

# Lo studio di campioni archeologici umani tramite l'analisi del DNA : l'esempio della diffusione della malaria in Svizzera

Autor(en): **Virganò, Claudia / Bouwman, Abigail / Rühli, Frank J.**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **as. : Archäologie Schweiz : Mitteilungsblatt von Archäologie Schweiz = Archéologie Suisse : bulletin d'Archéologie Suisse = Archeologia Svizzera : bollettino di Archeologia Svizzera**

Band (Jahr): **38 (2015)**

Heft 4

PDF erstellt am: **13.09.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-587489>

## **Nutzungsbedingungen**

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.

Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.

Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

## **Haftungsausschluss**

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

d n a e a r c h e o l o g i a



## Lo studio di campioni archeologici umani tramite l'analisi del DNA: l'esempio della diffusione della malaria in Svizzera

— Claudia Viganò, Abigail Bouwman, Frank J. Rühli

**Lo IEM.** L'Istituto di Medicina dell'Evoluzione dell'Università di Zurigo (IEM) nasce nel settembre 2014 dall'allora Centro di Medicina dell'Evoluzione. L'Istituto realizza progetti di ricerca a livello internazionale, svolge attività d'insegnamento e fornisce servizi d'analisi su richiesta ad esterni. I ricercatori dello IEM si dedicano ad attività di ricerca nell'ambito della morfologia, della paleopatologia e del DNA antico analizzando materiale biologico antico ed i dati ad esso associati al fine di meglio comprendere le moderne patologie umane. Maggiori informazioni sull'Istituto ed i suoi ricercatori si possono trovare sul sito [www.iem.uzh.ch](http://www.iem.uzh.ch).

**L'**analisi del DNA antico consente oggi di rispondere a tutta una serie di questioni di ambito archeologico e storico. La ricerca presentata in questa sede ha come obiettivo lo studio dell'evoluzione della malaria in Svizzera.

Fig. 1  
Estrazione del DNA antico.  
*Extraktion von alter DNA.*  
Extraction de l'ADN ancien.

L'utilizzo in campo archeologico di tecniche biomolecolari, ed in particolare lo studio del DNA antico (aDNA), fornisce oggi importanti informazioni utili a far luce su numerose questioni aperte dell'antichità favorendo l'interpretazione di interrogativi di tipo archeologico, antropologico e filogenetico. Le analisi genetiche trovano una vasta applicazione e possono riguardare un singolo individuo, un gruppo o un'intera popolazione.

In Svizzera il gruppo molecolare dell'Istituto di Medicina dell'Evoluzione dell'Università di Zurigo (IEM), grazie alla collaborazione di numerosi servizi archeologici sia svizzeri che internazionali, si occupa di vari progetti di analisi del DNA prelevato da resti umani archeologici e di epoca storica.

### La malaria in Svizzera

Parte del progetto di dottorato svolto da Claudia Viganò allo IEM su «L'evoluzione della malaria e delle resistenze genetiche alla malaria in Europa», indaga la storia di questa malattia in Svizzera, dall'età del Ferro fino al Rinascimento.

La presenza della malaria sul territorio elvetico è attestata da numerosi documenti storici. Secondo i resoconti di Bruno Galli-Valerio, professore di parassitologia all'Università di Losanna tra la fine dell'800 e l'inizio del'900, i principali focolai di malaria presenti in Svizzera erano localizzati in vaste aree del Ticino, in particolare attorno

al Lago Maggiore e al piano di Magadino, nella Valle della Linth, in quella del Reno e nelle zone in prossimità dei laghi di Neuchatel, Bienne e Morat. Probabilmente queste regioni erano quelle maggiormente colpite dalla malaria anche nei secoli anteriori, a causa della loro vicinanza a corsi d'acqua e ad aree paludose, zone idonee alla sopravvivenza e allo sviluppo della zanzara *Anopheles*, vettore della malattia.

Come nel resto d'Europa, anche in Svizzera, la malaria ha afflitto la popolazione fino a circa la metà del XX secolo. La scomparsa della malattia è senz'altro imputabile alla vasta campagna indetta per debellare la zanzara anofelina ma anche ad altri fattori, in parte ancora da chiarire, come ad esempio la bonifica dei fiumi e delle zone paludose.

### Come identificare la malaria

Per identificare la malaria in una popolazione antica, si possono utilizzare due approcci: uno diretto ed uno indiretto. L'approccio diretto consiste nel ricercare direttamente nei frammenti ossei tracce di DNA delle specie di plasmodio responsabili della malaria umana: questo metodo può risultare complesso non solo perché la malaria non lascia segni specifici sulle ossa, ma anche perché il DNA plasmodico non può essere identificato se al momento del decesso l'infezione malarica non era attiva. L'approccio indiretto, sebbene non fornisca dati sull'individuo, può dare informazioni su una storia di malaria in una determinata popolazione. In questo caso si ricercano nel DNA umano alcune mutazioni genetiche che sono comparse in passato nelle popolazioni esaminate e che derivano dalla selezione naturale che questa malattia comporta. Nello studio sulla malaria in Svizzera si è deciso di seguire entrambi gli approcci, ossia, da un lato, ricercando direttamente il DNA plasmodico e, dall'altro, le mutazioni responsabili di alcune delle più frequenti resistenze genetiche alla malaria presenti in Europa.

Fig. 2  
Carta della Svizzera con i siti di provenienza dei campioni e i relativi periodi storici.

*Karte der Schweiz mit Angabe der Herkunft der Proben und ihrer zeitlichen Zuordnung.*

Carte de la Suisse indiquant la provenance des échantillons et leur période historique.

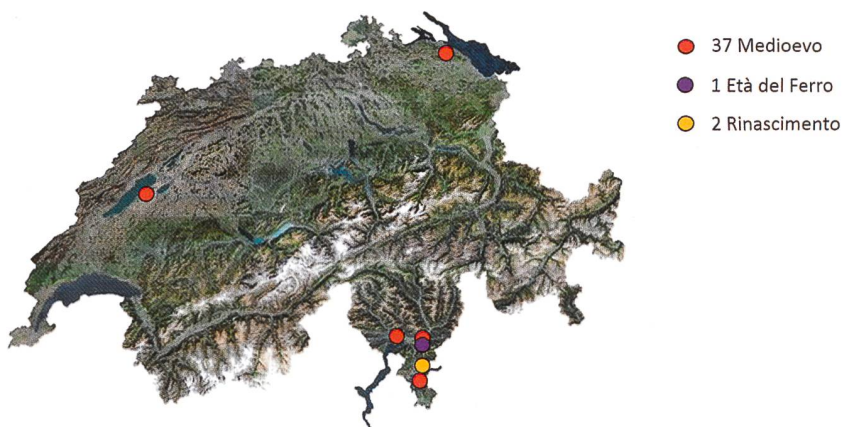


Fig. 3

Prelievo dei campioni: per evitare contaminazioni il metodo di lavoro ideale prevede l'uso di tute in Tyvec®, mascherina, retina per capelli, guanti e occhiali protettivi.

*Probenentnahme: um Kontaminationen zu vermeiden müssen Schutzanzüge aus Tyvec®, Gesichtsmasken, Haarnetze, Handschuhe und Schutzbrillen getragen werden.*

*Prélèvement des échantillons: pour éviter toute contamination, la méthode de travail idéale préconise l'usage de vêtements de protection en Tyvec® (masques, coiffes, gants et lunettes).*

**La scelta dei campioni**

Il materiale genetico viene estratto da ossa e da denti poiché questi tessuti sono di regola i meglio conservati. Di preferenza i campioni da analizzare vengono prelevati dai denti. Essi sono infatti meno porosi delle ossa e, essendo spesso ancora inseriti nella mandibola, presentano un rischio minore di contaminazione. Per lo studio sulla malaria in Svizzera sono stati utilizzati 40 denti messi gentilmente a disposizione dai Servizi archeologici dei Cantoni Ticino, Friburgo e Turgovia, cantoni in cui, in passato, vi erano verosimilmente focolai malarici.



Fig. 4

Determinazione del sesso. In blu i campioni con gli alleli XY (maschi), in rosa quelli con solo l'allele X (probabilmente femmine) ed in giallo i campioni di controllo e quelli indeterminati.

*Geschlechtsbestimmung. In blau die Proben mit den Allelen XY (männlich), in rosa jene mit dem Allel X (wahrscheinlich weiblich) und in gelb die Kontroll- und unbestimmbaren Proben.*

*Détermination du sexe. En bleu, les échantillons avec les allèles XY (masculin), en rose ceux avec seulement l'allèle X (probablement féminin), en jaune, les échantillons de contrôle et les indéterminés.*

**Le analisi comuni a tutti i progetti con DNA antico**

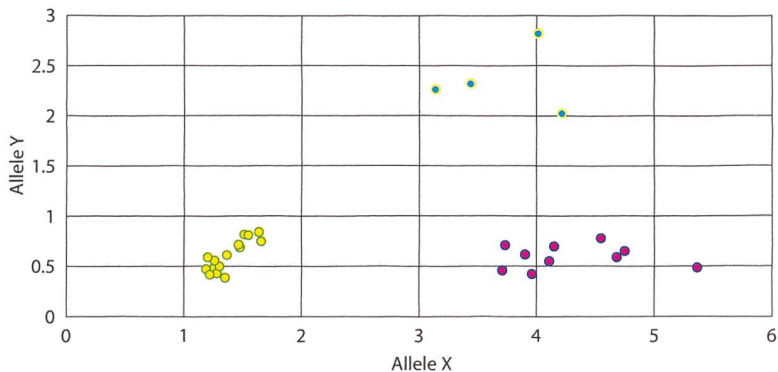
Quando si lavora con l'aDNA uno dei problemi principali è rappresentato dal rischio di contaminazione con materiale genetico moderno: per questo motivo tutte le operazioni d'analisi devono seguire rigidi protocolli ed essere effettuate in apposite strutture. Nell'anticamera del laboratorio del DNA antico, il campione viene preparato per le successive analisi seguendo delle procedure standard: irradiazione con raggi UV, pulizia della superficie con soluzione diluita di ipoclorito di sodio per ridurre il rischio di contaminazioni, polverizzazione. Quest'ultimo passaggio consente l'estrazione del DNA che avviene nella stanza più interna del laboratorio.

In ogni gruppo di estrazione vengono sempre inseriti due campioni di controllo per monitorare eventuali contaminazioni che dovessero presentarsi durante il processo di estrazione.

Dopo la misurazione della concentrazione del DNA totale di ogni campione si può procedere alle analisi vere e proprie.

La prima analisi a cui i campioni vengono sottoposti è l'amplificazione di frammenti del DNA mitocondriale tramite PCR. Questa analisi, seguita dalla clonazione e dal sequenziamento dei frammenti di DNA, permette di determinare se è ancora presente DNA umano e di identificare eventuali contaminazioni tramite il confronto col DNA degli addetti allo scavo. Per verificare la presenza del DNA nucleare si effettua l'analisi di determinazione del sesso, importante per lo studio di alcune malattie la cui trasmissione è legata al cromosoma X.

Determinazione del sesso



**Le analisi specifiche del progetto**

Nell'ambito del progetto dedicato allo studio della malaria sono stati elaborati degli appositi protocolli utilizzabili su materiale scheletrico antico per identificare la presenza della malattia sia con l'approccio diretto che con quello indiretto. Prima di eseguire l'esame dei campioni antichi queste procedure sono state testate ed ottimizzate su materiale genetico moderno in laboratori separati da quelli utilizzati per l'analisi

del DNA antico. Per i campioni antichi sono stati poi amplificati frammenti del DNA umano contenenti le possibili mutazioni genetiche responsabili delle resistenze alla malaria, nonché del DNA del plasmodio. Per i campioni che hanno dato esito positivo, si è proceduto con la clonazione e con il sequenziamento.

### Conclusione

Questo tipo di progetto permette di meglio comprendere l'importanza delle analisi dell'aDNA su campioni archeologici e di valutare quali informazioni il materiale genetico può fornire. Lo studio presentato è tuttora in corso e ha come obiettivo la raccolta d'informazioni che possano consentire, unitamente a quelle fornite dalle fonti storiche, di ricostruire la storia e l'evoluzione della malaria in Svizzera.

### Glossario

**Plasmodio.** Parassita di cui quattro specie (*P. falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae*, *P. ovalis*) provocano la malaria nell'uomo.

**Resistenza genetica.** Cambiamento ereditario nel genoma di un organismo che, conferendo resistenza verso una data malattia, rappresenta un vantaggio per la sopravvivenza. Nel caso della malaria, la resistenza genetica può essere rappresentata da una variazione di proteine cellulari o enzimi (es. deficienza di G6PD) o da una mutazione nel gene della beta-globina (parte dell'emoglobina), che causa malformazione dei globuli rossi impedendone l'invasione da parte del plasmodio (es.  $\beta$ -talassemia, anemia falciforme).

**PCR.** Polymerase Chain Reaction (reazione a catena della polimerasi). Tecnica di biologia molecolare che consente la moltiplicazione (amplificazione) del DNA in vitro.

**DNA mitocondriale (mtDNA).** È il DNA contenuto nei mitocondri e viene trasmesso unicamente per via materna per cui può essere usato per tracciare la matrilinearità. In ogni cellula umana sono contenute migliaia di copie di mtDNA.

**DNA nucleare (nDNA).** È il DNA che codifica per la maggior parte del genoma umano. Nell'uomo la maggior parte delle cellule contiene un solo nucleo e perciò una sola copia di

**DNA nucleare.** Dall'analisi del DNA nucleare si possono

ottenere numerose informazioni riguardanti l'individuo quali, per esempio, il sesso, il colore degli occhi e dei capelli, le malattie genetiche.

### Zusammenfassung

*Mittels DNA-Analysen ist es heute möglich Informationen über die genetische Zusammensetzung von archäologischen Proben zu erhalten. Damit können einige historische und archäologische Fragestellungen besser ausgewertet werden. Ein Beispiel dafür, welche Informationen aus alter DNA erhältlich sind, zeigt das Projekt «Malaria in der Schweiz» des Instituts für Evolutionäre Medizin (IEM) der Universität Zürich. Für dieses Forschungsprojekt wurde die DNA aus Zahnproben von Schweizer Fundstellen, die als alte Malariaherde gelten, untersucht, um die Geschichte und Entwicklung dieser Krankheit in der Schweiz besser zu verstehen. Im vorliegenden Beitrag wird das Vorgehen zur Entnahme und Untersuchung von alter DNA und ihre Verwendung im Rahmen des Forschungsprojekts «Malaria in der Schweiz» erläutert.*

### Résumé

Aujourd'hui, grâce aux analyses ADN, il est possible d'obtenir des informations sur la composition génétique d'échantillons archéologiques qui contribuent à l'interprétation de certaines questions historiques et archéologiques. Un exemple des résultats que l'on peut tirer des analyses de l'ADN est le projet *La malaria en Suisse*, mené par l'Institut de médecine évolutive de l'Université de Zurich. Dans le cadre de cette recherche, des échantillons provenant de sites suisses considérés comme d'anciens foyers de la malaria ont été soumis à des analyses dans le but de mieux comprendre l'histoire et l'évolution de cette maladie dans notre pays. Dans cet article sont décrits les principaux protocoles nécessaires à l'extraction et à l'analyse de l'ADN ancien et l'emploi de ces résultats au sein du projet *La malaria en Suisse*.

### Bibliografia

- Geigy R., Malaria in der Schweiz. Acta Tropica 1945, 2:1.  
 Carter R., Mendis KN., Evolutionary and Historical Aspects of the Burden of Malaria. ClinMicrobiol Rev 2002, 15:564-594.  
 Sallares R., Gomzi S., Biomolecular Archaeology of Malaria. Ancient Biomolecules 2001, 3:195-213.

### Ringraziamenti

Pubblicato con il sostegno finanziario della Mäxi foundation.

### Credito delle illustrazioni

IEM