

ALLEVAMENTO E POOL GENICO

PAOLO ROVRI · MERCOLEDÌ 6 FEBBRAIO 2019



(Documento di proprietà – Tutti i Diritti Riservati)

Forse avevo visto bene

INTRO

Con questo articolo vorrei cercare, con tutti i miei personali limiti, di esporre il mio pensiero su un argomento che da allevatore mi sta particolarmente a cuore, poiché ritengo che dovrebbe essere l'aspetto da tenere in maggiore considerazione da chi alleva e che invece mi pare sia abbastanza messo in disparte dalla progressiva perpetrazione di posizioni a mio avviso dannosamente integraliste tese a garantire, almeno nelle discutibili intenzioni, la tranquillità dei potenziali clienti, spesso neofiti, che si affacciano alla cinofilia, più che l'integrità di un ampio bagaglio genetico, con tutti gli inevitabili rischi del caso, rischi che mai scompariranno da questa professione. Ritengo altresì che non vi sia un allevatore al mondo in grado o nella posizione di dare garanzie di merito o certezze, nonostante gli enormi progressi della genetica molecolare, che rappresentano indubbiamente un aspetto rilevante nel mettere a disposizione degli allevatori stessi informazioni, strumenti e nozioni: da imparare, valutare e utilizzare. La genetica è però un universo molto complesso che a mio avviso non può essere banalmente sintetizzata nell'attività dell'allevare con l'applicazione in riproduzione di banali tabelline e certificati, pena la progressiva, dannosa e spero reversibile

riduzione del pool genico, visto che per ogni nuova scoperta nasce un nuovo movimento di panico, spesso promosso da chi ignora, e nuove tabelline, che progressivamente assottigliano il numero di soggetti da porre in riproduzione. Ritengo personalmente che pensare di risolvere problemi complessi con soluzioni semplici sia uno dei classici atteggiamenti che bene si sposa con quattro precise categorie: gli irresponsabili, gli integralisti, gli ignoranti, gli idioti.

GENETICA MOLECOLARE E CANE

Il progresso biomedico che ha permesso il completo sequenziamento del genoma umano si è rapidamente esteso alle specie animali, compreso il nostro amato cane. Questo ha ovviamente permesso la comprensione delle basi genetiche di diverse malattie e di spingersi a tracciare o definire relazioni tra genotipo e fenotipo, alcune ben definite e conosciute, altre meno. Ovviamente la speranza non può che tradursi in diagnosi progressivamente più accurate e trattamenti efficaci o risolutivi, attraverso la creazione di protocolli farmacologici mirati, ma come in umana ciò non è scontato o certo.

Il genoma del cane è stato completamente sequenziato nel 2005, praticamente ieri, aprendo uno scenario ove poter indagare la base genetica di molte malattie che affliggono il nostro amico. Nel cane di razza, la selezione operata dall'uomo ha prodotto centinaia di razze con fenotipi ovviamente molto diversi tra loro, che ha portato con sé anche e non certo volontariamente una selezione di varie patologie, e anche se non è semplice da capire, questo aspetto per lo studio genetico si è tradotto in un vantaggio. Nel 2009 fu creata una mappa di circa 500.000 SNPs (single nucleotide polymorphisms) attraverso il confronto di un innumerevole numero di sequenze di DNA per 12, ripeto 12, razze diverse. Questa mappa si è rivelata uno strumento importante nell'identificazione di malattie genetiche semplici (a base mendeliana) e complesse (a base poligenica).

Quale è la differenza?

Nella trasmissione di caratteri un gene-un fenotipo, quindi mendeliana, la mutazione responsabile del cambiamento nella sequenza aminoacidica (DNA), "può causare" il

cambiamento funzionale della proteina. Se la proteina coinvolta nel mutamento è metabolicamente funzionale, porterà "verosimilmente" ad un fenotipo patologico.

Invece, nel caso in cui il carattere di un fenotipo viene influenzato da più geni, quindi poligenico, è "molto più difficile identificare con sicurezza" il coinvolgimento di ciascun gene sul fenotipo studiato o mirato.

Ma perché vi è così grande interesse nello studio delle patologie a base genetica nel cane? No, non tutti i genetisti sono appassionati di cani; la verità è che le caratteristiche biologiche del cane, che è suddiviso in razze, lo rendono un eccellente "banco di test" per lo studio in umana. Infatti: la quasi totalità delle razze sono state create dall'uomo negli ultimi trecento anni di storia e praticamente tutte sono caratterizzate da un pool genico molto limitato, quindi paragonabile a quello in umana di popolazioni geograficamente isolate e caratterizzate da alto tasso di consanguineità. Pertanto, le razze canine create dall'uomo sono il classico esempio di "isolamento riproduttivo", molto ma molto più delle popolazioni umane alle quali si associa un effetto "fondatore" molto rilevante.

Per conoscenza di tutti, oggi, oltre alla sequenza completa del genoma del cane, è disponibile un range di SNPs che permette l'identificazione di circa 130.000 polimorfismi e un profilo di monitoraggio di oltre 18.000 geni (Shearin and Ostrander, 2010).

Ad oggi si possono descrivere nel cane circa 500 fenotipi a base ereditaria, all'interno dei quali 141 sono identificati come fenotipi/patologie single-locus, delle quali oltre 70 sono paragonabili a quelle che colpiscono l'uomo. Di queste patologie ereditarie è stato identificato il gene coinvolto e le trovate nella sezione "ELENCO PATOLOGIE A BASE MOLECOLARE NOTA" in questo articolo, ma non sempre l'effetto ambientale.

Oggi vi sono oltre 350 razze riconosciute ed ogni razza, come già detto, si caratterizza per fenotipo ben definito, frutto della selezione dell'uomo sin dai primi del 1800. Ovviamente al tempo la selezione di un fenotipo avvenne con l'utilizzo di un numero molto limitato di riproduttori, di conseguenza la variabilità genetica di ogni singola razza è decisamente ridotta, rispetto alla varianza genetica media tra razze pari circa al 27%. È un dato molto lontano dalle altre varianze genetiche di altre popolazioni? Consideriamo che quella tra le popolazioni umane fluttua tra il 5 e il 10 per cento, per cui si, direi proprio di sì. Nel cane sono state create moltissime razze con pool genici molto differenziati ma: molto omogenei all'interno della medesima razza per garantire la stabilità del fenotipo desiderato.

Purtroppo, ciò ha comportato anche il fissare caratteri indesiderati come le patologie e in alcune razze più frequentemente rispetto ad altre. Questo evento viene definito "carico genetico" ed è la conseguenza di un processo di selezione. La razza che oggi amate è frutto di questo processo, senza questo processo non esisterebbe la razza che oggi amate, con buona pace di tutti.

ELENCO PATOLOGIE A BASE MOLECOLARE NOTA

(solo per conoscenza, elenco parziale e potenzialmente valido per tutte le razze) Fenotipo-Gene:

Achromatopsia - CNGB3; Alopecia, colour mutant - MLPH, CDA; Anhidrotic ectodermal dysplasia – eda; C3 deficiency; Collie eye anomaly; Cone-rod dystrophy 1 - CORD1; Cone-rod dystrophy 2 - NPHP4; Cystinuria - SLC3A1; Degenerative myelopathy - SOD1, SOD2; Dermoid sinus - FGF3; Ectodermal dysplasia; Elliptocytosis – SPTB; Epidermolysis bullosa, dystrophic - COL7A1; Epidermolysis bullosa, junctionalis; Exercise-induced collapse - DNM1; Factor VII deficiency; Factor XI deficiency; Fucosidosis, alpha - FUCA1; Gangliosidosis, GM1 - GLB1; Glycogen storage disease I; Glycogen storage disease – PFKM; Haemophilia A - F8; Haemophilia B - F9; Hair length - FGF5; Hyperkeratosis, epidermolytic; Hypothyroidism – TPO; Krabbe disease – GALC; Leucodystrophy; Leukocyte adhesion deficiency - ITGB2; Malignant hyperthermia; Metabolizer of a congenital enhancer; Mucopolysaccharidosis I – IDUA; Mucopolysaccharidosis IIIA – SGSH; Mucopolysaccharidosis IIIB – NAGLU; Mucopolysaccharidosis VI – ARSB; Mucopolysaccharidosis VII – GUSB; Multidrug resistance 1; Myotonia - CLCN1; Narcolepsy - HCRTR2; Neonatal encephalopathy with seizures - ATF2; Nephritis, X-linked - COL4A6, COL4A4, COL4A3, COL4; Neuronal ceroid lipofuscinosis - TPP1; Neuronal Ceroid Lipofuscinosis, Ceroid Lipofuscinosis - cln5, CLN; Neutropenia, cyclic; Osteogenesis imperfecta; Osteogenesis imperfecta_Dachshund SERPINH1; Persistent Mullerian duct syndrome; PRA-autosomal dominant – RHO; PRA-rod-cone dystrophy type 1; PRA-rod-cone dystrophy type 2 - GNAT1, GNB3, PDE6D, CRX, C1orf36; PRA-rod-cone dystrophy type 3; Pyruvate kinase deficiency of erythrocyte – PKLR; Renal cystadenocarcinoma and nodular dermatofibrosis; Retinal pigment epithelial dystrophy - SAG, CNGA1, RPE65;

Retinitis pigmentosa - PDE6A; Retinopathy, multifocal - VMD2; Rod-cone degeneration, progressive; Sensory ataxic neuropathy; Severe combined immunodeficiency disease, autosomal – PRKDC; Severe combined immunodeficiency disease, X-linked - IL2RG; Tail, short – T; Thrombasthenia Thrombopathia; Tremor, X-linked; Von Willebrand disease I; Von Willebrand disease II; Von Willebrand disease III; Wilson disease - ATOX1, COMMD1.

IL POOL GENICO O GENETICO

È il set completo di alleli unici che verrebbero trovati esaminando il materiale genetico di ogni membro vivente di quella specie o popolazione, cioè l'insieme di tutti gli alleli di tutti i geni di tutti gli individui di una popolazione.

Di fatto è il range che caratterizza e determina una popolazione, all'interno del quale un soggetto è un temporaneo depositario di una piccola parte che contribuisce al suo arricchimento o impoverimento ogni volta che si riproduce, contribuendo al range della generazione successiva. Nel range sono ovviamente presenti il fenotipo e il genotipo. Spero vivamente che il concetto sia chiaro.

Un allevatore si auspica e tendenzialmente ragiona e lavora in quella direzione, che il pool genico sia il più esteso possibile, poiché consapevole che vi è una forte diretta proporzionalità con prole più forti. Al contrario, un pool genico ridotto causa indebolimento progressivo della razza e in natura all'estinzione (riproduzione endogama ed effetto collo di bottiglia). Più il pool genico si riduce più viene meno la variabilità genetica.

Onestamente penso che interrogarsi oggi sulle cause che determinano la perdita della variabilità genetica costituisce il primo passo per gestire responsabilmente il futuro di una razza.

A mio modo di vedere, se una razza si avvia verso una condizione di ridotta variabilità genetica, in primis gli allevatori e i vari Club di Razza che di fatto la gestiscono o dovrebbero gestirla e non farlo fare ai laboratori, dovrebbero avere il massimo interesse nel mettere in campo strategie in grado di identificare e capire quali siano le cause di questo stato di cose e credo anche che dovrebbero sentire il dovere e la responsabilità di gestire coscientemente la razza, con l'obiettivo ultimo di invertire la direzione, finché si è ancora in grado di farlo.

Come palesemente detto in precedenza, oggi vi sono conoscenze e la possibilità di indagare direttamente il genoma del cane, al fine di evidenziare, sia il reale livello di variabilità genetica oggi esistente nella popolazione, sia la possibilità di monitorarne l'andamento negli anni a venire. Sono mezzi oggettivamente potenti offerti dalla genetica molecolare per innescare concretamente un fattivo piano di salvaguardia della razza, purché vengano capiti e applicati responsabilmente in primis dagli allevatori e non utilizzati come bandierine per le allodole o come distorto vantaggio commerciale.

Oggi come non mai si sventolano esiti di test predittivi senza sapere spesso nemmeno di cosa si parla, senza alcuna cognizione di genetica e variabilità, spesso da coloro che forse hanno fatto un paio di cucciolate nella loro carriera, spesso da coloro che non sono in grado di spiegare compiutamente la patologia per cui hanno eseguito i test, spesso da neofiti che hanno letto qualcosa, spesso mentendo, come nel caso della mielopatia degenerativa (DM), oggi molto di moda, con un numero di esami autoptici (unico modo per evincere il decesso per DM e chiudere il cerchio statistico) praticamente inesistente.

Da cosa nasce la necessità di salvaguardare un pool genico ampio e di conseguenza un'alta variabilità?

- Dalla necessità di conservare forme alleliche utili e di scongiurare l'eccessiva fissazione in omozigosi di varianti alleliche che determinino il manifestarsi di patologie a base genetica. Le piccole popolazioni sono maggiormente soggette alle fluttuazioni della deriva genetica, per azione delle quali alcune forme alleliche possono essere casualmente fissate nella popolazione ed altre possono invece perdersi, con conseguente riduzione della variazione genetica ed un aumento del rischio di mutational meltdown (accumulo di mutazioni deleterie e conseguente riduzione della fitness e della popolazione);
- Dalla necessità di preservare una variabilità utile nei confronti di possibili cambiamenti degli obiettivi selettivi di una razza;
- Dalla necessità di scongiurare un impoverimento di variabilità che si traduce anche in una riduzione della fertilità e della prolificità. Nelle piccole popolazioni è ovviamente inevitabile un aumento di probabilità che soggetti strettamente imparentati tra di loro si accoppino, originando individui consanguinei (caratterizzati da un aumento dei livelli di omozigosi e maggiormente soggetti al fenomeno della depressione da inbreeding);

- Per motivazioni di ordine storico, culturale ed etico, in quanto la variabilità genetica non rappresenta solo un bene da difendere e da trasmettere a chi si troverà a gestirla in futuro ma perché qualsiasi riduzione della stessa, si rivela una pericolosa perdita sia per la razza che per l'intera specie ed infine per i responsabili della gestione genetica di una razza e per la biodiversità in generale.

Lo ripeterò sino alla nausea: la genetica molecolare è importantissima e di grande aiuto ma è uno degli strumenti per l'allevatore che deve usarlo continuando a fare l'allevatore e non altro.

Molti a questo punto potrebbero fraintendere la mia posizione. Cerco di chiarire con un esempio spero molto semplice, chiaro e un po' tendenzioso.

Ipotizziamo che io abbia a disposizione da allevatore un pretest genetico per la malattia XYZ che incide sul tasso di mortalità della razza che allevo e che vive mediamente 9 anni, per lo 0,7% in una fascia di età tra i 7 e 10 anni, ma che ha delle potenziali cause di innesco non ancora conosciute.

Per semplicità il test genetico sugli alleli può darmi questi esiti (X è l'allele mutato):

N/N omozigote - N/X eterozigote - X/N eterozigote - X/X omozigote

La mentalità imperante oggi, soprattutto per marketing e per approccio commerciale, mi imporrebbe di accoppiare solo N/N, quindi scarterei le altre tre combinazioni. Tralasciamo qui le cause di innesco non conosciute, anche se non è un aspetto del tutto irrilevante.

Di conseguenza andrei a scartare dagli accoppiamenti tutti i soggetti N/X, X/N, X/X, quindi, ragionando matematicamente i $\frac{3}{4}$ dei soggetti, considerando e sperando che la patologia sia equamente distribuita in tutte le linee di sangue. Il risultato che otterrei è un oggettivo ed innegabile impoverimento della variabilità genetica, scartando più della metà del bagaglio che magari, non è dato saperlo, potrebbe invece essere esente da patologie genetiche ereditarie percentualmente molto più importanti in termini di mortalità (vedi "ELENCO PATOLOGIE A BASE MOLECOLARE NOTA"). Inoltre, non è per nulla scontato che nell'accoppiare solo N/N con N/N si elimini definitivamente il problema in assenza di certezza del fattore scatenante, perché se così fosse, nessun allevatore al mondo avrebbe problemi nel rilasciarvi una garanzia scritta di merito. A questo si aggiunga, perché è così, che la maggior parte degli stalloni utilizzati in riproduzione sono quelli che frequentano le expo, un po' a prescindere dal pedigree e questo è l'ennesimo collo di bottiglia. Io ritengo

che questa strategia sia inutilmente integralista, miope e dannosa per la razza. La storia avrebbe già ampiamente insegnato agli allevatori che questa non è la via maestra, basti pensare agli esiti ufficiali con metodo Hip di HD ed ED (displasie di anca e gomito), per effetto dei quali moltissimi soggetti, a mio personale avviso importanti per la razza, furono estromessi dalla riproduzione. Oggi quella strategia è stata condannata dagli ortopedici, dai lettori ufficiali, dai genetisti e da una situazione che non è andata migliorando, e il consiglio è divenuto quello di lavorare su un indice che si stacchi dal solo fenotipo. Bene: moltissimi allevatori non hanno ancora capito questo, quindi non mi aspetto che questi concetti siano da tutti metabolizzati velocemente, ma bisognerebbe porsi delle domande e soprattutto evitare di divulgare informazioni forvianti o classiste (bravi, meno bravi, incapaci) solo per interesse economico, poiché ritengo personalmente che questo non si traduce in amore per la razza che si alleva.

Cosa farei io con quel pretesto?

Utilizzerei certamente N/X, X/N, N/N, quindi i $\frac{3}{4}$ della popolazione e non scarterei d'ufficio nemmeno un soggetto X/X. Non accoppierei due soggetti X/X per sola precauzione, considerando comunque che un X/X non scontatamente svilupperà la malattia e considerando che la razza che allevo, purtroppo, muore statisticamente prima e per altro.

I vecchi, tra i quali mi ci metto anch'io, una volta, allevavano prendendo come riferimento principale il pedigree e quegli stessi vecchi, anche oggi, considerano i progressi della scienza ma continuano a guardare anche il pedigree, perché sono consapevoli che sopra vi sono stampati decenni di lavoro, nel bene e nel male, che conoscono bene ed hanno il buonsenso di non dare nulla per scontato, perché questo è ciò che l'esperienza gli ha insegnato. Diversamente ho paura che accoppiando solo N/N ci ritroveremo anche qui tra dieci anni con le medesime statistiche o peggio con nuove mutazioni imputabili ad un sempre più elevato tasso di inbreeding e un pool genico verso l'estinzione.

Se si devono fare i test?

Assolutamente sì, per un banale ed unico motivo: la ricerca progredisce se viene supportata. Altri utilizzi consiglierebbero maggiore cautela, per non dire altro.

Mi permetto un timido suggerimento: smettetela di educare i neofiti ad un possibile allevamento scevro da problemi di salute sbandierando esiti di test: state spudoratamente mentendo per altri obiettivi e state facendo un enorme autogoal.

CONCLUSIONI

Io so, tu sai, egli sa, tutti sanno, tutti parlano, tutti consigliano, spesso per sentito dire. Io allevo cani, possibilmente con la morfologia caratteristica e secondo standard, cerco di dire le cose come stanno nella verità scientifica e nell'interesse di una razza, anche quando commercialmente non conviene e se mi sbaglio cerco di capire, imparo e mi ravvedo, anche se sono vecchio; io non seleziono. Selezionare è un'altra cosa, che il 99% degli allevatori non è in grado di fare (compreso me), ma dice di fare o si dipinge tale.

Poi: ognuno di Voi che mi legge ha giustamente le proprie idee, che io posso ascoltare ma non necessariamente condividere, e si merita l'allevatore che sceglie, ma sarei molto felice se si smettesse perlomeno di dire fesserie, soprattutto quando lo si fa con strumenti di grande diffusione e frequentazione come un social e magari in gruppi chiusi, dove è facile imporre la propria visione eliminando il contraddittorio e l'utente scomodo, e questo, a mio avviso, dice molto.

Se allevare fosse facile quanto compilare delle tabelline, non avremmo problemi e dibattiti.

Nella speranza di essere stato utile nel trasmetterVi qualche banale nozione di genetica, vi ringrazio e vi auguro Buoni pensieri.

Paolo Rovri

Bibliografia di riferimento:

- *Awano T, Johnson GS, Wade CM, Katz ML, Johnson GC, Taylor JF, Perloski - M, Biagi T, Baranowska I, Long S, March PA, Olby NJ, Shelton GD, Khan S, O'Brien DP, Lindblad-Toh K, Coates JR. 2009. Genome-wide association analysis reveals a SOD1 mutation in canine degenerative myelopathy that resembles amyotrophic lateral sclerosis. Proc Natl Acad Sci U S A. 106:2794-9.*

- *Castelhana MG, Acland GM, Ciccone PA, Corey EE, Mezey JG, Schimenti JC, Todhunter RJ. 2009. Development and use of DNA archives at veterinary teaching hospitals to investigate the genetic basis of disease in dogs. J Am Vet Med Assoc. 234:75-80.*
- *Lindblad-Toh K, Wade CM, Mikkelsen TS, et al. 2005. Genome sequence, comparative analysis and haplotype structure of the domestic dog. Nature. 438:803-19.*
- *Shearin AL, Ostrander EA. 2010. Leading the way: canine models of genomics and disease. Dis Model Mech. 3:27-34.*
- *Atti scivac*