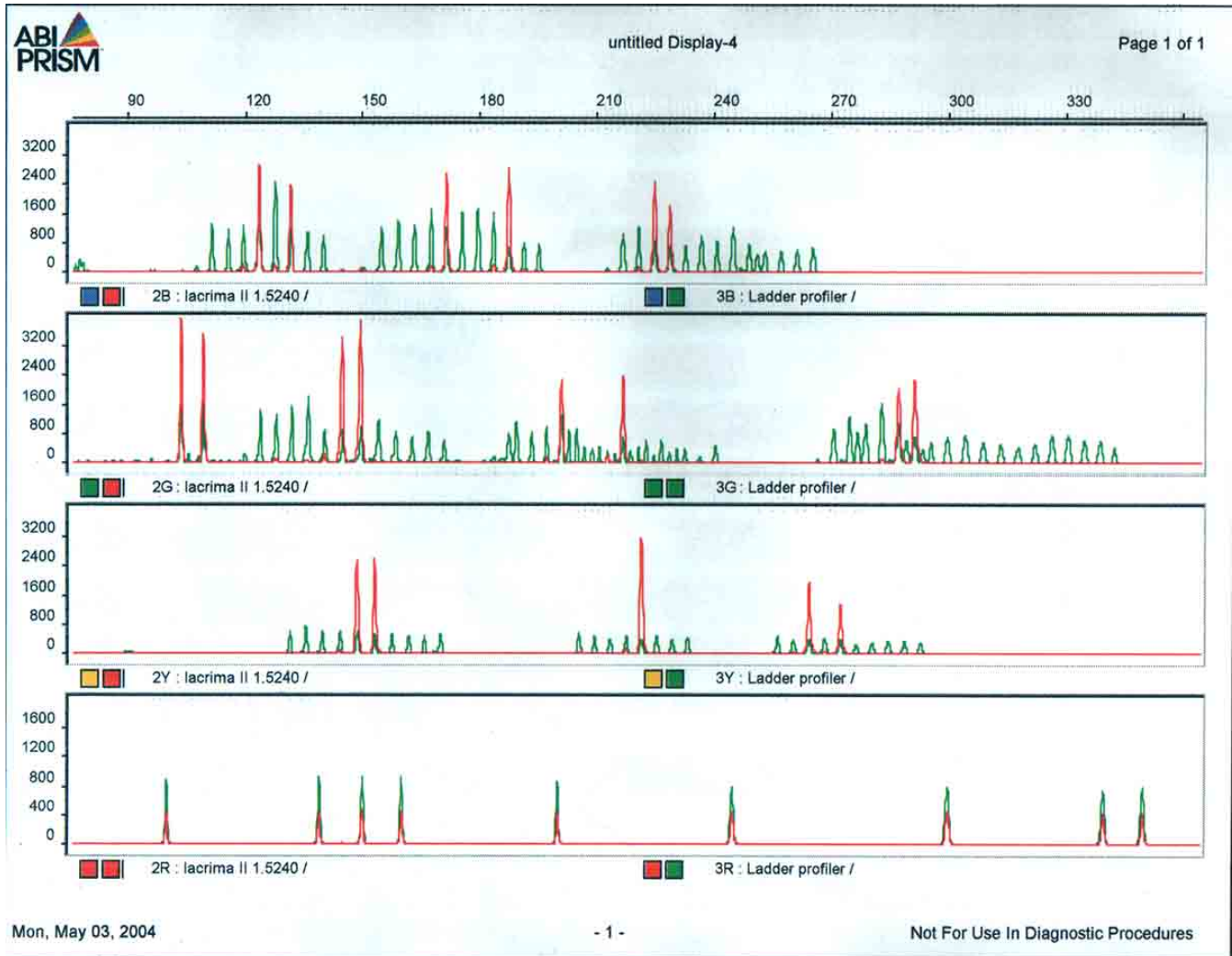


# Diagnosi genetica

Scritto da Administrator

Mercoledì 16 Ottobre 2013 16:26 - Ultimo aggiornamento Lunedì 21 Ottobre 2013 13:36



## Diagnosi genetica

Scritto da Administrator

Mercoledì 16 Ottobre 2013 16:26 - Ultimo aggiornamento Lunedì 21 Ottobre 2013 13:36

---

**Diagnosi generica di sangue.** Mira a stabilire se il materiale in esame è sangue.

Cromatografia ascendente su strato sottile: su un foglio di gel di silice si seminano poche microlitri di un estratto del materiale da esaminare; si pone la base del foglio immersa in un recipiente chiuso contenente la soluzione di scorrimento costituita, in genere, da benzene o metanolo, acetone ed acqua. La soluzione viene assorbita per capillarità e, a seconda della solubilità, si ha una migrazione differenziata sul fronte del solvente. Dopo la migrazione del solvente per 10 cm. si toglie la carta e la si riscalda in autoclave secca a 120°C per eliminare le ossidasi vegetali (le perossidasi sono termostabili), quindi si esamina con luce ultravioletta per mettere in rilievo cromogeni del rossetto o ematoporfirine, successivamente si spruzzano sulla superficie benzidina ed acqua ossigenata in due tempi, si formeranno degli "spot" colorati in presenza di emoglobina. Il coefficiente di ripartizione Rf, cioè il rapporto fra il percorso effettuato e la distanza fra deposito e fronte, è costante per ogni sostanza, dipendendo dalla temperatura ed umidità ambientale. Il confronto con i controlli permetterà di identificare la sostanza come emoglobina. Il metodo è sensibile e specifico.

**Il risultato è stato positivo.**

**Estrazione del DNA** si basa su metodi organici e metodi utilizzando colonnine di filtrazione.

**Amplificazione del DNA** si amplificano le regioni ipervariabili del DNA genomico e mitocondriale

Estrazione ed amplificazione di un controllo negativo di un frammento di tessuto non macchiato.

**Profilo genetico nucleare ricostruito mediante Profiler plus** (9 marcatori più la determinazione del sesso).

La frequenza del profilo genetico nella popolazione è stata verificata mediante la determinazione di 9 microsatelliti con un potere discriminativo pari a  $1.04 \times 10^{-11}$ .

**Il profilo genetico completo permette la diagnosi di specie umana.**

**Il sesso è risultato maschile.**

Frequenza del genotipo:

Determinazione del gruppo sanguigno mediante minisequencing:

**genotipo B/01 fenotipo B**

L'analisi dell'inferenza sul campione in esame è stata effettuata studiando la variabilità del DNA mitocondriale, ereditato per via matrilineare, e del cromosoma Y, ereditato per via paterna.

Questo tipo di analisi è basato sul concetto di filogeografia, e cioè sulla corrispondenza tra la distribuzione globale degli aplogruppi e degli aplotipi (differenti polimorfismi del DNA) e le migrazioni umane avvenute nel passato.

L'analisi delle regioni ipervariabili del **DNA mitocondriale** ha permesso di rilevare, come componente di origine materna, un aplogruppo caratteristico dell'Europa, l'aplogruppo H a cui si fa corrispondere una espansione dal corridoio Levantino nel bacino del mediterraneo 20-25000 anni fa. Si rileva peraltro come l'aplogruppo H sia il maggiormente rappresentato nelle popolazioni

## Diagnosi genetica

Scritto da Administrator

Mercoledì 16 Ottobre 2013 16:26 - Ultimo aggiornamento Lunedì 21 Ottobre 2013 13:36

---

europee con frequenza variabili tra il 30-40 %. È in corso la ripetizione dell'analisi per valutare la sequenza della regione ipervariabile II caratterizzata da un tratto di poli-C.

I polimorfismi binari associati alla regione non ricombinante del cromosoma Y (NRY) ci informano sulla origine genetica paterna della nostra specie fino al periodo corrente, permettendo di studiare l'inferenza dell'evoluzione umana, l'affinità tra popolazioni, e la storia demografica.

Questi polimorfismi del cromosoma Y (mutazioni) sono stati studiati in ordine gerarchico dei marcatori, come suggerito da Underhill. Questa analisi ha permesso di identificare 2 possibili aplogruppi con bassa frequenza e rilevabili nel nord est Europeo.

Analisi dei microsatelliti del cromosoma Y: è in corso la determinazione dell'aplotipo allargato.

### **Commento alle analisi genetiche condotte su una delle lacrime apparse su una immagine della Madonna con Bambino, indicata in seguito come "Madre del Dolore"**

#### *Introduzione metodologica*

I caratteri ereditari sono trasmessi ai figli attraverso il DNA presente nei cromosomi (in numero di 46, dei quali 23 sono di origine paterna e 23 di origine materna) e, in misura molto minore, attraverso il DNA presente nei mitocondri, organelli che forniscono energia alla cellula. I caratteri genetici non sono sufficienti per descrivere le caratteristiche dell'individuo adulto, in quanto ciò che un individuo è ad un determinato momento della sua vita è il risultato della interazione del patrimonio genetico ricevuto dai genitori con gli eventi e le caratteristiche dell'ambiente in cui l'individuo si è sviluppato, tenendo anche conto che vi è una quota di indeterminazione legata alle caratteristiche di casualità dei processi biologici che si verificano in un essere vivente, per cui, ad es. le impronte digitali della mano sinistra sono diverse da quelle della mano destra, anche se il patrimonio genetico che ne ha guidato la formazione è lo stesso.

I caratteri genetici che un individuo riceve al momento del suo concepimento sono in genere derivati da quelli dei genitori, tuttavia vi è la possibilità che, nella formazione del genoma dell'individuo (la somma del suo DNA), compaiano delle mutazioni rispetto a quello dei genitori. Tali mutazioni, se sono compatibili con la sopravvivenza, vengono poi trasmesse ai discendenti, per cui si può in qualche misura riconoscere nei discendenti la loro comune provenienza da antenati portatori di una determinata mutazione presente nel loro genoma. Le mutazioni compatibili con la sopravvivenza sono numerose, tuttavia rare se paragonate al numero totale degli individui che sono vissuti dalle origini dell'uomo fino ad ora. Per questo, considerando l'insieme delle mutazioni esistenti, è possibile riconoscere nei diversi gruppi localizzati nelle diverse parti del mondo delle configurazioni di mutazioni che in qualche modo li caratterizzano e ne identificano una comune ascendenza, o ancestralità, intendendo con questo termine la provenienza da antenati portatori delle mutazioni in essi presenti. Tale ancestralità non è tanto legata a regioni geografiche specifiche, quanto al tipo di vita, stanziale o nomade, delle popolazioni che hanno portato nelle loro migrazioni i loro tratti genetici caratteristici. Anche le patologie con base genetica presentano una distribuzione che risente delle migrazioni avvenute in passato.

Nell'ambito del DNA trasmesso dai genitori ai figli è da notare che il DNA mitocondriale deriva solo dalla madre, mentre il DNA contenuto nel cromosoma Y, presente solo nei maschi, deriva solo dal padre. Così, gli individui maschi che portano lo stesso cognome dovrebbero avere, se nati nell'ambito del matrimonio, gli stessi tratti genetici nel cromosoma Y. Studiando quindi la configurazione delle mutazioni nei due tipi di DNA si può tracciare all'indietro la ascendenza materna (DNA mitocondriale) o paterna (solo nei maschi, DNA del cromosoma Y). Quindi, a meno di possibili, ma molto improbabili, mutazioni intervenute nell'individuo stesso, lo studio del DNA permette di avere informazioni sulla ancestralità di gruppo, ma anche paterna e materna dell'individuo in questione.

Sulla base della analisi delle configurazioni di mutazioni presenti negli individui oggi viventi, appare che l'uomo ha avuto origine in Africa e si è successivamente diffuso all'Europa, all'Asia e agli altri continenti. In Europa le migrazioni sono giunte o dall'Africa direttamente, attraverso lo stretto di Gibilterra, presumibilmente in epoca paleolitica, espandendosi nel nord e centro Europa oppure da est. Le migrazioni preistoriche recenti, documentate da reperti archeologici, oppure quelle avvenute in epoca storica, andavano in genere da est a ovest. Sicuramente vi sono eccezioni, ad es. gli Indoeuropei, di cui noi facciamo parte, derivano a quanto sembra da popolazione caucasiche che poi si sono diffuse verso ovest in Europa ma anche verso sud e verso est in Iran, Pakistan e India.

I dati risultanti dalla configurazione genetica di un individuo permettono quindi di determinare, con maggiore o minore sicurezza, ma sempre a livello probabilistico, la sua ancestralità. La sicurezza può essere quasi assoluta, nel caso di una vicinanza temporale, come nelle prove di paternità.

## Diagnosi genetica

Scritto da Administrator

Mercoledì 16 Ottobre 2013 16:26 - Ultimo aggiornamento Lunedì 21 Ottobre 2013 13:36

---

Parlando invece di ancestralità lontana, si possono avere indicazioni difficilmente verificabili, tenuto conto che le caratteristiche genetiche delle diverse popolazioni europee, medioorientali e asiatiche risentono del rimescolamento di geni che vi è stato a causa di migrazioni, occupazioni militari, scambi commerciali ecc.

### *Identificazione del reperto esaminato*

Secondo quanto dichiarato da Padre Pietro Maria Chiriatti, il 3 maggio 2003 avvenne in sua presenza la comparsa di lacrime su una immagine della Madonna, in seguito indicata come "Madre del dolore". Il fenomeno avvenne alle ore 17.45 in Alberobello, via Vaccari N° 15. E' qui allegata la relazione scritta dal Padre Pietro Maria Chiriatti, nella quale è riportata anche una riproduzione della immagine (Allegato A). Lo stesso Padre Pietro Maria appose un purificatoio su una delle lacrime formatesi sulla immagine, lacrima della quale rimangono tuttora i resti sulla immagine, ottenendo la formazione di una macchia rossa sul purificatoio. Il purificatoio fu racchiuso in reliquiario, che venne poi sigillato. Il reliquiario sigillato, contenente il purificatoio, fu consegnato da Padre Pietro Maria, in presenza del Dott. Fernando Ferretti, del Prof. Pierluigi Lenzi, del Rag. Piero Plantone e di altri, alla Prof.ssa Susi Pelotti, dell'Istituto di Medicina Legale della Università di Bologna, ai primi del dicembre 2003.

### *Riassunto dei risultati ottenuti*

La Prof.ssa Pelotti, insieme con i suoi collaboratori Dott.ssa Carla Bini, Dott. Gianmarco Ferri e Dott.ssa Stefania Ceccardi, ha eseguito sulla macchia presente nel purificatoio le analisi riportate nell'Allegato B, documentando ogni passaggio della procedura di analisi con riprese fotografiche. I positivi e i negativi sono stati consegnati a Padre Pietro Maria in data 5 maggio 2004.

Come è descritto in maggiore dettaglio nell'Allegato B, i tratti genetici risultanti dal reperto di cui sopra indicano anzitutto che si tratta di sangue umano, di gruppo sanguigno B. La analisi del genoma mitocondriale rivela una ancestralità materna di tipo est europeo ed una ancestralità paterna singolare, in quanto la configurazione di tratti genetici trovata nel cromosoma Y non corrisponde ad alcuna delle configurazioni presenti sulla banca dati mondiale nella quale sono raccolti i dati di circa 22000 soggetti maschi provenienti da 187 popolazioni. Le configurazioni più prossime tra tutti i tipi disponibili si riferiscono a due soggetti greci. Complessivamente, le ancestralità materna e paterna indicano una provenienza europea orientale - mediterranea.

Per quello che può riguardare eventuali riferimenti biblici, uno spunto può essere in fatto che il re Davide aveva i capelli di colore diverso da quello comune in Israele, tanto che l'agiografo ha ritenuto di rimarcarlo "Era fulvo, con begli occhi e gentile di aspetto" (1 Samuele, 16,12).

Come nota e cautela conclusiva, vale la osservazione che in ogni caso la descrizione del genoma del sangue analizzato può dare solo indicazioni sulla ancestralità del reperto stesso, senza presumere nulla al di fuori dei fatti osservabili.

Prof. Pierluigi Lenzi  
Dipartimento di Fisiologia Umana e Generale  
Università di Bologna  
Tel 051 209 17 43  
e\_mail : pierluigi.lenzi@unibo.it

Prof.ssa Susi Pelotti  
Istituto di Medicina Legale  
Università di Bologna  
Tel 051 24 32 50 - 051 24 30 69  
e\_mail : susi.pelotti@unibo.it

