucosa intestinale.¹¹

Sarà però Robert Koch, un medico-scienziato di Baden-Baden, in Germania, a essere ricordato per aver isolato *V. cholerae* come causa del colera in India nel 1884.¹² Le sue scoperte pionieristiche sull'antrace e sulla tubercolosi lo portarono a sviluppare quattro postulati per la ricerca di laboratorio in microbiologia, che sono validi ancora oggi. Usando i suoi rigorosi metodi di ricerca per identificare gli agenti batterici che causano la malattia, Koch capovolse fermamente la teoria della generazione spontanea e la sostituì con la teoria dei germi della malattia.

Negli ultimi due secoli, sette pandemie di colera si sono diffuse in tutto il mondo. La prima epidemia di colera registrata iniziò nel delta del fiume Gange nel 1817 per poi diffondersi in Asia, in Medio Oriente e nel Mediterraneo. Cinque delle sei successive epidemie di colera ebbero origine in India. La settima epidemia si verificò in Indonesia nel 1961, attraversò l'Asia e il Medio Oriente, raggiungendo l'Italia, il Giappone e il Pacifico Meridionale negli anni Settanta.

Cento anni dopo la sconfitta del colera, in Sud America, nel 1991, un'epidemia in Perù si diffuse in tutto il continente, uccidendo 10.000 persone. Si trattava di un

ceppo simile alla settima pandemia, che era scomparso più di un decennio prima. Nel 1994, un'epidemia nei campi profughi ruandesi nella Repubblica Democratica del Congo uccise decine di migliaia di persone.

Al terremoto che devastò Haiti nel 2010 seguì un'epidemia di colera dello stesso ceppo, che uccise circa 200.000 Haitiani. Una nuova specie di colera fu scoperta in Bangladesh nel 1992 e successivamente riemerse a Calcutta nel 1996.¹³ Gli epidemiologi e i ricercatori hanno monitorato le nuove specie e la coesistenza del precedente biotipo classico.

Uno squisito esempio di adattamento ambientale di *Vibrio cholerae*

Ad oggi sono state identificate più di 30 specie di *V. cholerae* che possono infettare l'uomo. Quello che non sappiamo è dove risiede *V. cholerae* tra le pandemie, quando non colpisce gli esseri umani. Se si considera che *V. cholerae* è un grande nuotatore grazie al flagello della coda simile a una virgola, e che l'acqua è il principale veicolo di trasmissione delle malattie, è facile ipotizzare che il suo habitat naturale fosse un ambiente acquatico.

Ma come può *V. cholerae* spostarsi improvvisamente da un corso d'acqua o da un fiume a un ambiente completamente diverso come l'intestino umano? Questo enigma è stato risolto nel 1998 da Jim Kaper e colleghi del Centre for Vaccine Development (CVD), University of Maryland. Mentre Alessio Fasano (coautore di questo libro) nel laboratorio di Kaper cercava di sviluppare un vaccino contro il colera, Michele Trucksis e altri colleghi hanno stabilito che il materiale genetico di *V. cholerae* è organizzato in due diversi cromosomi: uno piccolo con i geni necessari ad adattarsi all'ambiente acquatico, e uno più grande con i geni necessari per adattarsi all'ambiente dell'intestino umano.¹⁴

Questo secondo cromosoma comprende i geni che codificano per i fattori di colonizzazione del colera e per l'elaborazione della sua tossina, entrambi acquisiti per trasferimento laterale attraverso un batteriofago, detto anche "fago", un tipo di virus che infetta i batteri. Dopo essersi legato ai batteri, il fago si inserisce e integra stabilmente il suo genoma in quello dell'ospite. L'inserimento dell'isola patogenetica del fago di *V. cholerae* consente l'elaborazione di un pilus, un filamento rigido simile a un capello utilizzato dal batterio per colonizzare l'intestino umano. Il fago colera-tossina, il quale elabora la potente tossina che provoca la forte diarrea tipica del colera, è un ottimo esempio di simbiosi tra virus e batteri.

Il vibrione passa costantemente da un ambiente all'altro, rappresentando un superbo esempio di adattabilità plastica sostenuta. Questo batterio non ha bisogno di badare costantemente alla mutazione, in quanto ricorda entrambi gli stili di vita per decidere quali geni esprimere e quali sopprimere. Questo microbo ci insegna anche che l'interazione ospite-microbo, pietra miliare di questo libro, è un dialogo incrociato a due vie. L'esito delle comunicazioni dai microrganismi all'ospite e dall'ospite ai microrganismi determina non solo il nostro benessere generale ma anche, molto probabilmente, la nostra suscettibilità a una varietà di condizioni patologiche.

Come siamo arrivati ad apprezzare questo nuovo paradigma della scienza? Come accade tipicamente, questo è stato il risultato di un rimodellamento della conoscenza scientifica che ha messo in discussione concetti errati o solo parzialmente corretti; il vecchio paradigma viene ribaltato dal nuovo paradigma.

Nozioni generali sui batteri

Nonostante i microrganismi abbiano quasi quattro miliardi di anni, siamo venuti a conoscenza della loro esistenza solo negli ultimi secoli, grazie al lavoro di pionieri come Pacini, Koch, Pasteur, Alexander Fleming e tanti, tanti altri. Questo interesse per la batteriologia è stato alimentato dalla consapevolezza che, fino a un passato recente, le malattie infettive erano le cause principali della morbilità e della mortalità degli esseri umani.

Lo sviluppo di strumenti per osservare i batteri al microscopio, per coltivarli su una capsula di Petri e per ucciderli, infine, con gli antibiotici è sempre stato in prima linea nelle conquiste scientifiche all'avanguardia e in questa dichiarazione di guerra a quelli che venivano ritenuti antagonisti del genere umano. Fino a un passato molto recente, nel campo della microbiologia e dell'immunologia, l'invasione dei microrganismi era considerata la principale causa di morte e di malattia dell'uomo. Negli ultimi 30 anni, però, questo panorama è cambiato completamente grazie a due importanti realizzazioni. La prima è stata il completamento dello Human Genome Project nell'aprile 2003.

Gli esseri umani sono davvero geneticamente rudimentali

Quando lo Human Genome Project fu lanciato nel 1990 come impegno a livello mondiale, si nutriva molto scetticismo sul fatto che potessero essere raggiunti gli obiettivi ambiziosi del progetto. Le proiezioni originali prevedevano un costo di

3 miliardi di dollari e 15 anni per raggiungere l'obiettivo di mappare il genoma umano. Il progetto è stato completato 3 anni prima del previsto con un investimento di 2,7 miliardi di dollari da parte dell'International Human Genome Sequencing Consortium, guidato negli Stati Uniti dal National Human Genome Research Institute e dal Department of Energy.¹⁵

Allo stesso tempo, uno sforzo privato parallelo con un approccio molto audace guidato dal gruppo di J. Craig Venter presso l'Institute for Genomic Research (TIGR), a Rockville, nel Maryland, ha completato anche il sequenziamento del genoma umano. Il gruppo di Venter ha raggiunto risultati simili, che sono stati presentati in una conferenza stampa congiunta con Francis Collins, direttore del National Human Genome Research Institute e con il presidente Bill Clinton nel 2000.

La portata di questo risultato si apprezza meglio attraverso le parole del premio Nobel James Watson, che nel 1953 fu colui che insieme a Francis Crick descrisse per primo la doppia elica del DNA: "Nel 1953 non avrei mai sognato che la mia vita scientifica avrebbe incluso un percorso così ampio a partire dalla doppia elica del DNA fino ai 3 miliardi di basi del genoma umano. Ma quando si è presentata l'opportunità di sequenziare il genoma umano, ho capito che era qualcosa che si poteva fare e che doveva essere fatto. Il completamento dello Humane Genome Project è un'occasione davvero importante per ogni essere umano in tutto il mondo".¹⁶

L'entusiasmo emerso dalla dichiarazione del dottor Watson era basato sull'aspettativa che il sequenziamento del genoma umano avrebbe portato alla soluzione di tutte le malattie che colpiscono l'umanità. A quel tempo, il paradigma di un gene che codifica per una proteina che causa una malattia era la forza motrice della nostra conoscenza biologica. Tuttavia, il successivo riconoscimento che l'essere umano è costituito da soli 25.000 geni codificanti, da allora declassati a meno di 23.000, ha lasciato l'intero mondo della scienza sconcertato di fronte a un grande enigma.

In qualità di presidente del TIGR, Claire Fraser ha contribuito a inaugurare il campo della genomica comparativa e a stabilire il campo della genomica microbica. Ora direttrice dell'Institute for Genome Sciences presso la University of Maryland School of Medicine, la Fraser ha notato che le prime stime del numero di geni umani si aggiravano da 75.000 a 100.000. Quando inizialmente fu riportato che il genoma umano conteneva 25.000 geni, i ricercatori rimasero molto sorpresi.¹⁷ Insieme al presunto elevato numero di geni, è stato scartato anche il concetto

di un gene come causa di una malattia. Gli scienziati sono stati costretti ad andare più in profondità per spiegare il ruolo della genetica nello sviluppo della malattia.

Come si può spiegare che uno degli esseri genetici più rudimentali, l'*Homo sapiens*, è abbastanza complesso e sofisticato da diventare la specie dominante sul nostro pianeta? Questa domanda ha costretto sia i ricercatori di base che quelli traslazionali a tornare ai loro banchi di laboratorio e agli studi clinici per cercare di dare un senso a quelli che sembravano essere risultati inspiegabili. Ciò ha portato al secondo grande risultato scientifico degli ultimi tempi, lo Human Microbiome Project, istituito attraverso il Common Fund del National Institutes of Health nel 2008.

Il nostro universo parallelo di microbi

Questo progetto, che si pone l'obiettivo di identificare e classificare i microrganismi trovati nel microbiota umano, ha sfruttato le tecnologie sviluppate durante lo Humane Genome Project. L'approccio classico allo studio dei microrganismi, cioè l'osservazione al microscopio e la creazione di colture in atmosfera aerobica, può identificare solo una piccola percentuale dell'intero ecosistema microbico presente nel nostro organismo.

Prima della rivoluzione del sequenziamento genomico che ha avuto luogo negli anni Novanta, alcuni dei microbi rimanenti venivano identificati attraverso varie tecniche, inclusa la coltura di batteri anaerobici in contenitori Square-Pak come descritto nel 1982.¹⁸ Questa e altre tecniche ci aiutano ad apprezzare la complessità storica dello studio dei microrganismi del microbioma umano, dati i suoi continui mutamenti nel tempo persino all'interno dello stesso individuo.

Con un numero limitato di geni, gli esseri umani godono di un genoma umano stabile. Lo ereditiamo dai nostri genitori e può darci una predisposizione genetica per una varietà di tratti biologici e patologici. Al contrario, il microbiota che vive in simbiosi con l'essere umano esprime 100 volte più geni del suo ospite, è estremamente plastico e può cambiare da individuo a individuo e nel tempo anche all'interno dello stesso individuo, il tutto come conseguenza di una varietà di fattori ambientali che possono modellarne la composizione e la funzione. Il nostro genoma umano si è coevoluto insieme ai trilioni di microrganismi in continua evoluzione che si trovano dentro e sopra il corpo umano.

Alla luce di questi fatti è logico e, allo stesso tempo, abbastanza allettante poter ipotizzare che noi siamo in realtà i prodotti di questi due genomi olobiontici interagenti. Studiarne uno, vale a dire il genoma umano, senza analizzare l'altro, vale

a dire il microbioma, non fornirà le risposte sul motivo per cui sviluppiamo malattie in base a uno specifico background genetico.

Inoltre limitare lo studio a un solo sistema non spiegherà perché stiamo vivendo ondate senza precedenti di malattie autoimmuni e di altre malattie croniche e, ancora più importante, cosa possiamo fare per fermare queste epidemie. Con una migliore comprensione dell'interazione di questi due sistemi e del potenziale di manipolazione del microbioma a nostro vantaggio, ci stiamo avvicinando alla promessa della medicina di precisione e preventiva, un argomento affrontato nella parte 3 di questo libro. Ma prima esamineremo il ruolo del microbioma umano nell'evoluzione umana e nella salute e malattia umana, e in particolare nelle malattie infiammatorie croniche non infettive.