B 5056

AZ EMBERI CSONTSZÖVET PALEOSZEROLÓGIAI VIZSGÁLATA. MÓDSZERTANI ÉS SZEROGENETIKAI ÉRTÉKELÉS

Irta:

B O D O R T I B O R

SZTE Egyetemi Könyvtár SZEGED

Doktori értekezés

Szeged

1976

B 505
SZTE Egyetemi Könyvtár SZEGED 14
ORVOSTUDOMÁNYI EGYETEM KÖNYVTÁRA Szeged
E 1.357

TARTALOMJEGYZÉK

Bevezetés	1.	oldal
A csontszövet kémiai komponensei . . .	8.	"
A vércsoport specifikus anyagok kémiai áttekintése	18.	"
A csontszövet mikroszkópos szerkezete .	27.	"
Anyag és módszer	35.	"
Az abszorbciós módszer elvi alapjai és menete	39.	"
A fluoreszcens antitest metódus elvi alapjai és menete	43.	"
Az abszorbciós és fluoreszcens antitest módszer eredményeinek összehasonlítása	60.	"
Szerogenetikai értékelés	70.	"
Összefoglalás	82.	"
Irodalom	83.	"

BEVEZETÉS

A "vércsoport" elnevezés /Blutgruppe, blood group, groupe sanguin/ a nyelvhasználatban ma már annyira meghonosodott, hogy nehéz lenne megváltoztatni még akkor is, ha helyette jobbat, a tényeknek teljesen megfelelőt tudnánk kitalálni. A megjelölés onnan ered, hogy LANDSTEINER ezt az elnevezést használta 1900-ban, amikor kimutatta, hogy az embereket vérük serologiai viselkedése alapján 3 "csoportba" /melyhez nemsokára még egy negyedik, az AB csatlakozott/ lehet beosztani.

LANDSTEINER eme korszakalkotó felfedezését közvetlenül az orvostudomány alkalmazta először a vérátömlesztéssel kapcsolatban, amelynek jelentőségét teljesen felesleges hangsúlyozni. Néhány évtizeddel később, 1925 körül kezdett kibontakozni egy másik alkalmazási lehetőség is, amely a származás megállapitásával /u.n. apasági perek/ ill. a különböző bünügyi esetekkel /személyazonositás, állati-, emberi vérnyom azonositás, stb./ volt kapcsolatos. A vércsoport meg-

határozás ma már általánosan elfogadott és alkalmazott módszer az igazságügyi orvostan és a kriminalisztika területén /HARSÁNYI, 1965, 1976; SZABÓ, 1976/. Ezen közvetlen gyakorlati alkalmazáson túlmenően a vércsoportok felfedezése /amelyért LANDSTEINER 1930-ban az orvostudományi Nobel-dijat kapta/ serkentőleg hatott a természettudományok fejlődésére is; már meglévő tudományágak bővültek ill. új tudományágak alakultak ki.

L. és H.HIRSZFELD /1919/ megállapitása szerint az ABO vércsoportok gyakorisága a különböző népességek[x] körében változó. Ez a megállapitás avatta a modern antropológia egyik vizsgáló módszerévé a recens népességek vércsoport vizsgálatát. A módszer a négy klasszikus vércsoport /A, B, AB, O/ meghatározásától - mint minimális követelménytől - a különböző alcsoportok, kiegészitő vércsoportok és szérumfaktorok meghatározásáig, azaz a teljes szerologiai profil megrajzolásáig - mint maximumig - napjainkban is egyre bővül.

x
A fajnak azt a meghatározott területét, amelyen bizonyos számú egyedek élnek fajterületnek /areálnek/, az areálban élő fajazonos egyedek összességét pedig népességnek /populációnak/ nevezzük. A különböző fajoknak a környezettel szemben támasztott különböző igényei szabják meg, hogy a fajterület és a populáció milyen kiterjedésü és elhelyezkedésü.

A különböző népességek természetesen kialakult, vagy mesterségesen létrehozott mintavételi csoportjain a vércsoportok vizsgálata ma már a fizikai antropológia hétköznapi módszerévé és kutatásainak rendszeres gyakorlatává vált. Ennek magyarázata egyrészt az, hogy 1./ a vércsoport tulajdonság bizonyos, nagyon ritka kóros esetektől eltekintve, az egész élet folyamán változatlan marad, tehát az egyénnek olyan értékü biológiai jellemzője, mint pl. a neme; 2./ másrészt pedig az, hogy a vércsoportok öröklődése a MENDEL ill. a HARDY-WEINBERG törvények alapján pontosan követhető egyik generációról a másikra.

A vércsoport-meghatározás a modern antropológiában egy új, kombinált kémiai-analitikai, szerológiai és szövettani metodika szerves része. Ezen új módszer a biokémiai és szövettani vizsgálatok megfelelő összehangolásával a friss, bonctermi csontok elemzését teszi lehetővé. A történeti korú csontmaradványok hasonló vizsgálatai a következő lehetőségeket nyújtják /LENGYEL, 1968/:

1./ Azokon a különböző tulajdonságokon és alapvető következtetéseken túl, amelyen az általánosan elfogadott módszer alapul, az új technika lehetővé teszi a metrikus analizis adataiból levont következtetések ellenőrzését.

2./ A történeti korú csontok kémiai és strukturális felépitésének változása és a boncteremből származó csontok morfológiai és kémiai tulajdonságának

összehasonlításával az új methodika lehetőséget ad a történeti népességek ökológiájára vonatkozó következtetések megtételére.

3./ Az új technika a kiásott csontváznak csupán néhány darabját igényli és igy is megbizható eredményt kapunk még abban az esetben is, ha a csontváz hiányos vagy rossz megtartású.

4./ Egy temető teljes csontvázanyagát vizsgálva az új módszer olyan információkat ad, amelyet az egész népesség vagy minden egyes különálló egyed biológiai rekonstrukciójához felhasználhatunk.

5./ A talajban lévő csontok bomlásának mértékéből kapott információval az új technika - speciális esetben - a kiásott sorozatok kronológiai sorrendjére engedhet meg következtetéseket.

Az új módszer keretén belül végzett vércsoport meghatározás eredményeit nemcsak a kombinált methodika adataival együtt, hanem önmagukban is hasznosithatják a következő tudományágak.

A kapott megfigyelések felhasználásával a humánbiológia bizonyos genetikai, etnogenetikai megfigyeléseket tehet. Tanulmányozhatja a vércsoport tulajdonságok adott megoszlásának kialakulását a történeti múltban, továbbá olyan zárt csoportok génfrekvenciájának generációs változásait, mint amilyen zárt csoportok, izolátumok a történeti múltban általános vagy legalábbis gyakori társadalmi formációk lehettek, de azok már egyre ritkábban lelhetők fel.

A történeti embertan, a taxonómiai eloszlás - ha szükséges - a morfológiai struktúrákat még egyedi tulajdonságokkal, a vércsoport tulajdonsággal is kiegészitheti.

Értékesitheti a régészet a vércsoportok ismeretében levonható következtetéseket oly módon is, hogy a történeti népességek összehasonlitása során szerológiai profiljuk azonosságait vagy különbségeit használja támpontul /BODOR, 1974/. Egy adott népességtöredék szerológiai struktúrájának több generáción át történő követésével lehetőség nyilhat ennek változásaiból bizonyos exogen behatások felderitésére.

A vércsoport tulajdonságok révén kialakuló előnyös vagy hátrányos szervezeti adottságok a fertőző betegségekkel szemben /VOGEL, PETTENKOFER és HELMBOLD, 1960; SPRINGER és WIENER, 1962; VOGEL, 1970; EVANS, SHEPARD és RICHARD, 1972/, mint a természetes szelekció egyik megnyilvánulása egy adott etnikai csoport szerológiai karakterének kialakulásában is egyik fontos tényező lehet.

A táplálék szénhidrát-fehérje-zsir komponenseinek aránya ugyancsak befolyásolja egy etnikai csoport szerológiai karakterének kialakulását /KELSO, 1962; KELSO és ARMELAGOS, 1963/.

A táplálék minőségi összetételétől függ a bélflóra összetétele is /SPRINGER, WILLIAMSON és BRABDES, 1961; WILSON és MILES, 1964/ bizonyos körülmények kö-

zött pedig a bélflóra összetételének fontos szerepe van a belek hurutos megbetegedései okozta mortalitás alakulásában /GORDON, CHITAKARA és WYLON, 1963; GORDON és SCRIMSHAW, 1965/.

A globulin szekréció szintén fontos szerepet játszik egy adott népesség szerológiai karakterének kialakitásában ill. védelmében akkor, amikor az egy másik népcsoporttal keveredve exogen behatásnak van kitéve. Gondolunk itt a szekrétor-nonszekrétor státusú egyének megoszlása és vércsoportjuk előfordulása közötti kapcsolatokra /EICHNER, FINN és KREVANS, 1963/ ill. a hüvelyváladék és a spermiumok immunológiai viszonyának befolyására a megtermékenyités lehetőségére /GERSHOWITZ, BEHRMAN és NEEL, 1958; BEHRMAN, BUETNER-JANUSCH, HEGLAR, GERSHOWITZ és TEW, 1961; EDWARDS, FERGUSON és COOMBS, 1964/.

A felsorolt valamennyi tényezőnek fontos szerepe lehet egy népesség szerológiai karakterének kialakitásában és szerepük fontosságát a földrajzi környezet teremtette klimatikus és egyéb természeti adottságok /MAZZA, SCHÜRMANN és GUTDENTCH, 1933; IMBELLONI, 1938; MANUILA, 1956; MOURANT, KOPEC és DOMANIEWSKA-SOBCZAK, 1958; RUFFIÉ, 1966/, gazdasági és társadalmi tényezők, a civilizációs, hygienés /SALDANHA,1956/, valamint technikai viszonyok szabják meg egy adott történeti periódusban, egy adott népességre vonatkozóan.

A fenti alkalmazási lehetőségek felsorolása - mely korántsem teljes - egyértelműen alátámasztja azt a tényt, hogy a különböző recens népesség csoportok vércsoportjainak vizsgálata szükséges; és ezek a vizsgálatok ma már kiterjedten folynak is /BOOTH, 1971; GARRETT és mtsai, 1971; FRIORI és BENCIOLINI, 1972; THORDARSON és mtsai, 1972; B.M. DAS és mtsai, 1973/. Történeti népességek esetében azonban különösen a szerológiai génfrekvenciák összehasonlitásán alapuló etnikai kapcsolatok felderitésére irányuló humángenetikai és paleoszerológiai kutatások "járnak még gyermekcipőben", jóllehet eredményes próbálkozások már születtek /LENGYEL és NEMESKÉRI, 1963, 1970; FARKAS, LENGYEL és MARCSIK, 1971; BODOR, 1972, 1973, 1974; LENGYEL, 1975/. Az ilyen irányú vizsgálatok tapasztalatainak gyarapitása céljából két fő kérdésre kerestük a választ:

1./ Van-e különbség az általánosan elterjedt abszorbciós módszer ill. az utóbbi időben kifejlesztett fluoreszcens antitest methodus eredményei között a történeti korú csontanyag ABO vércsoport meghatározását illetően ?

2./ Az általunk vizsgált temető a rendelkezésre álló, szerológiailag már elemzett azonos történeti korú temetők közül melyikkel mutat hasonlóságot szerológiai profil tekintetében ?

Ahhoz, hogy a fenti kérdésekre választ próbáljunk adni, mindenekelőtt célszerű ismertetni vizsgálati anyagunk - jelen esetben a csontszövet - kémiai és morfológiai felépitését.

A CSONTSZÖVET KÉMIAI KOMPONENSEI

A csontszövet biológiai funkciójának megértéséhez természetesen nem elég tételesen ismernünk annak kémiai komponenseit, vagy megadnunk mennyiségi mutatóikat valamilyen átlagérték formájában, hanem a csontszövetet, mint egy szubmikroszkópos dimenzióban egységessé szerveződött biológiai struktúrát kell tekintenünk. Csak igy válik érthetővé szervezetünkben betöltött kettős szerepe, ti., hogy

1./ a csontok kiváló mechanikai tulajdonságaik révén mozgásunk passziv szervei és, hogy

2./ a csontszövet különleges fizikokémiai tulajdonságai révén nélkülözhetetlen tényezője szervezetünk ion-háztartásának.

Egyéb szöveteinkhez hasonlóan a csontszövet is 1. vizből, 2. szerves és 3. szervetlen anyagokból épül fel. E három komponens aránya a csontváz különböző szerkezeti felépitésü csontjaiban a kérgi és a szivacsos állomány arányától függően változó. Ezenkivül mennyiségi viszonyaikat élettani /pl. öregedés/ és kórtani /pl. hiánybetegségek, hormonzavarok/ folyamatok is befolyásolják. A csontszövet kémiai összetételének tárgyalásakor főképp HERRING /1972/, LENGYEL /1972, 1973, 1975/ és ENGSTRÖM /1972/ publikációira támaszkodunk.

1. A csontszövet víztartalma

A víz összmennyisége a csontszövet súlyának 6-20 %-a. Három különböző formában található:

a./ kötetlen víz formájában szabadon áramlik az intercelluláris résekben,

b./ hidratációs víz formájában a csontszövet nagymolekulájú szerves komponenseihez kötődve,

c./ abszorbeált vagy inkorporált formában a csontszövet alapállományát impregnáló mikrokristály-struktúrákkal szoros kapcsolatban.

2. A csontszövet szerves anyagai

Kétségtelen tény, hogy a biokémiai vizsgálómódszerek fejlődésével párhuzamosan, különösen az utóbbi évtizedekben, a különböző emberi szövetek szerves komponenseiről kapott információk mennyisége is ugrásszerűen megnövekedett. Igy a csontszövetet felépitő szerves anyagok minősége és mennyisége is többé-kevésbé tisztázódott, de EASTOE és COURTIS /1963/ valamint HERRING /1972/ számos problémát vet fel ezzel kapcsolatban. Mindezek figyelembe vételével a következőkben megpróbáljuk főbb vonalakban összefoglalni a csontszövet szerves komponenseit; esetenként azok szubmikroszkópos strukturáját is érintjük.

2.1. A kollagén

A csontszövet alapvető szerves komponense a kollagén. Ennek biokémiai és szubmikroszkópos morfológiai tanulmányozása sok nehézséget rejt magában. Talán legfőbb probléma a csontszövet esetében a rendkivül kemény anorganikus apatit kristályok jelenléte, amelyek e szövet szerves matrixát impregnálják. Éppen ezért az organikus anyagok vizsgálata céljából a szervetlen anyagokat el kell távolitanunk. A decalcinálás leggyakrabban különböző savakkal történik /általában n HCL vagy 0,5 n ecetsav/, bár ezek alkalmazása nem szerencsés, mivel a dialysis káros hatása - különösen akkor amikor a decalcináció több hetet vesz igénybe - gyakran megnyilvánul /HERRING, 1972/. Sokkal célravezetőbb módszernek tünik az etiléndiamintetraacetát alkalmazása. /A demineralizáció jelen vizsgálatainknak is sarkalatos kérdése, ezért az Anyag és módszer c. fejezetben ezzel részletesebben is foglalkozunk./

A kollagén összmennyiségében a csontszövet súlyának 10-30 %-a, lényegében a szkleroproteinek csoportjába tartozó óriásmolekula. Felépitésében különböző aminosavak vesznek részt: jelentősebb mennyiségben a glicin /a teljes aminosav tartalom egyharmada/, az alanin, a prolin és hidroxiprolin /egyenként kb. egykilenced rész/. Ez a négyféle aminosav a kollagén ami-

nosav mennyiségének kb. 65 %-a ! Természetes - mint a későbbiekben látni fogjuk -, hogy ezeknek döntő szerepe van a kollagén molekula elsődleges struktúrájának kialakitásában. A többi szkleroproteinnel /selyemfibroin-β-keratin csoport, α-keratin-miozin-fibrinogén csoport/ szemben viszonylag kevés benne a leucin, fenilalanin és a tirozin. Ezeken kivül kisebb-nagyobb mennyiségben aszparaginsav, treonin, szerin, glutaminsav, valin, metionin, izoleucin, hidroxilizin, lizin, hisztidin és arginin mutatható ki.

Érdekes, hogy a kollagén aminosav minőségi és mennyiségi összetétele a különböző speciesekben eltérő, de ugyanazon speciesben a különböző szövetekben meglehetősen hasonló; továbbá a kollagénen kivül egyetlen állati szövet-komponens - az elasztin - tartalmaz csak hidroxiprolint, sőt a hidroxilizin egyedül a kollagénben található.

A kollagén térszerkezete úgy alakul ki, hogy a kötőszöveti sejtek /fibroblasztok/ először a 300.000 molekulasúlyú t r o p o k o l l a g é nt épitik fel, amely három láncból áll, s ezek önmagukban csavarszerü felépitésüek /menetenként három aminosavval és 8,6 Å identitási periódussal/. A három lánc sodrony módjára csavarodik össze és hidrogénkötésekkel kapcsolódik egymáshoz. A teljes molekula 2800 Å hosszú, és csupán 14 Å vastagságú. Három egymást követő aminosavgyök közül kettő prolin vagy hidroxiprolin, a harmadik pedig mindig glicin. /Vö. a kvantita-

tiv aminosav analizis eredményeivel !/ A kollagén rostok azáltal jönnek létre, hogy számos tropokollagén molekula egymásra és egymás mellé helyeződik, a szomszédjához képest mindenkor egynegyed molekulahosszal eltolva. A rostok között kovalens kötésekkel térháló alakul ki; a térhálósodás az életkor előrehaladtával egyre erősebb lesz. A savanyú és bázikus aminosavak a rost meghatározott helyein halmozódnak fel, ezért fémsókkal végzett festés útján elektronmikroszkóposan harántcsikolt képet kapunk.

2.2. A "rezisztens" protein

A csontszövet ezen organikus komponense tulajdonképpen gyüjtőfogalom, amely mindazoknak a fehérje természetü anyagoknak a jelölésére szolgál, amelyek főzéssel szemben a kollagénnél ellenállóbbak. Aminosavjaik összetétele eltér a két kötőszöveti rost /a kollagén és az elasztikus rost/ - eltekintve a harmadik, a rácsrost - összetételétől:

a kollagénnel szemben nem tartalmaz hidroxiprolint, glicint, és prolin tartalma alacsonyabb viszont,

az elasztinnal szemben az alanin és valin tartalma alacsonyabb,

de mindkettőnél gazdagabb tirozinban.

A csontszövet rezisztens protein tartalma valószinüleg az osteocyták sejtfészkeinek falát alkotó Neumann-féle hüvely állományából származik. Ennek

anyaga ugyanis főzéssel, valamint savanyú és lúgos behatásokkal szemben ellenállóbb, mint a csontszövet egyéb szerves komponensei. Összmennyisége a csontszövet 0,5-3 %-a.

2.3. A protein-poliszacharida /PP/ komplex

Talán ez az a vegyületcsoport, amelynél a nomenklatúra mind a mai napig "nem talált közös nevezőt". Ti. a "glykoprotein", a "proteoglycan" és a "szénhidrát-protein" fogalmak egyaránt használatosak. A magunk részéről ezen egy olyan heterogén összetételü csoportot értünk, amely nagymolekulájú globuláris fehérjékből, savanyú mukopoliszacharidákból és poliszacharida egységekből áll.

a./ protein komponensének aminosav összetételéből /a kollagénnel szemben/ hiányzik a hidroxiprolin, kevesebb benne az alanin, glicin és prolin, de gazdagabb leucinban és tirozinban. Aminosav összetétele és papirelektroforézises vizsgálatának eredményei alapján messzemenő hasonlóságot mutat a szérumfehérjék globulinfrakciójával !

b./ savanyú mukopoliszacharida /glükózaminoglikán/ komponense 1,2 %-os ecetsavban való oldhatósága alapján egy oldékony "A" és egy oldhatatlan "B" frakcióra különithető.

Az "A" frakció olyan kondroitinszulfát, amelynek hexózamin komponense galaktózamin.

A "B" frakció ekvimoláris arányban tartalmaz galaktózt és acetil-kondrozamint.

c./ poliszacharida komponense tri-, tetra- és pentaszacharida egységekből áll. Mivel ezek azok a kémiai komponensek, amelyek a vércsoport specifitásért felelősek, s vizsgálataink tárgyát képezik, egy másik fejezetben részletesebben taglaljuk. /Érdemes megjegyezni, hogy a protein-poliszacharida komponens nagyfokú kémiai hasonlóságot mutat a porcszövet alapállományát felépitő nagymolekulájú komplex vegyületekkel, valamint a vérsavó szerológiailag aktiv fehérje és cukor vegyületeivel./

2.4. Nitrogénmentes szerves anyagok

a./ Lipidek: a foszfolipidek és a szteránvázasok csoportjába tartozó zsirnemü anyagok csak nyomokban lelhetők fel a csontszövetben /más lipidféleség nem található benne/, valószinüleg nem csonteredetüek.

b./ Citrát: szervezetünk összcitráttartalmának mintegy 70 %-át a csontszövet tárolja. Koncentrációja a vizsgált csont szerkezeti felépitésétől, az egyén nemétől és életkorától függően változik, általában 1,0 % körüli értéken mozog.

3. A csontszövet szervetlen anyagai

3.1. A kalcium: összmennyiségében a csont súlyának 11,5-25,0 %-a. Részaránya a csontok kérgi állományában magasabb, mint a szivacsosban. Abszolút mennyiségét az egyén életkora és bizonyos kóros folyamatok is befolyásolják. Szerves és szervetlen vegyületi formájában és ionizált formában fordul elő.

Egyetemi Könyvtár SZTE SZEGED 14.

3.2. A foszfor: a csont súlyának 8-16 %-a. Mennyisége függ a csontszövet kalcium tartalmától /nagyjából állandó Ca/P arány ~ 1,667/, az egyén életkorától és bizonyos kóros folyamatoktól. Szerves és szervetlen vegyületek, valamint szabad orto-, meta- és pirofoszfát anionok formájában fordul elő.

3.3. A karbonátok: összmennyiségében a csont súlyának 1,5-5,0 %-át teszi ki. Mennyiségük a csontszövetben az alapállomány egyéb anorganikus komponenseinek mennyiségi viszonyaitól, valamint élettani és kórtani folyamatoktól függően változik. Alkáli- és hidrogénkarbonátok formájában, valamint oxianion formában fordul elő.

A csontszövet anorganikus frakciójának 70-80 %-a apatitszerü kristályos strukturrendszerré szerveződött, amelynek térbeli viszonya a kollagénrostokhoz és az alapállományhoz pontosan meghatározható. A kristálystrukturák alapegységei 9,4 x 9,4 x 6,9 Å nagyságú hexagonális lemezkék, melyek egyik hosszanti szimmetriatengelyükkel a kollagénrostokon /vagy kollagén rostokban/, azok hosszanti lefutásával párhuzamosan helyezkednek el. A kollagén rostokat felépitő polipeptid láncok bizonyos, rendszeresen ismétlődő molekulacsoportjai, mint kristályosodási csomópontok szerepelnek a rostoknak anorganikus anyagokkal történő impregnálódása során.

A csontszövet alapállományát és kollagén rostjait impregnáló apatitszerü kristályok kémiai felépitésére az alábbi egyensúlyi rendszer képlete látszik a legvalószinübbnek:

$$Ca_9/PO_4/_6\ H_2/OH/_2 + CaCO_3 = Ca_{10}/PO_4/_6/OH/_2 + CO_2 + H_2O$$

A kristálystrukturák nyolc alapegységéből egy nagyobb, egybefüggő kristályrendszer szerveződik úgy, hogy az alapegységnek több mint egynegyede a nagyobb szerkezeti egység felszinén helyezkedik el. A felszini helyzetü alapegységek adszorbciós és szubsztituciós tulajdonságai jól érvényesülhetnek és ezáltal megszabják az egész szerkezeti egység fizikokémiai viselkedését. A kristálystrukturák felszinét kettős rétegben vizburok övezi, a két vizburok között pedig az intersticiális folyadékból adszorbeált ionok rétege helyezkedik el. A kettős vizburok térfogata nagyobb, mint magáé a központi helyzetü kristályé. A kristályok ioncseréje ebben a két vizburok közötti ionrétegben zajlik le, mely K^+, Na^+, Ca^{++}, Mg^{++}, citrát$^-$, CO_3^{--} ionokat adszorbeálhat. A csontok szivacsos állományában levő kristálystrukturák anyagcseréje gyorsabb ütemü, mint a kérgi állományban levőké.

Az egyén biológiai korának előrehaladtával csökken a kristályok hidratációs burkának rétegvastagsága és lelassul az ionok kicserélődésének üteme.

3.4. A nátrium: lágyrészmentes, szárított csontban 7 g/kg mennyiségben található. Az oldhatatlan kalcium-oxalát komplexszel együtt precipitálódva kerül a csontba és a már lerakódott nátrium kicserélődésének üteme a csontokban csak mintegy fele sebességü, mint a lágyrészekben. Főleg apatitszerü kristályok vizburkai között levő ionrétegben helyezkedik el.

3.5. A magnézium: összmennyiségében a csont súlyának 0,02-0,04 %-a. Diffuzibilis kationok formájában ill. szerves kötésekben fordul elő. Mennyiségét nagymértékben befolyásolja a táplálék magnézium tartalma. A csontosodási folyamatokban fontos szerepet játszó alkalikus foszfatáz enzim egyik aktivátora.

A csontszövetben - fentebb említetteken kivül - természetesen még számos szervetlen komponens mutatható ki, pl. a fluor /mely az apatitkristályok prototipusának, a fluoroapatitnak, egyik összetevője/, klór, stb.

A VÉRCSOPORT SPECIFIKUS ANYAGOK KÉMIAI ÁTTEKINTÉSE

Az egyes vércsoportok specifitásáért felelős szerológiailag aktiv anyagok kémiai természetének kutatása már LANDSTEINER inhibiciós módszerének kidolgozásakor megindult /LANDSTEINER, 1947/. A számtalan vizsgálat eredményeiben az alábbi megállapitások egybehangzóak:

1. A szövetekből, testnedvekből ill. a váladékokból egy olyan, a vércsoport specifitásáért felelős anyag izolálható, amely vizoldékony makromolekula; 80-90 %-ban szénhidrátokat és 10-20 %-ban aminosavakat tartalmaz. Az anyag molekulasúlya 500.000 körül van, a makromolekula hét /némely esetben nyolc/ cukor molekula kombinációjából felépülő mintegy 300 szénhidrát láncból /mindegyik végén egy-egy nem redukáló csoporttal/ és mintegy tizenöt aminosav kombinációjából állanak.

2. A cukorláncok és az aminosavból felépülő rész alkálilabil O-glikozida kötéssel kapcsolódik egymáshoz, amelyek kialakitásában N-acetil-galaktózamin és szerin, ill. treonin molekulák vesznek részt /PUSZTAI és MORGAN, 1963; ADAMS, 1965; MORGAN és WATKINS, 1969/.

3. Az A és B csoportspecifitást hordozó immunodomináns anyagokban N-acetil-D-galaktózamin és D-galaktóz molekulák szerepelnek, amelyek a cukorláncok nem redukáló végcsoportjai és α-glikozida kötéssel kapcsolódnak a szomszédos cukor molekulákhoz.

4. A H és az Le^a specifikus anyagok immunodomináns cukraiban α-L-fukozil reziduum található.

5. A csoportspecifikus anyagok karakterét nem csupán szerodomináns cukraik határozzák meg, hanem fontos szerepet játszik még ennek kialakitásában az immunodomináns cukrok szomszédságában levő szénhidrát molekula minősége és a kialakitott glikozida kötés helyzete is.

6. A csoportspecifikus anyagok enzimatikus hasitása révén ahhoz, a mindegyikükben előforduló diszacharida egységhez juthatunk, amely ezen anyagok prekurzorának tekinthető:

az A ill. B csoportspecifikus anyagokból egy N-acetil-glükózamin illetőleg egy glükóz molekula lehasitásával H specifikus anyag alakitható,

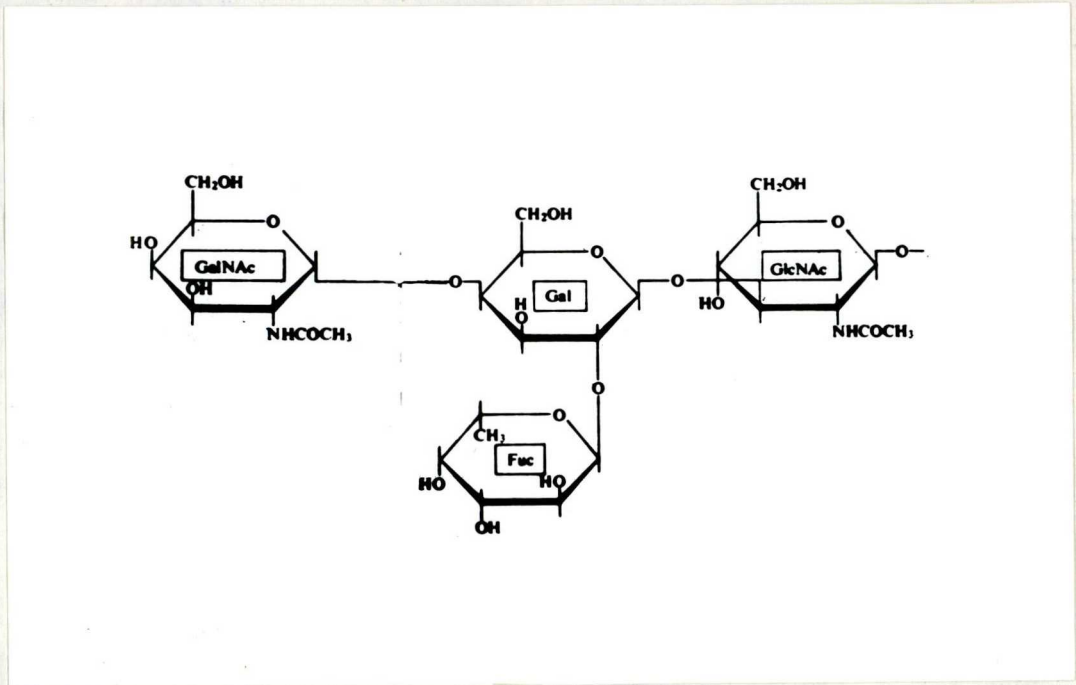
a H csoportspecifikus anyagból egy L-fukóz molekula lehasitása révén Le^a specifikus anyag keletkezik,

az Le^a anyagot további enzimatikus bontással a pneumococcus XIV "antiszérumává" lehet alakitani, amelyet valamennyi vércsoport prekurzorának tekinthetünk. Ez a prekurzor anyag olyan szénhidrát láncokat tartalmaz, amelyek 1-3 vagy 1-4 kötéssel kapcsolódó β-galaktozil és N-acetil-glükózamin felépitésü, diszacharida egységekre végződnek /WATKINS, 1966/.

Az A anyag legaktivabb strukturája egy tetraszacharida /1. ábra//PAINTER és mtsai, 1965/, valamint

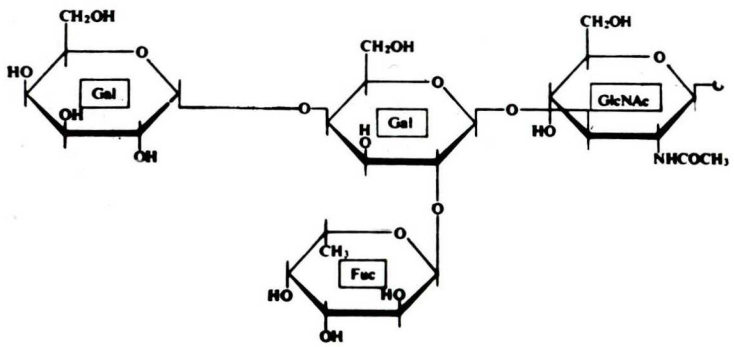
ugyanezt a tetra-szacharidát tartalmazó redukált penta-szacharida /LLOYD és mtsai, 1966/.

Ehhez hasonlóan a B anyag legaktivabb fragmentuma ugyancsak tetra-szacharida /2. ábra//PAINTER és mtsai, 1965/ és ugyanezt a tetra-szacharidát tartalmazó redukált penta-szacharida /LLOYD és mtsai,1966/.



1. ábra

Az A vércsoport specifikus anyag legaktivabb tetraszacharida komponensének kémiai strukturája.
Gal: D-galaktóz; Fuc: L-fukóz; GlcNAc: N-acetil-D-glükózamin; GalNAc: N-acetil-D-galaktózamin



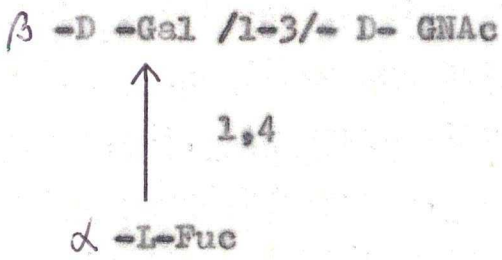
2. ábra

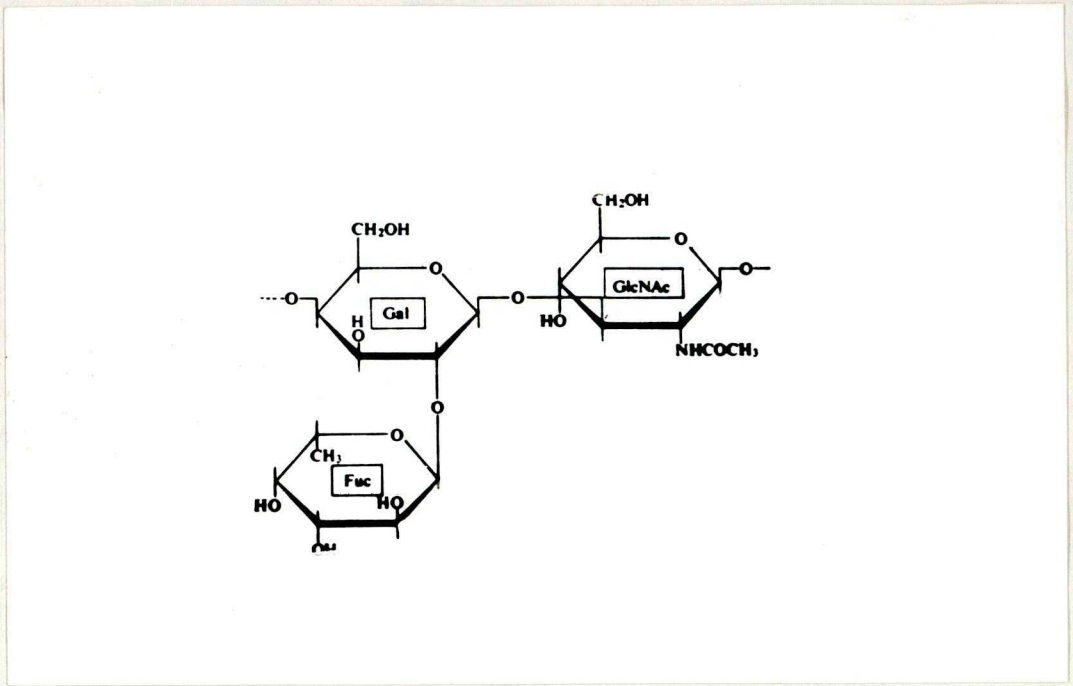
A B vércsoport specifikus anyag legaktivabb tetraszacharida komponensének kémiai struktúrája.
Gal: D-galaktóz; Fuc: L-fukóz; GlcNAc: N-acetil-D-glükózamin

Ezeket a tetra-szacharida egységeket alkalikus bontás eredményeképpen nyerhetjük a csoportspecifikus anyagokból, míg savas hidrolizisük két aktiv tri-szacharida egységhez vezet, amelyek egymástól csak szubterminális galaktóz molekuláinak az N-acetil-glükózaminhoz való kapcsolódásában különböznek: az egyik 1-3, a másik 1-4 kötést alakit ki. Ezeknek a tri-szacharidáknak hiányzik a savérzékeny fukóz oldalága. Mindezek alapján feltételezhető, hogy az intakt A és B anyagokban egy másik szerológiailag aktiv tetra-szacharida is létezik, amelyben 1-3 kötések helyettesitik az 1-4 kötéseket. A specifikus anyagok makromolekuláiban tehát legalább kétféle aktiv struktúrából alakulhatnak ki a szénhidrátláncok nem redukáló végcsoportjai /LENGYEL, 1975/.

A O csoportú szekrétor egyének egy H specifikus anyaggal rendelkeznek, amely két szerológiailag aktiv tri-szacharidát tartalmaz /RACE és SANGER,1962/: az egyik 1-3 glikozida kötést alakit ki a nem redukáló galaktóz végcsoportja és az N-acetil-D-glükózamin molekula között /3. ábra/; míg a másik tri-szacharida ugyanezen két komponense között 1-4 glikozida kötés mutatható ki /REGE és mtsai, 1964/.

Azok a non-szekrétorok, akik az ABO rendszer valamelyik csoportjához tartoznak, gyakran szecernálnak egy szerológiailag Le^a anyagnak emlitett makromolekulát. Ez egy tri-szacharida /REGE és mtsai, 1964/:

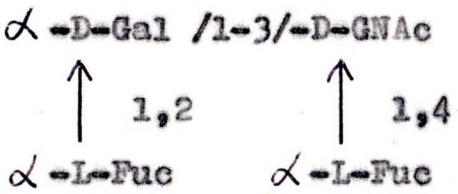

β -D -Gal /1-3/- D- GNAc
1,4
α -L-Fuc



3. ábra

A O vércsoportú egyének H specifikus anyagának egyik aktiv tri-szacharida komponensének kémiai strukturája. Gal: D-galaktóz; Fuc: L-fukóz; GlcNAc: N-acetil-D-glükózamin

Az $\underline{Le}^b$ jelölésü csoportspecifikus anyag az ABO rendszer bármelyik csoportjához tartozó szekrétor egyénnél megtalálható egy HLe^b tetra-szacharida formájában /KABAT, 1956/:



Egy igen hasonló tetra-szacharidát izoláltak LLOYD és mtsai /1966/ a $\underline{H}$ specifikus anyagból, amely azonban nem mutatott $\underline{Le}^b$ aktivitást. Ennél az anyagnál a galaktóz és az N-acetil-glükózamin molekula között kialakuló 1-4 glikozida kötésen kivül egy fukóz molekula is kapcsolódik 1-3 kötéssel az N-acetil-glükózaminhoz.

A fent emlitetteken kivül még számos más vércsoport karaktert /M,N és P, stb./ - beleértve az Rh faktorokat is - és azok specifitásáért felelős kémiai anyagokat ismerünk, ezek mennyisége azonban kevésbé jelentős a szöveti folyadékokban és szekrétumokban /STACEY és BARKER, 1962/ - és mivel jelenlegi vizsgálatainkhoz szorosan nem kapcsolódnak -, ezért ezek ismertetésétől eltekintünk.

A CSONTSZÖVET MIKROSZKÓPOS SZERKEZETE

Az előző fejezetekben megpróbáltuk főbb vonalakban áttekinteni a csontszövet kémiai organizációját. Ebben a részben a morfológiai strukturák fénymikroszkópos viszonyait ismertetjük - jóllehet a csontszövet elektronmikroszkópos tanulmányozása is kiterjedten folyik /BOYDE, 1972/.

A csontszövet mikroszkóposan háromféle strukturális elemből épül fel: 1./ "saját" /tehát pl. nem erekhez tartozó, stb./ sejtes alkotórész, 2./ kollagén rostok, és 3./ alapállomány.

Mivel az első csoportba tartozó sejtes elemek /osteoblastok, osteocyták és osteoclastok/ nem mutathatók ki a vizsgálataink tárgyát képező történeti korú csontszövetben; ill. a második alkotórész - a kollagén rost - az előbbiekben ismertetésre került, ezért a következőkben csupán az alapállomány strukturájával foglalkozunk.

A csontszövet kétféle elrendeződésben fordul elő: egyrészt tömör /substantia compacta/, másrészt szivacsos /substantia spongiosa/ alakban. Az előbbi jobbára a csontok felszínén található és ezeknek csak aránylag vékony kérgét /corticalis/ képezi; az u.n. csöves csontok középső, valóban csőszerű darabja

azonban a belső velőüregen kivül kizárólag tömör csontszövetből tevődik össze.

A szivacsos csontállomány ezzel szemben a csontok belső részét foglalja el. Ez lényegében a csontszövetből álló gerendák szövedéke, amelynek hézagait a velőüregek hálózata foglalja el.

A kompakt csontszövetet felépitő egységek sajátos koncentrikus 3-7 µm vastagságú lemezek alkotják. A lemezek festetlen készitményben is jól láthatók alternálóan eltérő fénytörésük alapján, ez azonban még feltünőbb polarizációs mikroszkópban.

Ezeket a lemezrendszereket /HAVERS-rendszer vagy laminae speciales/ nagyjából rájuk merőleges, finom - kb. 1 µm vastagságú - csatornák járják át /canaliculi ossium/, amelyek helyenként elágazódva, illetve egymásba nyilva, nagyobb szilvamag alakú üregekbe /lacunae ossium/ nyilnak /4. ábra/. A lacunák és csatornácskák üregét az alapállománynak egy tömöttebb hüvelye veszi körül /NEUMANN-féle hüvely/, amelynek tömöttebb szerkezete és fibrilla-mentessége bizonyos morfológiai önállóságot kölcsönöz /TÖRŐ, 1962/. /V.ö. 12.old.: a "rezisztens" protein szöveti lokalizációjával!/ Haematoxylinnel festett preparátumokban ezek a hüvelyek intenzivebben festődnek.

A csont-lacunákat a csontsejtek /osteocyták/ teste, a csatornácskákat ezek százlábúra emlékeztető nyúlványrendszere foglalja el. A lacunák legnagyobb

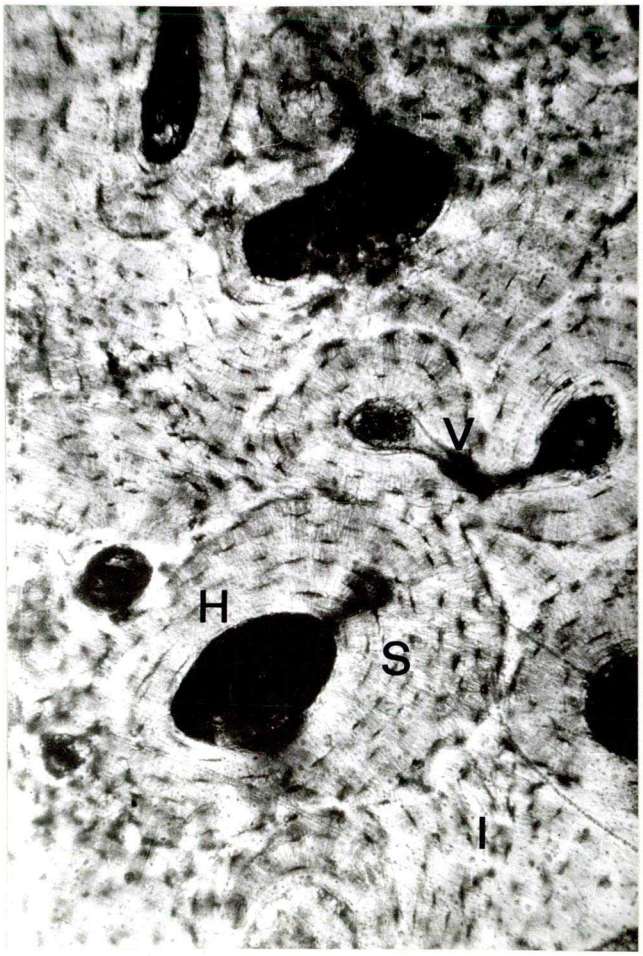
átmetszete a lemezrendszerekkel párhuzamos síkban helyezkedik el, egy-egy sejthez tartozó nyúlványok mintegy 5-8 lemez vastagságának megfelelő kiterjedésűek, de minthogy a csatornácskák egymással anasztomizálnak, a csatornácskák és a lacunák rendszere az egész összetartozó lemezrendszert teljes mélységében átjárja.

A csontszövet fő lemezrendszerei a csontok hosszstengelyével általában párhuzamosan lefutó, 20-100 µm átmérőjű, ereket tartalmazó csatornák - az u.n. HAVERS-csatornák körül alakulnak ki. Rendszerint 5-25 egymásba pontosan beillő hengeres csontlemez vesz körül egy HAVERS-csatornát. A HAVERS-csatornába egy-két ér foglal helyet, amelyek közül az egyik mindig capillaris, a másik gyakrabban postcapillaris véna, ritkábban praecapillaris arteriola /SZENTÁGOTHAI, 1971/. A szomszédos HAVERS-csatornákat egymással közel derékszögű lefutású csatornák - a VOLKMANN-csatornák - kötik össze /5., 6. ábra/. A csontszövetben ugyanúgy territoriális tagozódás látható, mint a porcszövetben, de a szerkezet ebben még kifejezettebb. A porcszövet szerkezeti egységét chondronnak nevezzük, a csontszövet esetében ugyanezen strukturát az osteon /7. ábra/ képviseli, amely gyakorlatilag egy HAVERS-csatornából és a hozzátartozó HAVERS-lemezrendszerből áll.

A HAVERS-lemezek azonban a csontállománynak csak egyik, habár legjelentősebb része. Főleg csöves csontok keresztmetszetén látható, hogy a csont külső felszinén ezzel párhuzamos 4-5 csontsejtréteget tartalmazó lemezrendszer /laminae generales seu fundamentales/ helyezkedik el. A csöves csontok nagyobb központi velőüregét kevésbé szabályos, de az előbbihez hasonló, a belső csontfelszinnel párhuzamos lemezrendszer foglalja el, amelyet az előbbiekkel /laminae generales externae/ elkülönitendő laminae generales internae névvel jelölik. A hengerded HAVERS-lemezrendszerek, valamint a külső és belső általános lemezrendszerek egymagukban nem tudják tömören kitölteni a teret, hanem közöttük szabálytalan rések maradnának fenn. Ezeket töredékes, de mégis egymással párhuzamos lemezekből álló laminae intercalares töltik ki. Ezek egy része a csont fiatalabb korban beljebb elhelyezkedett laminae generales externae-nek a maradványa a csont növekedése közben történt átépitődése során megmaradt töredékkel, ill. régebbi, ugyancsak részben átépitett HAVERS-rendszerek maradványa.

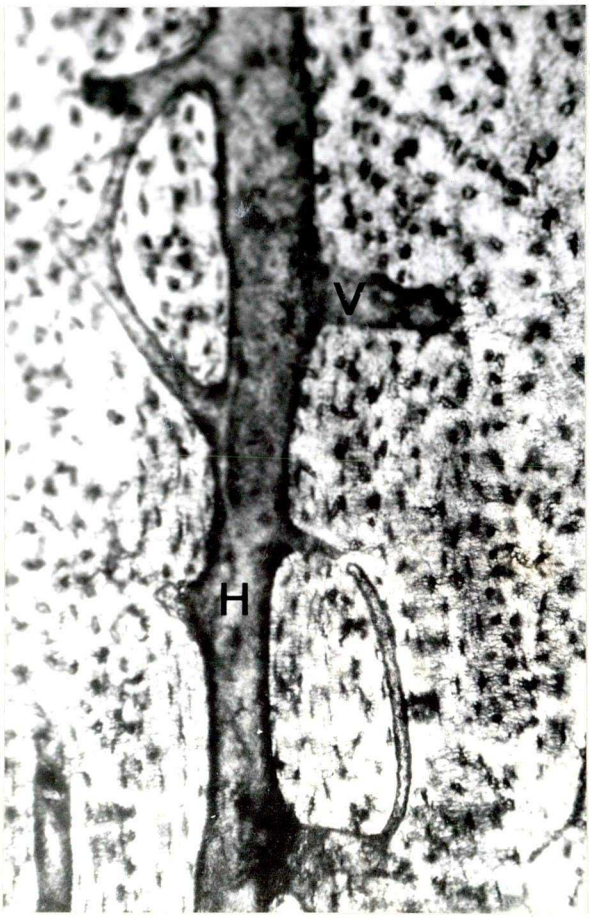
4. ábra

Macerált csont /substantia compacta/ hosszcsiszolat. Az osteocyták sejtfészkeit nyilak jelzik.
H: Havers-csatorna; V: Volkmann-csatorna.



5. ábra

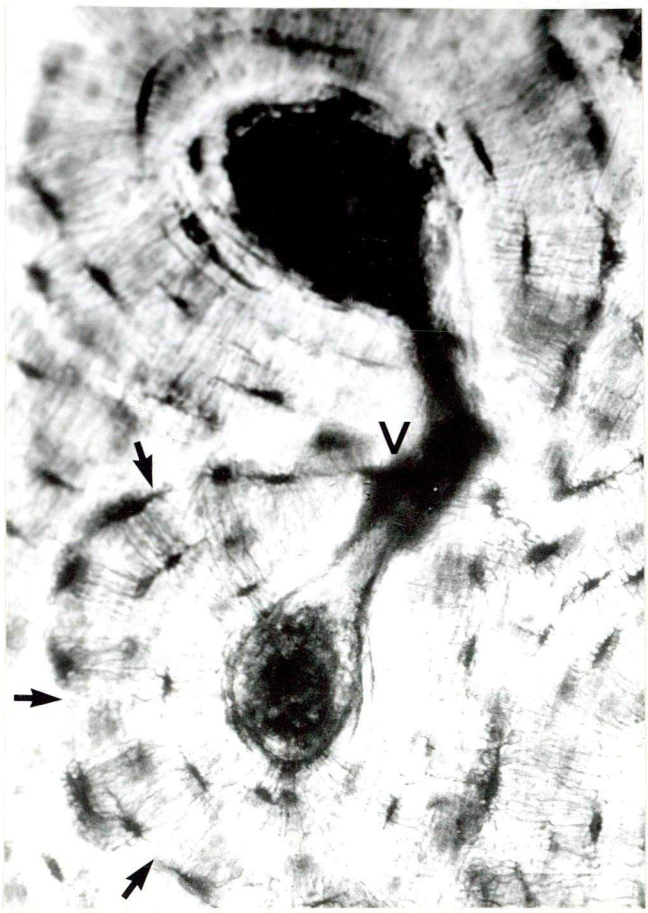
Macerált csont /substantia compacta/ keresztcsiszolat.
H: Havers-csatorna; V: Volkmann-csatorna; S: laminae speciales; I: laminae intercalares.



6. ábra

Macerált csont /substantia compacta/ hosszcsiszolat.
H: Havers-csatorna; V: Volkmann-csatorna.

Egyetemi Könyvtár SZTE SZEGED 14.



7. ábra

Macerált csont /substantia compacta/ keresztcsi-szolat. A nyilak az osteon határát jelölik.
V: a két osteont összekötő Volkmann-csatorna.

ANYAG ÉS MÓDSZER

Vizsgálati anyagunk a Szolnok Rákóczifalva-Kastélydombon /továbbiakban: SzRK/ 1962-ben Csalog Zsolt által feltárt temetőből származik. A leletmentő ásatás során 178 sirt tártak fel, amelyek között a kora-, ill. késő bronzkori és gepida sirok mellett 72 avarkori is előfordult /CSALOG, 1963/. A 72 avarkori csontvázmaradványból 67 került a JATE Embertani Intézetébe. Ebből a 67 leletből 58 csontvázmaradvány /a teljes avarkori 80,7 %-a/ felelt meg a BORGOGNINI /1969/ által meghatározott követelményeknek, melyek a történeti korú csontszövet vércsoport meghatározásának lehetőségére vonatkoznak.

Az ABO vércsoportok meghatározásához szivacsos szerkezetü csontmintákat használtunk /corpus vertebrae, femur ill. humerus epiphysis/. Ennek indoka az, hogy a szivacsos csontállomány szerves anyag tartalma lényegesen magasabb, mint a kéregé /ROGERS és mtsai, 1952/, s igy szerológiai aktivitása is magasabb. Ezt magyarázza egyrészt az a tény, hogy in vivo a szivacsos állomány gerendázatainak öbleiben a vérképzésben fontos szerepet játszó vörös csontvelő helyezkedik el, - legalábbis bizonyos

életperiódusokban és/vagy bizonyos kóros körülmények között. Ez a térbeli szituáció, ez a kontakt kapcsolat teremthet lehetőséget arra, hogy a szivacsos állományt a szerológiailag aktiv anyagok mintegy "átitassák". A jelenség másik magyarázatául azok a lágyrészmaradványok szolgálhatnak, amelyek - gyakran még történeti korú csontanyagon is - fellelhetők.

A vércsoportok meghatározását kétféle vizsgálati módszerrel végeztük el:

1./ BOYD /1933/ és CANDELA /1936/ abszorbciós módszerének módositott változatával és

2./ COONS, CREECH és JONES /1941/ fluoreszcens antitest metódusának LENGYEL /1968/ által csontszövethez adaptált változatával.

A kétféle módszer párhuzamos alkalmazását szükségessé teszi az a tény, hogy az utóbbi időkben mindinkább előtérbe kerülnek a klasszikusnak mondható abszorbciós módszer hiányosságai /THIEME és OTTEN,1957; LENGYEL és NEMESKÉRI, 1964; KOUT és mtsai, 1965; KELLERMANN, 1971; BODOR, 1973/. Ezek a következőképpen csoportosithatók:

1./ A csontőrlet használatából eredő nem-specifikus reakciók létrejötte. A csontőrlet antigénjei és a diagnosztikus savó antitestjei közötti kapcsolat erőssége függ az őrlet szemcsenagyságától; a finomabb

őrlet-eluátum titerértéke alacsonyabb, másrészt a durvább őrlet-eluátum titerértéke a szemcsék egy bizonyos nagyságáig megnövekszik és azután csökken /LENGYEL és NEMESKÉRI, 1963/.

2./ A csontőrletből a szerológiailag aktiv anyagok nem oldódnak ki egyértelműen /KOUT és mtsai, 1965/ ill. az antigének aktivitása gyakran csökkenhet az antiszérummal való inkubáció alatt, sőt némely esetben az antigének el is pusztulhatnak /LENGYEL, 1966/.

3./ Az alkalmazott antiszérumokból eredő hibalehetőségeket arra a tényre vezethetjük vissza, hogy humán savó használata esetén az epefestékek felületi feszültség-csökkentő hatása gátolja az agglutináció létrejöttét. Ugyanilyen hatással számolhatunk a savóban a koleszterin, szabad koleszterin észter és az össz lipoid frakció esetében.

4./ A reakció indikátoraként használt vörös vértestek alkalmazásának hátrányai /LENGYEL, 1973/. Tévesen <u>negativ</u> eredményt adhat a reakció, ha

a./ gyenge a vörös vértestek antigén tartalma

b./ túl sürü a szuszpenzió

c./ a vizsgált savóban izohaemagglutinin lehet és ez a vörös vértesteket hemolizálja. A vörös vértestek előkezelése szintén fokozza a hemolitikus hajlamot.

Ugyanakkor tévesen <u>pozitiv</u> eredményt adhat a próba, ha

a./ aspecifikus pánagglutináció következik be

b./ synpexis /pseudoagglutináció/ áll elő túl sürü szuszpenzió miatt

c./ hideg agglutináció jön létre az alacsony hőmérséklet következtében.

A két módositott eljárással párhuzamosan végzett vizsgálatokhoz minden esetben ugyanannak a szivacsos szerkezetü csontmintának két, egymás melletti darabját használtuk fel.

AZ ABSZORBCIÓS MÓDSZER ELVI ALAPJAI ÉS MENETE

Az abszorbciós módszernek gyakorlati tapasztalatok alapján számos változata alakult ki /BOYD és BOYD, 1934; CANDELA, 1939; DERS, 1940; MATSON, 1946; FURUHATA és mtsai, 1950; SALAZAR, 1951; THIEME és mtsai, 1956; WEINBERG és mtsai, 1959; SMITH, 1960; SPRINGER és WILLIAMSON, 1960; EZRA-COHN és COOK,1961; SCHWARZFISCHER és LIEBRICH, 1963; KOUT és mtsai,1965/, amelyek közül az általunk használt, alábbiakban ismertetésre kerülő eljárás a KOUT és mtsai /1965/ által leírt "A" módszer LENGYEL /1972/ szerinti módositásának tekinthető.

A módszer elvi alapjai: az ismeretlen vércsoportú csont őrletét ismert vércsoportú és titerértékü diagnosztikus savóval hozzuk össze, majd a diagnosztikus savóval ellentétes csoportú mosott vörös vértesteket adunk a rendszerhez. Arra, hogy létrejött-e antigén-antitest kapcsolódás a csontőrlet és a diagnosztikus savó szerológiailag aktiv anyagai között, a vörös vértestek agglutinálódásából következtethetünk.

A módszer menete:

1./ Anyaggyüjtés és az anyag előkészitése:

a./ A vizsgálatra szánt csontmintát kettévágjuk, s egyik felét az abszorbciós módszerhez hasz-

náljuk fel, a másikat pedig a fluoreszcens antitest metódushoz tesszük félre.

b./ A felhasználásra kerülő csontmintát a talajszennyeződésektől mechanikusan /kefével, ecsettel/ alaposan megtisztitjuk és

c./ golyós achát-malomban 10 µm-os átlagos szemcsenagyságú őrletet készitünk belőle.

2./Az abszorbciós próba végrehajtása

a./ Az őrlet 1,0-1,0 g-jához 2,2-2,2 ml 1:256-os titerértékü anti-A ill. anti-B diagnosztikus savót adunk /előállitja és "SEROTYP" néven forgalomba hozza: HUMAN Oltóanyagtermelő és Kutató Intézet, Budapest/. Ugyanezt az eljárást végezzük el a BORGOGNINI /1966/ szerint előállitott anti-H "diagnosztikus savóval", amely tulajdonképpen növényi /Ulex europeus/ magból izolált H-specifikus phytohaemagglutinin.

b./ A csontőrletből és a diagnosztikus savóból álló rendszerünket 4°C-on 3 órán át,

20°C-on 2 órán át és végül

37°C-on /termosztátban/ 1 órán át inkubáljuk,

majd

c./ különválasztjuk a savót a csontőrlettől /centrifugálással: 2500 fordulat/perc, legalább 3 percig/.

d./ A felülúszóból fiziológiás sóoldattal 10 tagú, kettes faktorú, mértani higitási sort készitünk /a higitási sor egyes tagjainak térfogata 1,0 ml/.

e./ A higitási sor minden egyes tagjához azonos mennyiségű /0,2 ml/ mosott - A_1, B ill. 0 csoportú - vörös vértestek fiziológiás sós szuszpenzióját adjuk.

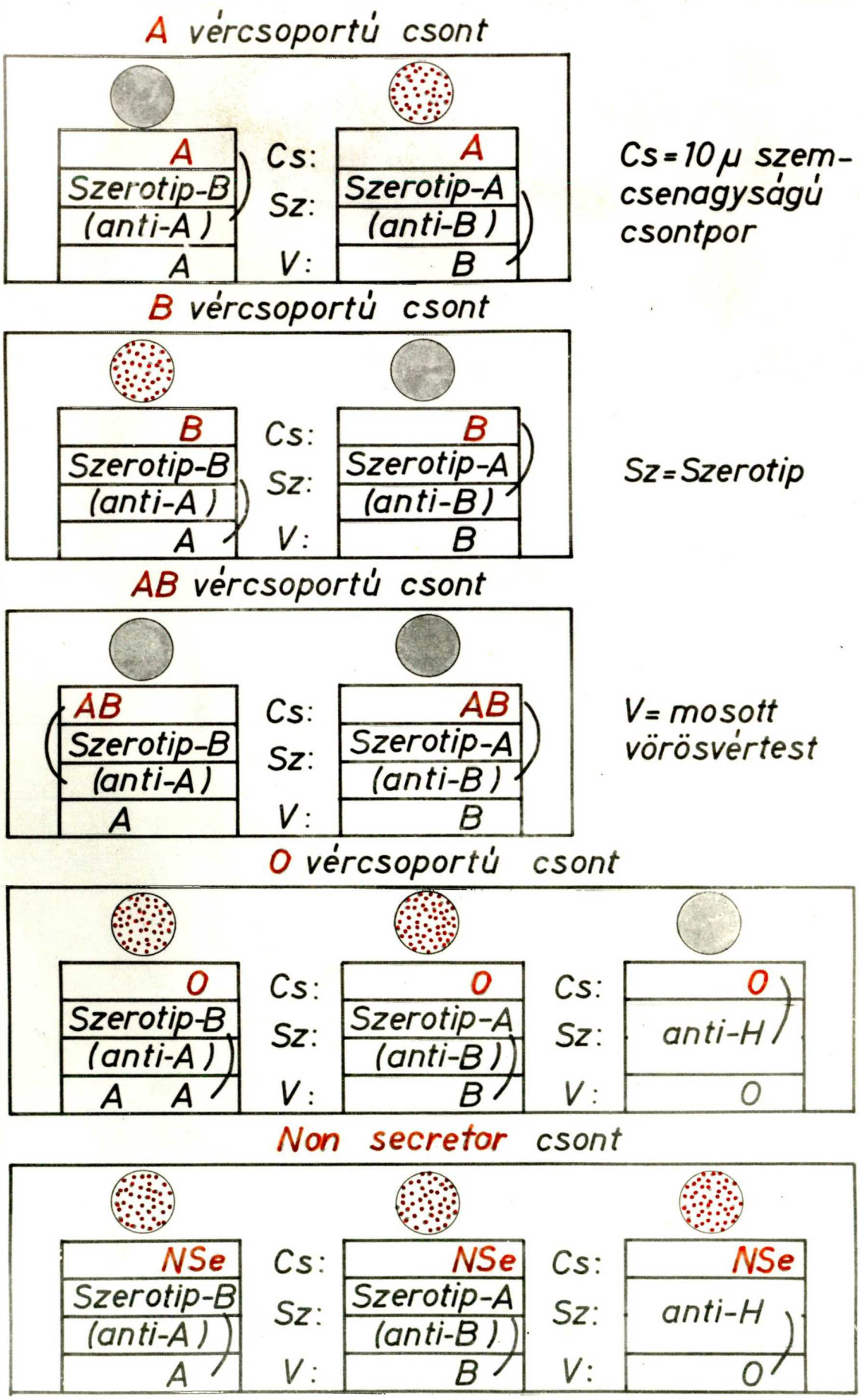
f./ A savó-vörös vértest rendszert 20 percig 20°C-on pihentetjük.

3./ A reakció leolvasása

Az agglutináció elmaradását vagy létrejöttét, ill. annak intenzitását négyfokozatú szubjektiv skálán / Ø, +, ++, +++/ jelölve 20-szoros nagyitású binokuláris mikroszkóppal olvassuk le.

4./ A reakció értékelése:

Az egyes - három párhuzamosból álló - minták pozitiv /agglutináció létrejötte/ ill. negativ /agglutináció elmaradása/ reakciói alapján a 8. ábra szerint olvasható le a kérdéses csontminta vércsoport tipusa. Az ábrán a homogén, sötét körök az agglutináció elmaradását /negativ reakció/; a pontozott körök az agglutináció létrejöttét /pozitiv reakció/ jelölik.



8. ábra

Az abszorbciós módszer eredményeinek kiértékelése

A FLUORESZCENS ANTITEST METÓDUS ELVI ALAPJAI ÉS MENETE

A fluoreszcens antitest metódus /továbbiakban: FAM/ eredeti formájában lágyrészekből készült friss vagy gyorsfagyasztott metszeteken illetőleg bakteriológiai preparátumokon az antigén-antitest reakció in loco, szöveti kimutatására alkalmas /PEARSE, 1968/. LENGYEL /1964/ módositásai - a csontszövet vizsgálhatóvá tétele érdekében - az eredeti eljárást két alapvető mozzanatában változtatják meg:

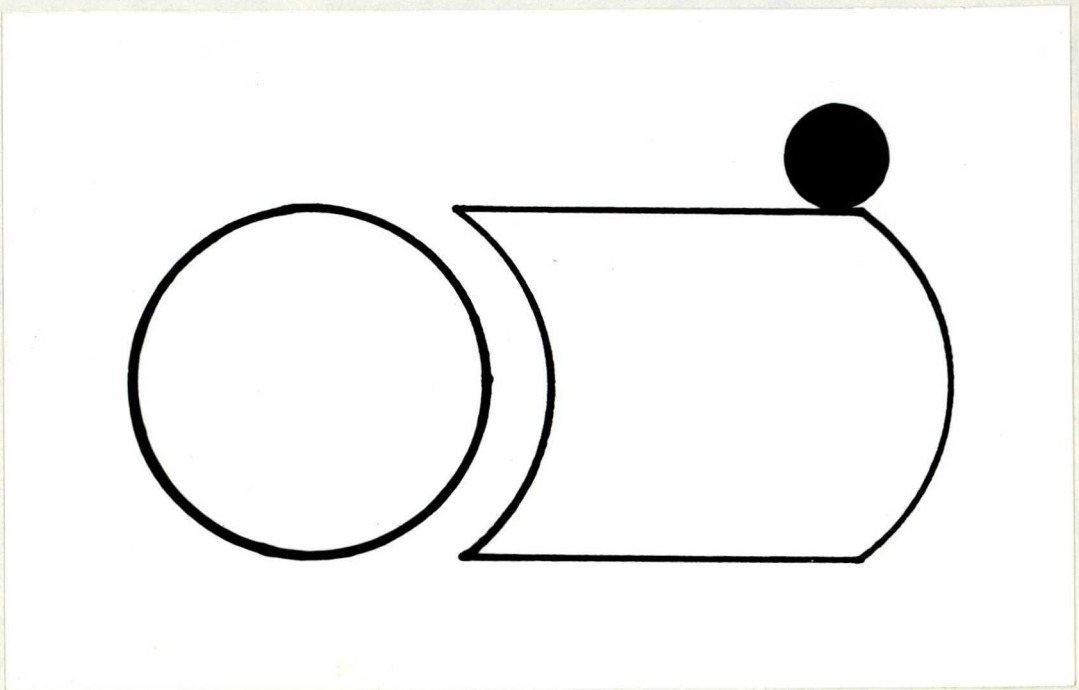
először, a vizsgálati anyagot - jelen esetben a történeti korú csontszövetet - speciális előkészitésnek veti alá,

másodszor, a diagnosztikus savót a fluoreszcens festékkel megfelelő arányban és ellenőrzés mellett kapcsolja össze.

Az első módositás révén a csontanyag is alkalmassá tehető immunfluoreszcenciás vizsgálatra, a második módositás pedig a módszer érzékenységének és megbizhatóságának a fokozását szolgálja.

A módszer elvi alapjai: a reaktiv antigéneket tartalmazó szövettani metszetre felvitt és fluorochrómmal egybekapcsolt antitestek pozitiv esetben - az antigének szöveti lokalizációját is feltüntetve -

precipitálódnak. Az antigén-antitest kapcsolódások helyén megkötődött fluoreszcens festék ultraibolya fény hatására, mikroszkóposan leolvasható, látható fényt emittál. Ez az u.n. direkt reakció sémája /9. ábra/.



9. ábra

A direkt tipusú immunhisztokémiai reakció mechanizmusának sémája. A nagyobb kör jelzi az antigént, tőle jobbra az antitest van, rajta - a kisebb sötét kör - a fluorescein isothiocyanat molekula jelképe.

A módszer menete:

1./ Anyaggyüjtés és az anyag előkészitése:

a./ Az immunfluoreszcenciás vizsgálatra a szivacsos szerkezetü csontmintának az abszorbciós vizsgálat során félretett másik felét használtuk fel. Ebből lombfürésszel a minta valamennyi rétegét tartalmazó, kb. 5 mm vastag és 1 cm^2 alapterületü hasábot vágunk ki.

b./ A vizsgálatra szánt csontmintát a talajszennyeződésektől mechanikusan /kefével, ecsettel/ alaposan megtisztitjuk.

2./ Az anyag rögzitése:

Az irodalmi adatok /THIEME és OTTEN,1957; SMITH, 1963; LENGYEL, 1966/ egyértelmüen amellett szólnak, hogy a napvilágra került történeti korú csontokban szabad levegőn olyan változások indulnak meg, amelyek eredményeképpen fokozatosan csökken, később meg is szünik szerológiai aktivitásuk. Ezért a mechanikusan megtisztitott vizsgálati anyagot megfelelő elegyitésü alkoholos neutral-formollal fixálni kell /LENGYEL, 1975/.

Rögzitési idő: 12-24 óra. A rögzitő oldat sötét üvegben tárolandó, mivel fény hatására a formalinban olyan bomlási folyamat indul meg, amelynek következtében az oldat vegyhatása erősen savanyú irányba tolódik el.

3./ Az anyag kimosása:

A rögzitő oldatot a csontmintából annak immunhisztológiai feldolgozása előtt 6 órás csapvizes, majd 2 órás desztillált vizes mosással távolitjuk el.

4./ Mésztelenités:

A csontszövet szerves anyagainak tárgyalásakor / 10. ØLD./ már emlitettük a mésztelenités szükségességét. Kezdetben a csontszövetet - annak hisztomorfológiai tanulmányozása céljából - sósavas /MAXIMOW és BLOOM, 1931/ decalcinálásnak vetették alá. Később a savas ágensek köre ugyan bővült /ecetsav, hangyasav, stb./, de igy sem oldódott meg az a probléma, miszerint a különféle decalcináló eljárások meglehetősen "drasztikusak": azaz kisebb-nagyobb mértékben roncsolják a csontszövet szerkezetét. /Ez alól talán a legkeményebb "csontszövet", a fog, jelent csak kivételt./ Egy szintetikus poliaminosav, az etilén-diamin-tetra-acetát /EDTA/, megjelenése - úgy tünik - megoldotta ezt a problémát. Az utóbbi időkben a csontszövet fénymikroszkópos /YOSHIKI,1974/ ill. elektronmikroszkópos /GOSHI és mtsai, 1973/ vizsgálatainál - különböző koncentrációs viszonyok mellett - leginkább ezt a decalcináló anyagot alkalmazzák. Éppen ezért a különféle savas decalcináló eljárásokkal szemben, amelyek a történeti korú - amúgy is "lazább" - csontok szöveti szerkezetét súlyosan roncsolják, megváltoztatják hisztokémiai tulajdonsá-

gait és meghatározhatatlanná teszik szerológiai karakterüket is; szövetkimélő és semlegesre is beállitható vegyhatása miatt az etilén-diamin-tetra-acetát di-, vagy tetra-nátrium sójának /kereskedelmi néven: SELEKTRON B_2 vagy KOMPLEXON III./ vizes oldatát használtuk.

a./ A mésztelenitendő csontminta minden g-jára 100 ml EDTA-val telitett, pH 7,4-re beállitott McILWAINE /1921/ puffer oldatot számitunk. A puffer oldathoz detergensként BRIJ-35 oldatot adunk.

b./ A szivacsos szerkezetü csontminta 20°C-on "fosszilizálódásának" mértékétől függően 72-120 óra alatt válik metszhetővé. A mésztelenitő oldatot a csontmintán 24 óránként célszerü cserélni.

c./ Mésztelenités után a csontminta rugalmassá válik, nem málékony és mindennemü szövettani feldolgozásra /paraffin-, celloidin-, polywacha-, ill. mélyhütéses-száritásos beágyazás, vagy egyszerü gyorsfagyasztott metszetek készitésére/ kiválóan alkalmas.

d./ A csontminta mésztartalmának csökkenéséről naponta készitett rtg felvételek útján tájékozódhatunk. A felvételeken nyomon követhető a csontminta radiológiai denzitásának fokozatos csökkenése.

e./ A mésztelenitő folyadékot a folyamat befejeződése után 12 órás desztillált vizes áztatással távolitjuk el vizsgálati anyagunkból.

f./ Vizsgálati sorozatként, rendszerint temetőnként, egy-egy csontmintából készitett fagyasztott metszeten is célszerü ellenőrizni az elmésztelenedés fokát. A csontminta ugyanis még akkor is tartalmaz bizonyos mennyiségü meszet, amikor radiológiai denzitása már nem csökken tovább, ill. állaga már metszésre alkalmassá vált. A tökéletlen mésztelenités után visszamaradó mészsók ugyanis növelik az anyag autofluoreszcenciáját, csökkentve ezáltal az amúgy is halvány immunfluoreszcencia jelenségét, ill. leolvashatóságának biztonságát.

g./ Anyagunk elmésztelenedésének mértékét fagyasztott metszeteken VOIGT /1960/ módszere szerint festett metszeteken, polarizációs mikroszkóp alatt ellenőrizzük. A metszeteken topokémiai reakció kapcsán - ez a VOIGT eljárás lényege - kettős fénytörésü kalcium-naftálhidroxamát képződik, amelynek mennyisége az elmésztelenedés mértékével forditott arányban áll.

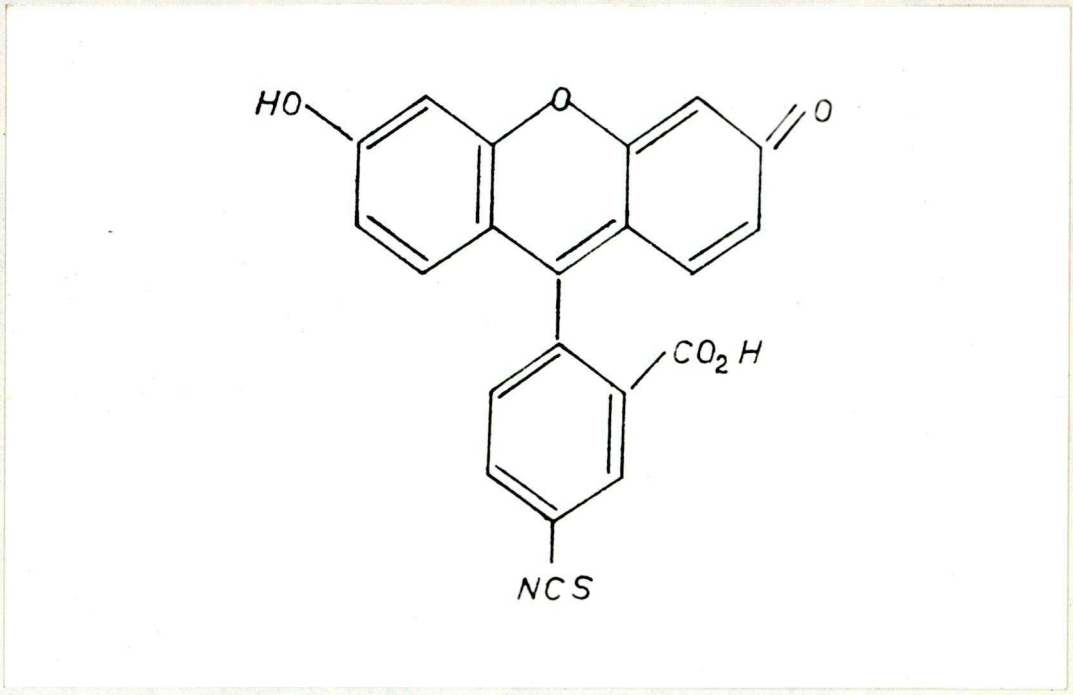
5./ Metszetkészités:

A mésztelenitett és kimosott csontmintából 10-15 µ vastag gyorsfagyasztott metszeteket készitünk.

6./ Az immunhisztológiai reakció előkészitése:

a./ A festék: A vizsgálathoz MARSHALL és mtsai /1958/ javaslata alapján stabilitása, az antiszérum fehérjéihez való könnyü köthetősége és az antiszérum szerológiai aktivitását nem befolyásoló előnyös tulajdonságai miatt a fluorescein isothiocyanát-ot /FITC; 10. ábra/ használjuk /gyártja és forgalomba hozza pl.: "DELTA" Chemical Works, Inc.23 W.60th

Street, New York 23, N.Y./, amely az immunhisztokémiai reakciók legindifferensebb "marker" anyaga.



10. ábra

fluorescein isothiocyanat

Az FITC-t aminofluorescein-diacetát thiofoszgénes kezelésével RIGGS és mtsai /1958/ állitották elő stabil formában.

b./ Az antiszérum: anti-A és anti-B liofilizált hiperimmun emberi vérsavó. Titerértéke 1:256. /előállitja: HUMAN Oltóanyagtermelő és Kutató Intézet, Budapest/ Az anti-H savót "házilag" BORGOGNINI /1966/ szerint az Ulex europeus magvából állithatjuk elő. Ezen "diagnosztikus savó" titerértéke megközelitőleg 1:256 /u.a. mint az abszorbciós módszer esetében/.

Az immunhisztológiai reakció megbizhatósága a végrehajtáshoz szükséges alapanyagok preciz előállitásán kivül az antiszérum és a fluoreszcens festék megfelelő /aequimoláris/ kapcsolódásának a biztositásán múlik. Az antiszérum és a festék megfelelő arányú kapcsolódásának ellenőrzése három lépésben hajtható végre:

α. Az anti-A és anti-B savók fehérje tartalmának meghatározása.

β. Az antiszérumok fehérjéinek ellenőrzött arányú kapcsolása az FITC-hez.

γ. Az anti-A és anti-B ill. az FITC molekulák alkotta konjugátum fehérje tartalmának meghatározása.

ad α. Az anti-A és anti-B savók fehérje tartalmát a módositott Biuret-reakcióval határozzuk meg /CORNALL és mtsai, 1949/.

Ahhoz, hogy a fluoreszcens antitest reakcióhoz az optimális arányú antitest-FITC konjugátumot állithassuk elő, meg kell határoznunk a felhasználásra kerülő antiszérumok fehérje tartalmát. A meghatározást 560 mμ-os hullámhosszra beállitott spektrofotométerrel végezzük el úgy, hogy az ismeretlen fehérje tartalmú antiszérum leolvasott eredményeit egy standard fehérje oldat /human gamma globulin/ kalibrációs görbéjéhez viszonyitjuk.

ad β. Az antiszérumok fehérjéinek és a FITC-nek a kapcsolódási arányát adott hőmérsékleti körülmények és pH viszonyok esetén további két tényező határozza meg:

először: a kiindulási oldatokban a fehérje és az FITC mennyiségi aránya,

másodszor: egymásrahatásuk időtartama.

Az antitestek és a FITC konjugálására az alábbi eljárás alkalmazható LENGYEL /1975/ szerint:

a./ A konjugáláshoz szükséges valamennyi oldat hőmérsékletét 25°C-on, vizfürdőn stabilizáljuk.

b./ Közben kiszámitjuk, hogy mennyi FITC-re van szükségünk 10 ml-nyi, ismert fehérje tartalmú antiszérumunkhoz, hogy 0,040 mg pro mg fehérje arányú konjugátumot alakithassunk ki belőle /a 0,040 mg értelemszerüen a FITC mennyiségére vonatkozik/.

c./ Oldjunk fel számitott mennyiségü FITC-t 8,0 ml 0,1 M-os Na_2HPO_4 oldatban, majd tegyük ezt az oldatot is vizfürdőbe /25°C/; mivel azonban az FITC ebben az oldatban bomlékony, oldás után 2 órán belül fel kell használnunk.

d./ 10,0 ml antiszérumhoz cseppenként, állandó rázogatás közben adjunk 2,5 ml 0,2 M-os Na_2HPO_4 oldatot;

e./ majd ugyancsak cseppenként adjunk hozzá a 0,1 M-os Na_2HPO_4-ben oldott festék teljes mennyiségét.

g./ Egészitsük ki oldatunkat 20,0 ml-re 0,85 %-os NaCl-dal. Az oldatot közben keverjük !

h./ Az antitestek és a FITC kapcsolódásának biztositására hagyjuk állni oldatunkat 25°C-on, vizfürdőben 24 órán át.

i./ 24 óra múlva az oldat aljára kiülepedett csapadékot centrifugálással eltávolitjuk /5.000 fordulat/perc; 5 percig/.

j./ A felülúszóból a fehérjéhez nem kötött, tehát szempontunkból felesleges FITC mennyiségét SEPHADEX G-25 oszlopon való átszüréssel távolitjuk el.

A SEPHADEX G-25 oszlopon átszürődő konjugátumot tartalmazó oldatból az első, már fluoreszkáló cseptől az utolsó, még fluoreszkáló cseppig terjedő frakciót fogjuk fel.

ad γ. Az antitest-FITC konjugátum festék tartalmának meghatározása egy standard festékoldat koncentrációjának és fényabszorbciójának kölcsönös változásait feltüntető görbe segitségével történik.

a./ A kalibrációs görbe felvétele: pro. anal. tisztaságú FITC-t 0,01 M-os foszfát pufferral pH 7,6-ra beállitott 0,85 %-os NaCl-ben oldunk, olyan higitási sort készitve belőle, amelynek első tagja 3,0 és utolsó tagja pedig 1,0 mikrogramm FITC-t tartalmaz ml-enként. Ezután annál a hullámhossznál határozzuk meg a standard FITC higitási sor egyes tagjainak abszorbciós értékeit, amelynél az antitesttel konjugált festékoldat maximális abszorbcióját mérhetjük. Igy az abszorbciónak és a koncentrációnak olyan viszonyát ábrázoló görbét kapunk, amelynek felvételekor azokat az optikai denzitásra vonatkozó adatokat is felhasználhatjuk, amelyeket a standard FITC oldat higitási sorának különböző tagjainál olvastunk le.

b./ A konjugátum FITC tartalmának meghatározásához olyan higitást kell készitenünk /pH 7,6-ra beállitott sóoldattal/, amelynek optikai denzitása a maximális abszorbció hullámhosszán 0,2 és 0,6 egység közé esik. Feljegyezve a higitott konjugátumunk optikai denzitását, az előzőekben felvett kalibrációs görbe segitségével meghatározhatjuk, hogy a kapott érték milyen mikrogramm/ml FITC koncentrációnak felel meg. McKINNEY és mtsai /1964/ vizsgálatai szerint a

már konjugált festék extinkciós koefficiense a még nem konjugálténak csupán 88 %-a. Mivel standard oldatunk konjugálatlan, a mérőoldat pedig már fehérjéhez kötött, azaz konjugált formában tartalmazza a FITC-t, a fenti adat /88 %/ alapján korrekciót kell alkalmaznunk a konjugátum festék tartalmának kiszámitásakor.

c./ A FITC és az antitestek mennyiségi arányát konjugátumunkban a még higitatlan konjugátumban meghatározott FITC mikrogramm/ml-es koncentrációjának, valamint az ugyancsak higitatlan konjugátumban meghatározott fehérje milligramm/ml-es koncentrációjának a hányadosa adja meg. Ugyanakkor a konjugátumban az FITC koncentrációját optikai denzitásának és extinkciós koefficiensének hányadosa adja.

7./ Az immunhisztológiai reakció kivitelezése:

a./ Az EDTA-val mésztelenitett, 10-15 µ vastagságú, gyorsfagyasztott csontmetszeteket nedveskamrában hozzuk össze a FITC-vel konjugált anti-A, anti-B ill. anti-H antitesteket tartalmazó savókkal.

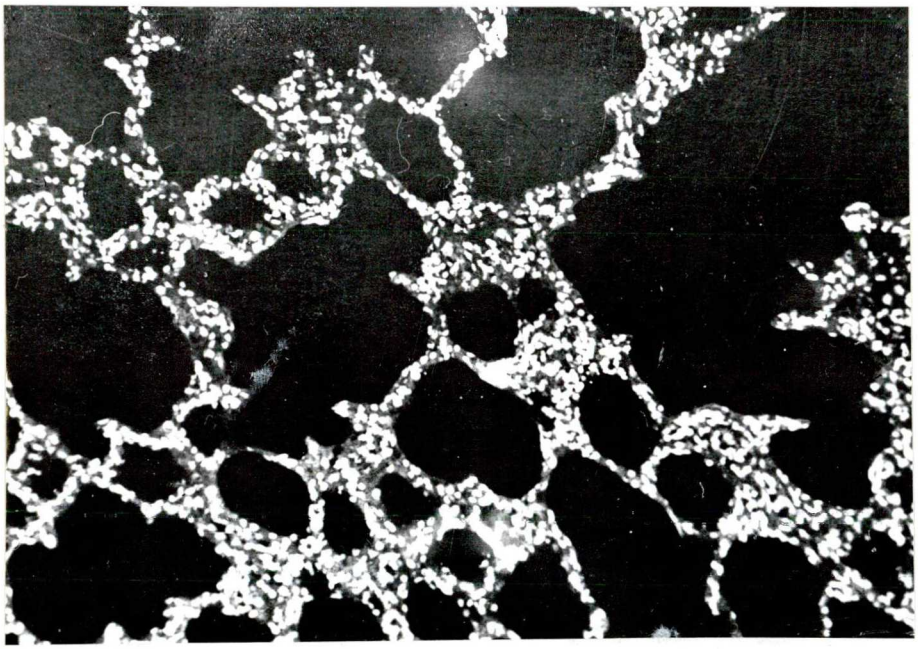
b./ A metszeteket a nedveskamrában 37°C-on 3 órán át inkubáljuk.

c./ A nedveskamrák feltárása után a metszetekből a felesleges festéket pH 6,8-ra beállitott McILWAINE /1921/ puffer oldatban usztatva oldjuk ki /20°C-on 1 órán át/.

d./A kimosott metszeteket kvarc tárgylemezen fiziológiás sóoldattal lefedve, ultraibolya fényben, mikroszkóp alatt vizsgáljuk.

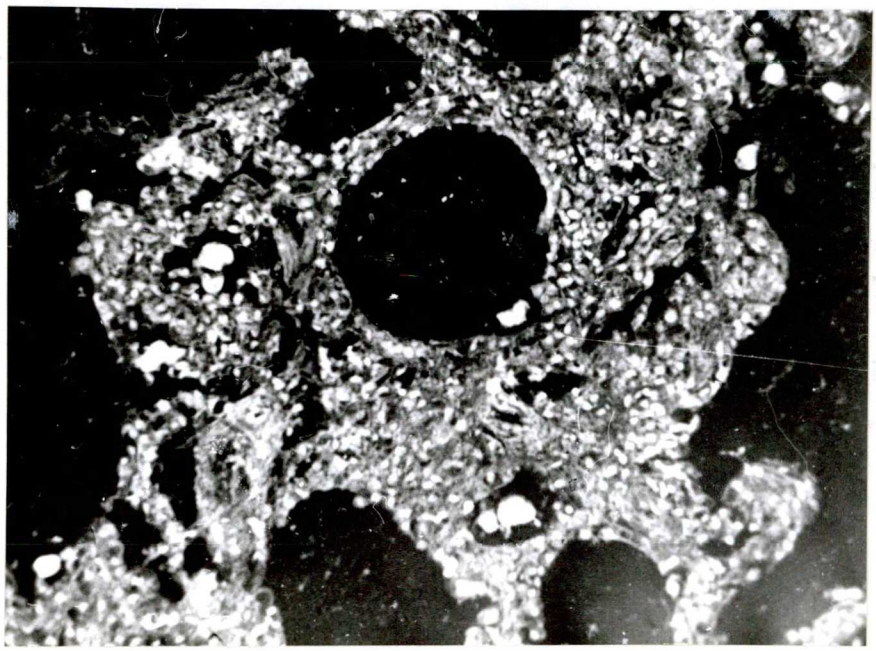
8. Az immunhisztológiai reakció leolvasása:

a./Pozitiv immunhisztológiai reakció /11. és 12. ábra/, azaz a csontszövet antigénjeinek és a diagnosztikus savó FITC-vel "jelzett" antitestjeinek kapcsolódása esetén in loco, jól körülirt, pontszerü, almazöld fluoreszcencia észlelhető a csontsejtek üregeit körülvevő perilacunaris állománynak megfelelően /Neumann-hüvely/.



11. ábra

Pozitiv immunhisztológiai reakció: x40



12. ábra

Pozitiv immunhisztológiai reakció; x120

A pozitiv reakciót adó csontmetszeteken az almazöld szinben fluoreszkáló - az antigén-antitest kapcsolódások szöveti lokalizációját feltüntető - pontok száma, illetőleg emittált fényük intenzitása független a csontminta szerológiai aktivitásának intenzitásától.

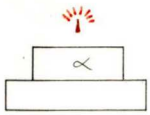
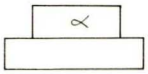
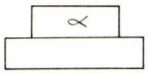
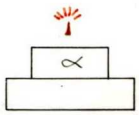
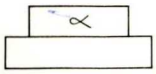
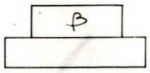
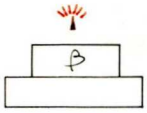
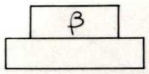
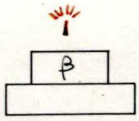
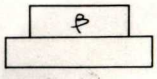
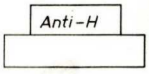
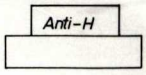
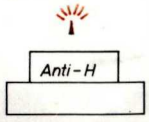
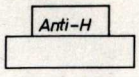
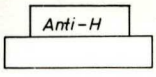
b./ Negativ immunhisztológiai reakció /13. ábra/, azaz az antigén-antitest kapcsolódás elmaradása esetén a fluorochrommal "jelzett" antitestek teljes mértékben kimoshatók a metszetből, ezért halvány, egynemü, piszkosbarna autofluoreszcencia észlelhető csupán.

13. ábra

Negativ immunhisztológiai reakció. x120

9./ Az immunhisztológiai reakció kiértékelése:

Az egyes csontmintákból készült három párhuzamos metszet pozitiv ill. negativ reakciói alapján a 14. ábra segitségével olvasható le a kérdéses csontminta vércsoport tipusa.

	A FLUORESCENS ANTITEST MÓDSZER EREDMÉNYÉNEK LEOLVASÁSA :				
	I. LEHETŐSÉG	II. LEHETŐSÉG	III. LEHETŐSÉG	IV. LEHETŐSÉG	V. LEHETŐSÉG
1. METSZET					
2. METSZET					
3. METSZET					
A vizsgált csontminta	A	B	0	AB	NSe (?) vércsoportú egyéné

14. ábra

A fluoreszcens antitest módszer kiértékelése. A görög betük a diagnosztikus savók antitest tipusait, a szimbólum pedig az immunfluoreszcencia jelenségét, azaz pozitiv reakciót jelöl. A jel hiánya értelemszerüen negativ reakciót jelent.

AZ ABSZORBCIÓS ÉS FLUORESZCENS ANTITEST MÓDSZER EREDMÉNYEINEK ÖSSZEHASONLITÁSA

Az abszorbciós teszttel és a módositott fluoreszcens antitest metódussal végzett vércsoport meghatározás a következő eredményeket /1. táblázat/ szolgáltatta:

1. táblázat

	ABSZORBCIÓS M.		FLUOR.ANTITEST M.	
Vércsop.	Esetszám	Százalék	Esetszám	Százalék
A	13	22,41	19	32,75
B	14	24,13	14	24,13
0	11	18,96	14	24,13
AB	14	24,13	6	10,34
NSe	6	10,34	5	8,62
Össz.:	58	99,97	58	99,97

Orvostudományi Könyvtár SZEGED

A vércsoport vizsgálatok eredményeinek ellenőrzése - egyéb kontroll hiányában - matematikai statisztikai úton történik. Legelterjedtebb /SCHWARZ-FISCHER és LIEBRICH, 1963; KELLERMANN, 1971, 1972; LENGYEL, 1971, 1972/ a FISHER /1949/ féle génfrekvencia számitás. Emellett - főképp recens anyagon - használatban van /McARTHUR és PENROSE, 1951; THOMA, 1970/ a BERNSTEIN /1924/ féle génfrekvencia számitás és az ehhez kapcsolódó STEVENS /1953/ féle szignifikancia analizis is.

A két módszerrel elvégzett vércsoport meghatározás eredményeinek matematikai statisztikai ellenőrzését a nagyobb biztonság érdekében mind a FISHER /1949/, mind a BERNSTEIN /1924/ módszerrel elvégeztem.

Ezen számitásokkal kapott génfrekvencia, X^2 /technikai szempontból, az egyszerüsités kedvéért a továbbiakban a gépelt szövegben a χ /chi/ betü helyett az X jelet használjuk/ és probabilitási értékeket tünteti fel a 2. táblázat.

A két módszer párhuzamos alkalmazásaként kapott eredmények tanulmányozásakor felmerül a kérdés: van-e az abszorbciós és a fluoreszcens antitest módszerrel meghatározott vércsoport tipusok között szignifikáns különbség a történeti korú csontszövet esetében ? A kérdés felvetése azért is indokolt, mert LENGYEL /1975; ill. személyes közlés/ hasonló vizsgálatokat végzett recens anyagon. Eredményei a követke-

2. táblázat

Génfrekvencia	FISHER ABSZORBCIÓS MÓDSZER	BERNSTEIN ABSZORBCIÓS MÓDSZER	FISHER FLUOR.ANTITEST METÓDUS	BERNSTEIN FLUOR.ANTITEST METÓDUS
p	0,240	0,308	0,274	0,274
q	0,256	0,321	0,212	0,212
r	0,503	0,459	0,513	0,513
Össz.:	0,999	1,088	0,999	0,999
$X^2/1/=$	8,099	7,280	0,000365	0,001402
	1>P>0,1 erősen szignifikáns	1>P>0,1 erősen szignifikáns	99>P>90 nem szignifikáns	99>P>90 nem szignifikáns

zőkben foglalhatók össze:

Klinikailag vérből /kereszt agglutinációs módszerrel/ 917 egyén ABO vércsoportját határozta meg. Ez képezte "standard" sorozatát. Ugyanezen egyéneknél csontszöveten is meghatározta a vércsoport tulajdonságot mind az abszorbciós, mind a fluoreszcens antitest módszerrel. A kapott adatokat összevetve úgy találta, hogy

1./ A vérből /kereszt agglutinációval/ ill. a csontszövetből fluoreszcens antitest módszerrel meghatározott vércsoportok 97,28 %-ban azonosnak bizonyultak. Ez tehát azt jelenti, hogy a klinikailag rutinszerüen alkalmazott és általánosan elfogadott vércsoport meghatáro-

zás eredményei között nincs lényeges különbség.

2./ A csontszöveten abszorbciós ill. fluoreszcens antitest módszerrel kapott eredmények matematikai statisztikai összehasonlitása extrém szignifikáns /$P < 0,1$ %/ értéket adott, tehát ugyanazon recens anyagon a két módszer eredményei lényegesen eltérőek voltak.

3./ Az abszorbciós és a fluoreszcens módszer csontszöveten történő párhuzamos alkalmazása a biológiai értelmezésben is tükröződő differenciát mutatott. Nevezetesen a FISHER-féle génfrekvencia analizis a fluoreszcens antitest módszer esetében nem szignifikáns /$90 > P > 70$/, mig az abszorbciós módszer esetén extrém szignifikáns /$P < 0,1$ %/ értéket adott.

Sajnos a vérből ill. csontszövetből abszorbciós módszerrel meghatározott adatok összevetése ezidáig nem ismeretes.

Ennek ellenére a fentiek alapján megállapitható, hogy recens anyagon a fluoreszcens antitest módszer szolgáltatta eredmények megbizhatóbbak, mint az abszorbciós módszer hasonló adatai.

Visszatérve eredeti kérdésünkre /van-e a két módszer eredményei között szignifikáns különbség történeti korú csontszövet vizsgálata esetén/, a választ matematikai statisztikai úton, a kontingencia táblás analizis alkalmazásával adhatjuk meg /3. táblázat/.

3. táblázat

	A	B	0	AB	NSe	Össz.
Fluor.antitest metódus	19	14	14	6	5	58
Abszorbciós módszer	13	14	11	14	6	58
Összesen:	32	28	25	20	11	116

$x^2/4/ = 4,7667$

$50 > P > 30$

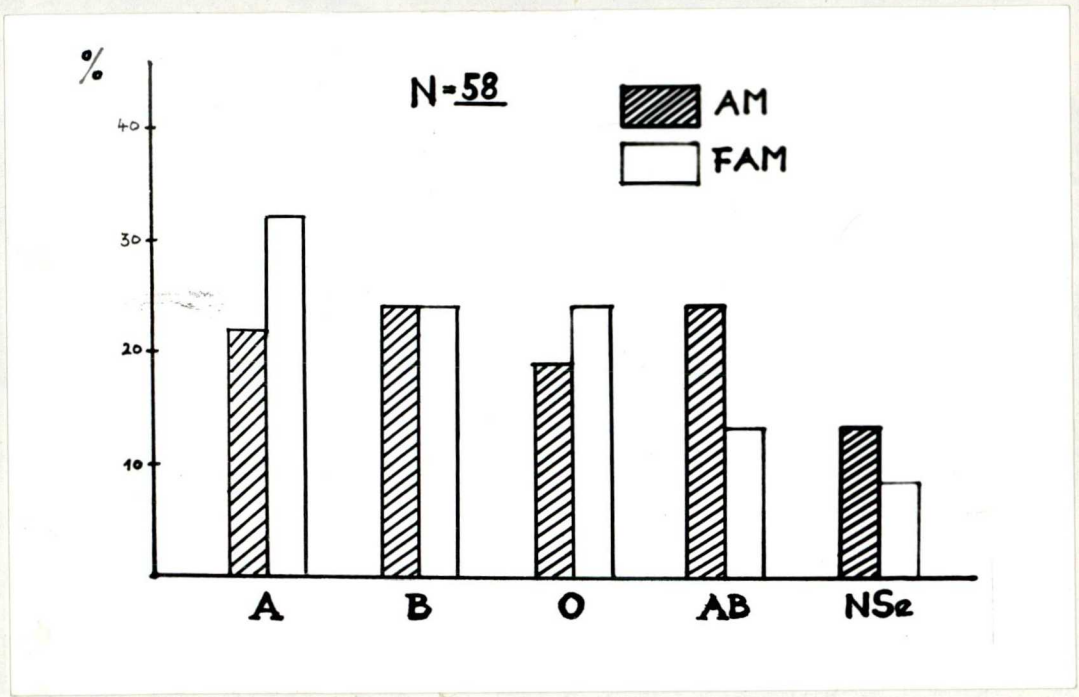
nem szignifikáns

A két módszer eredményei között kontingencia táblás analizissel nem lehetett szignifikáns különbséget bizonyitani. /Ennek oka valószinüleg az alacsony esetszám /N=58/; V.ö. LENGYEL jóval magasabb reprezentációs értékü /N=917/ sorozatával !/ Ezzel szemben, ha a kapott abszolút adatok alapján határoztuk meg az ABO gének gyakoriságát, akkor a x^2 teszt probabilitási értéke /2. táblázat/ alapján a fluoreszcens antitest módszer $99 > P > 90$ szinten nem szignifikáns, mig az abszorbciós módszer erősen szignifikáns eredményt adott mind a két /FISHER- ill. BERNSTEIN-féle/ génfrekvencia számitási módszerrel /V.ö. LENGYEL recens anyagon végzett ugyanilyen vizsgálati eredményeivel/.

Noha a két különböző módszerrel végzett vércsoport vizsgálatok eredményeinek abszolút értékeit összehasonlitva statisztikailag értékelhető szignifikáns differencia nem mutatható ki, az eredmények más sikú értékelése /a génfrekvencia analizis/ a két módszer értéke között, a biológiai értelmezésben tükröződő differenciát mutat.

Ez az észlelt különbség a vizsgált történeti népesség szerogenetikai egyensúlyára vonatkozik. Mig a fluoreszcens antitest módszerrel a genetikai egyensúly m e g l é t é r e utaló értéket kaptunk, addig ugyanez az érték az abszorbciós módszer esetén a genetikai egyensúly h i á n y á t bizonyitotta. Utóbbi eredmény elfogadható volna abban az esetben, ha a vizsgált temető feltártságára vonatkozó régészeti információk csak részleges feltárásról tájékoztatnának, vagy, ha az általunk vizsgált csontminták a teljes temető siranyagának csak elenyésző százalékát képviselnék. Az "Anyag és módszer" c. fejezetben ismertetett idevonatkozó adatokra hivatkozva megállapitható, hogy vizsgálati anyagunk reprezentációs értéke megfelel a NEMESKÉRI /1970/ által lefektetett paleodemográfiai vizsgálatok értékelhetőségére vonatkozó követelményeknek. Ezért a temető feltártsági foka és mintasorozatunk reprezentációs értéke ismeretében az abszorbciós módszer eredményeit nem tartjuk szerogenetikai szempontból értékelhetőnek, azaz a - későbbiekben ismertetésre kerülő - szerogenetikai elemzést a fluoreszcens antitest módszer eredményei alapján végezzük el.

A két módszer párhuzamos alkalmazásából kapott abszolút adatok százalékos megoszlását - az egész temetőre, tehát nem sironkénti, azaz egyedenkénti összehasonlitásra vonatkoztatva - mutatja a következő ábra /



15. ábra

Az ABO vércsoportok százalékos megoszlása. AM: abszorbciós módszer; FAM: fluoreszcens antitest metódus.

Az ábrából jól kitünik -amelyet a génfrekvencia számitási értékei is bizonyitanak -, hogy a két módszer között az AB csoportúak abszolút számának százalékos eloszlása tekintetében mutatkozik a legnagyobb eltérés. Más szóval a két módszer közti szerogenetikai egyensúlyra vonatkozó különbség az egész temetőt illetően az AB csoportúaknál észlelhető differenciára vezethető vissza.

Mielőtt folytatnánk a két módszer eredményeinek összehasonlító analizisét, feltétlenül tisztáznunk kell egy lényeges - máig sem lezárt - kérdést. Az eddig bemutatott táblázatokon /1. és 3./ ill. ábrán /3./ szerepel az NSe /nonszekrétor/ megjelölés. Ez gyakorlatilag mindkét módszer esetén /lásd 8. és 9. ábra/ a vizsgálati minta három párhuzamosának negatív reakcióját jelenti. Elméletileg az ilyen eredményeket kétféleképpen értelmezhetjük, s ez a kétféle álláspont alternálva található az irodalomban.

1./ A vizsgálati minta vércsoportja meghatározhatatlan /=?/ /LENGYEL, 1975/.

2./ A vizsgálati anyag hipotetikusan a nonszekrétorokhoz[x] sorolható /KELLERMANN, 1972/.

A magunk részéről a három párhuzamos alkalmazása esetén negatív reakciót adó mintákat statisztikailag a nonszekrétor státusúakhoz soroljuk függetlenül, hogy ezek "valódi" nonszekrétorok és/vagy post mortem, a dekompozició hatására kialakult állapotot tükröznek. /A nonszekrétorok statisztikai értékelésére egyébként a későbbiekben még visszatérünk./

[x]Nonszekrétoroknak nevezzük élettani szempontból azokat az egyéneket, akik testnedveiben vércsoport aktiv anyagot nem lehet kimutatni. Paleoszerológiai szempontból nonszekrétor státusúnak nevezünk minden olyan mintát, amely csontszövetében a vércsoport aktiv anyagok nem érik el a kimutathatóság határát /0,02 %/. Természetesen ez az eset a dekompoziciós hatások eredményeképpen is előfordulhat.

A két módszer párhuzamos alkalmazásaként kapott eredmények vércsoportonkénti eloszlását és összehasonlitását az alábbi táblázat /4. táblázat/ szemlélteti:

4. táblázat

Abszorbciós m. Vércsop.	Esetsz.	Fluor.antitest m. vércsop.-kénti es.sz. A	B	O	AB	NSe	Össz.
A	13	12 /92,3%/	1 /7,6%/	-	-	-	13
B	14	1 /7,2%/	12 /85,7%/	-	-	1 /7,2%/	14
O	11	-	-	11 /100%/	-	-	11
AB	14	2 /14,2%/	1 /7,1%/	3 /21,4%/	6 /42,8%/	2 /14,2%/	14
NSe	6	4 /66,6%/	-	-	-	2 /33,3%/	6
Össz.:	58	19	14	14	6	5	58

Az AM és FAM alkalmazásából kapott eredmények összehasonlitásából - a táblázatból /4. táblázat/ - is jól leolvashatóan a következőket állapithatjuk meg:

1./ A vizsgált 58 csontvázmaradványból 43 esetben /74,1 %/ a két módszer eredményei megegyeztek.

2./ Az 58 vizsgálati mintából 15 esetben /25,9%/ a két módszer eredményei különböztek.

3./ Legnagyobb fokú egyezés a O csoportúaknál; az A csoportúaknál ill. a B csoportúaknál /100 %/ 92,3 % ill. 85,7 %/ tapasztalható.

4./ A legnagyobb fokú eltérés a nonszekrétor /NSe/ státusúaknál ill. az AB csoportúaknál /66,6 % ill. 56,9 %/ figyelhető meg.

5./ A megegyező esetek 81,3 %-a az A, B ill. O csoportúak esetében fordult elő, míg a nonszekrétor státusúakra ill. AB csoportúakra a megegyező esetek csupán 18,7 %-a jutott.

6./ A két módszerrel kapott vércsoport tipusok megoszlása azt mutatja, hogy a legnagyobb fokú "szórás" az AB csoportúaknál jelentkezik.

Összefoglalva: az abszorbciós és a fluoreszcens antitest metódus eredményei között a biológiai értelmezésben is tükröződő differenciát tapasztaltunk. E különbség oka az, hogy az AB csoportúak esetében a két módszer eredményei jelentősen eltérőek voltak. Mivel az abszorbciós módszer alkalmazása gyakran AB többlethez vezet /KOUT, VACIKOVA és STLOUKAL, 1965; BODOR, 1972/, ezért a -következő részben ismertetésre kerülő - Szolnok Rákóczifalva-Kastélydomb temető avarkori csontvázanyagának vércsoport vizsgálati eredményeiből levonható következtetések megtételekor a fluoreszcens antitest metódus adta eredményeket vesszük figyelembe.

SZEROGENETIKAI ÉRTÉKELÉS

Az avarkorból származó temetők közül az alábbiak /5. táblázat/ ABO vércsoport vizsgálatát végezte el LENGYEL /1975/. Kivételt képez a Kunszállás temető, amelynek vércsoportját VARGA /1973/ határozta meg. /A vizsgálatokat valamennyi temető esetén a fluoreszcens antitest módszerrel hajtották végre./

Külön táblázatban /6. táblázat/ részletezzük az Alattyán temető 3, a régészeti mellékletek alapján kronológiailag határozottan elkülönithető /KOVRIG, 1963/ csoportját.

Gyakorlati tények bizonyitják, hogy az a két népesség, amelyben az ABO vércsoport rendszer antigénjeinek megoszlási gyakorisága hasonló, feltehetően ugyanabból az ősi etnikai törzsből származik. Ez a megállapitás beláthatatlan jelentőségüvé emelte a génfrekvencia számitás értékét recens és történeti népességek vizsgálatánál. /Pl. MOURANT és mtsai /1958/ elkészitették az ABO vércsoportok "földrajzi világatlaszát", amely alapján számos értékes és érdekes /humángenetikai, pathologiai, evolúciós, stb./ következtetést vontak le./ Az ABO vércsoportok megoszlásának vizsgálatát a recens népességek esetében ma már kiterjedten alkalmazzák a különböző etnikai csoportok u.n. "genetikai távolság"-ának becslésére. A következőkben megkisé-

reljük az általunk vizsgált avarkori népesség csoportot "helyére tenni" szerogenetikai profiljuk alapján.

Korábbi vizsgálataink /BODOR, 1973/ alapján megállapitható, hogy a kérdéses avarkori populáció-részleg szerogenetikai profilja nem illeszthető bele McARTHUR és PENROSE /1951/ különböző európai országokra vonatkozó jelenkori génfrekvencia értékei közé. Az 5. táblázatban összegezett, régészeti szempontból avarkorinak minősitett "populáció"-val történő összehasonlitást a 7. táblázat szemlélteti.

A 7. táblázat adataiból világosan kitünik, hogy az általunk vizsgált avarkori népesség csoport és ugyanazon korból /VII.-IX. század/ származó avarkori "populáció" szerogenetikailag nem szignifikáns, másszóval közös etnikai eredetüek.

A régészeti, paleoantropológiai, paleodemográfiai, stb. kutatások alapján azonban ma már szinte biztosra vehető, hogy az avar elnevezés egy meglehetősen heterogén népességet reprezentál /LIPTÁK, 1969/. Ezt a tényt legszemléletesebben az Alattyán temető demonstrálja, amelynek részletes régészeti /KOVRIG, 1963/, antropotaxonomiai /LIPTÁK, 1968/ és szerogenetikai /LENGYEL, 1975/ vizsgálatai szerint az avaroknak kronológiailag és etnikailag három "komponense" mutatható ki a Kárpát-medencében.

Mivel az 5. táblázatban feltüntetett temetők kronológiailag jóformán átölelik az egész avarkort, ezért a következőkben megpróbáljuk szükiteni a kört; azaz az

általunk vizsgált avarkori temető szerogenetikai profilját a már ugyanilyen szempontból elemzett, ugyanezen korból származó temetőkkel hasonlitjuk össze /8-16. táblázat/.

Az összehasonlitáskor a három párhuzamossal egyaránt negativ reakciókat adó /általunk nonszekrétornak, mások által meghatározhatatlannak minősitett/ mintákat figyelmen kivül hagytuk. Eljárásunkat gyakorlati tapasztalatok indokolják.

1./ Korábbi /nem publikált/ vizsgálataink szerint a kontingencia táblás analizis lényegében azonos eredményt szolgáltat akkor is ha a

a./ NSe státusú mintákat is értékeljük,

vagy ha

b./ ezeket nem vesszük figyelembe.

Példaként megemlithetjük, hogy a két módszer /AM és FAM/ összehasonlitó elemzésekor a nonszekrétorok figyelembe vételével ill. ezek kihagyásával egyaránt nem szignifikáns értéket kaptunk. /A további bizonyitékokat később emlitjük./

Nem értékelhető továbbá a Keszthely-Városi temető, III ill. a Keszthely-Fenékpuszta temető alacsony esetszámuk /N=31, ill. N=24/ miatt.

Az összehasonlitások eredményeként egy esetben /Sopronkőhida/ erősen szignifikáns eredményt kaptunk. /Ez gyakorlatilag azt jelenti, hogy ezen temető "népessége" szerogenetikai szempontból nem mutat hasonlóságot az avarkori mintasorozattal. Ráadásul a régésze-

ti információk /TÖRÖK, 1963/ szerint a temető leletanyaga a frankokra jellemző !/ A fentiek figyelembe vételével ezt a temetőt sem értékelhetjük.

A nem szignifikáns eseteken belül azonban a $X^2_{/3/}$ ill. a probabilitási /P/ értékek nagyságát meghatározva a hasonlóságok /"nem szignifikáns" kvalitások/ csökkenő értékrendü sorozatba állitása válik lehetségessé. Ezt a 17. táblázatban összegezzük.

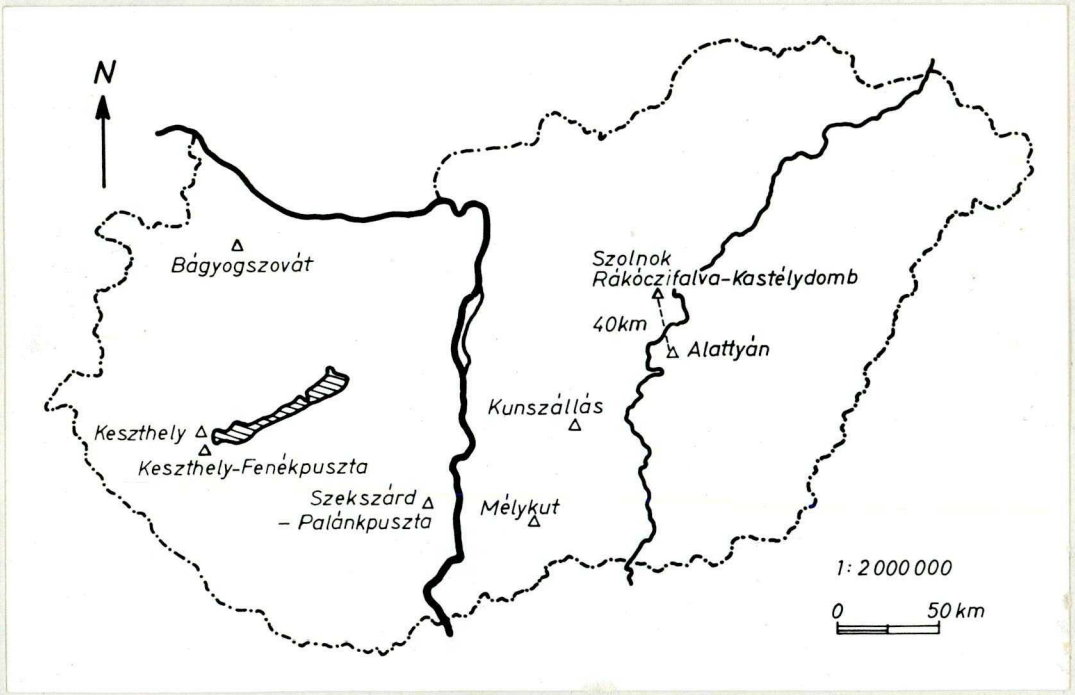
A 17. táblázatból megállapitható, hogy a legnagyobb fokú hasonlóság az Alattyán II népesség csoporttal mutatkozik. /A biztonság kedvéért ebben az esetben az összehasonlitást a nonszekrétorok figyelembe vételével is elvégeztük. A kapott eredmények - $X^2_{/4/}$= 0,621; 99 > P > 95 - ez esetben is azt bizonyitják, hogy az összehasonlitásban nem észlelhető lényeges különbség akár értékeljük a nonszekrétorokat, akár nem./

Bár a meghatározási eredmények ilyen sorrendbe állitása nem jelent feltétlenül etnikai hasonlósági fokozatokat is, de bizonyos tájékoztatás szempontjából kétségtelenül hasznos. Nevezetesen azt mondhatjuk, hogy az általunk vizsgált /SzRK/ avarkori temető népessége az Alattyán II népesség csoporttal mutat nagyfokú szerogenetikai hasonlóságot; és ez alapján feltételezhető a szoros etnikai kapcsolat is. Erre utal az a tény, hogy mind az Alattyán II kronológiai csoport, mind a SzRK temető avarkori sirmelléklet-eiben a préselt övveretek voltak a jellemzők /KOVRIG,

1963/. Esetünkben tehát a régészeti hasonlóságok tényét egy másirányú, a paleoszerológiai vizsgálat eredményeivel is meg lehetett erősiteni, illetőleg bizonyos értelemben véve /szerológiai hasonlóság/ ki lehetett egészíteni.

A szerológiai szempontból megvizsgált avarkori temetők földrajzi eloszlását /16. ábra/ megfigyelve azt tapasztaljuk, hogy a Szolnok Rákóczifalva-Kastélydomb temetőhöz térben is /kb. 40 km/ legközelebb az Alattyán temető áll.

Összefoglalva: a Szolnok Rákóczifalva-Kastélydomb temető avarkori anyaga a rendelkezésre álló, szerológiailag megvizsgált avarkori temetők közül az Alattyán II kronológiai csoporttal mutat régészeti és paleoszerológiai hasonlóságot. A temető - amelyből vizsgálati mintáink származnak - térben is /kb. 40 km/ az Alattyán temetőhöz áll legközelebb.



16. ábra
Avarkori temetők földrajzi eloszlása

5. táblázat

Temető neve	A vércsoportok numerikus és százalékos megoszlása A	B	0	AB	?	Össz. %
1. Alattyán	62 26,38	83 35,32	50 21,28	29 12,34	11 6,68	235 100,00
2. Bágyogszovát	23 33,82	14 20,59	17 25,00	10 14,70	4 5,88	68 99,99
3. Keszthely-Városi temető, III	7 22,58	10 32,36	8 25,80	1 3,23	5 16,13	31 100,00
4. Keszthely-Fenék-puszta	8 33,33	5 2083	6 25,00	2 8,33	3 12,50	24 99,99
5. Mélykút-Sánc-dülő	11 22,92	10 20,83	11 22,92	12 25,00	4 8,33	48 100,00
6. Sopronkőhida	26 28,26	19 20,65	32 43,78	10 10,88	5 5,43	92 100,00
7. Szekszárd-Palánk-puszta	30 25,29	43 35,24	27 22,13	14 11,47	8 6,56	122 99,99
8. Kunszállás	10 22,22	19 42,22	11 24,44	5 11,11	- -	45 99,99
összesen:	177 26,62	203 30,52	162 24,36	83 12,48	40 6,01	665 99,99

6. táblázat

Kronológiai csoportok	A vércsoportok numerikus és százalékos megoszlása					Összesen
	A	B	0	AB	?	%
1.Alattyán I	13 20,00	30 46,15	13 20,00	7 10,78	2 3,07	65 100,00
2.Alattyán II	22 31,43	17 24,28	18 25,71	9 12,86	4 5,71	70 99,99
3.Alattyán III	27 27,00	36 36,00	19 19,00	13 13,00	5 5,00	100 100,00
összesen:	62 26,38	83 35,32	50 21,28	29 12,34	11 4,68	235 100,00

7. táblázat

	A	B	0	AB	NSe	összesen
Avarkori "populáció"	177	203	162	83	40	665
SzRK	19	14	14	6	5	58
összesen:	196	217	176	89	45	723

$X^2_{/4/} = 2,244$

$70 > P > 50$ nem szignifikáns

8. táblázat

Temető neve	A	B	0	AB	Összesen
Alattyán	62	81	50	31	224
SzRK	19	14	14	6	53
Összesen	81	95	64	37	277

$X^2/3/=1,503$

$70 > P > 50$ nem szignifikáns

9. táblázat

Temető neve	A	B	0	AB	Összesen
Bágyogszovát	23	14	17	10	64
SzRK	19	14	14	6	53
Összesen	42	28	31	16	117

$X^2/3/= 0,663$

$90 > P > 70$ nem szignifikáns

10. táblázat

Temető neve	A	B	O	AB	összesen
Mélykút-Sánc dülő	11	10	11	12	44
SzRK	19	14	14	6	53
összesen	30	24	25	18	97

$X^2_{/3/} = 4,311$

$30 > P > 20$
nem szignifikáns

11. táblázat

Temető neve	A	B	O	AB	összesen
Sopronkőhida	26	19	32	10	87
SzRK	19	14	14	6	53
összesen	45	33	46	16	140

$X^2_{/3/} = 16,138$

$1 > P > 0,1$
erősen szignifikáns

Egyetemi Könyvtár SZEGED

12. táblázat

Temető neve	A	B	0	AB	összesen
Szekszárd-Palánkpuszta	30	43	27	14	114
SzRK	19	14	14	6	53
összesen	49	57	41	20	167

$X^2/3/ = 2,826$

$50 > P > 30$ nem szignifikáns

13. táblázat

Temető neve	A	B	0	AB	összesen
Kunszállás	10	19	11	5	45
SzRK	19	14	14	6	53
összesen	29	33	25	11	98

$X^2/3/ = 3,364$

$50 > P > 30$ nem szignifikáns

14. táblázat

Temető neve	A	B	0	AB	Összesen
Alattyán I.	13	28	13	9	63
SzRK	19	14	14	6	53
Összesen	32	42	27	15	116

$X^2/3/ = 5,555$

$20 > P > 10$ nem szignifikáns

15. táblázat

Temető neve	A	B	0	AB	Összesen
Alattyán II.	22	17	18	9	66
SzRK	19	14	14	6	53
Összesen	41	31	32	15	119

$X^2/3/ = 0,168$

$99 > P > 95$ nem szignifikáns

16. táblázat

Temető neve	A	B	0	AB	összesen
Alattyán III.	27	36	19	13	95
SzRK	19	14	14	6	53
összesen	46	50	33	19	148

$X^2/3/ = 2,672$

$50 > P > 30$ nem szignifikáns

17. táblázat

Temető neve	$X^2/3/$	P
Alattyán II.	0,168	$99 > P > 95$
Bágyogszovát	0,663	$90 > P > 70$
Alattyán /teljes/	1,503	$70 > P > 50$
Alattyán III.	2,672	$50 > P > 30$
Szekszárd-Palánk-puszta	2,826	$50 > P > 30$
Kunszállás	3,364	$50 > P > 30$
Mélykút-Sándülő	4,311	$30 > P > 20$
Alattyán I.	5,555	$20 > P > 10$

ÖSSZEFOGLALÁS

A dolgozatban két fő kérdésre kerestem a választ !

1./ Van-e különbség az abszorbciós módszer és a fluoreszcens antitest metódus eredményei között a történeti korú csontanyag ABO vércsoport meghatározását illetően ?

2./ Az általunk vizsgált temető a rendelkezésünkre álló, szerológiailag már elemzett azonos korú temetők közül melyikkel mutat hasonlóságot szerológiai profil tekintetében ?

Ad 1. Az abszorbciós módszer és a fluoreszcens antitest metódus eredményei között a biológiai értelmezésben is tükröződő differenciát tapasztaltunk. E különbség egyik, leglényegesebb oka az, hogy az abszorbciós módszer az AB csoportúak esetszámát nagymértékben megnöveli. Ezért a vércsoport meghatározás eredményeiből levonható következtetéseket a fluoreszcens antitest metódus szolgáltatta eredmények alapján tettük meg.

Ad 2. Vizsgálati anyagunk - a Szolnok Rákóczifalva-Kastélydomb temető avarkori részlege - a szerológiailag már elemzett avarkori temetők közül az Alattyán II. kronológiai csoporttal mutat legnagyobb fokú szerogenetikai hasonlóságot.

IRODALOM

ADAMS, J.B.:
Linkage of Carbohydrate to Hydroxyamine Acids in Mucopolysaccharides and Mucoproteins.
Biochem.J., 97, 334-352, 1965.

BEHRMAN,S.J., BUETNER-JANUSCH,R., HEGLAR,R.,
GERSHOWITZ,H., TEW,L.W.:
ABO/H Blood Incompatibility as a Cause of Fertility: a New Concept.Amer.J.Obs.Cynec. 79, 847-855, 1961.

BERNSTEIN,F.:
Ergebnisse einer biostatistischen Zusammenfassenden Betrachtung über die erblichen Blutstrukturen des Menschen.
Klin.Wochenschr., 3, 1495-1502, 1924.

BÖDOR, T.:
Szolnok-Rákóczifalva-Kastélydomb avarkori temető csontvázanyagának vércsoport meghatározása.
X. Országos Tudományos Diákköri Konferencia, Nyiregyháza, 1972.

BODOR, T.:
Subfossilis csontvázanyag vércsoport meghatározása módositott fluoreszcens antitest metódussal.
XI. Országos Tudományos Diákköri Konferencia, Eger, 1973.

BODOR, T.:
Serogenetical study of Avar age population.
Humangenetik, 24, 221-225, 1974.

BOOTH, P.B.:
A review of the Gerbich blood group system in Papua New Guinea.
Med.J.Papua N.Guinea, 14/3/, 74-76, 1971.

BORGOGNINI, S.:
Studio di alcune caratteristiche del siero emoagglutinante anti-H estratto dai semi di Ulex europeus, usato nella determinazione dei gruppi sanguigni ABO in ossa umane recenti ed antiche.
Atti Soc.Toscana Sc.Nat.-Ser.B. vol. LXXIII-Pisa, 3-12, 1966.

BORGOGNINI, S.:
New trends in blood group determination in human bones.
Proc. VIIth Internat.Congr.Antrop.Ethnol. Sci. Tokyo-Kyoto, Science Council of Japan. 1969.

BOYD, W.C.: Blood Grouping by Means of Preserved Muscle.
Science, 78, 578-595, 1933.

BOYD, W.C., BOYD, L.G.:
An Attempt to Determine the Blood Groups of Mummies.
Proc.Soc.Exp.Biol. et Med., N.Y., 31, 671-674, 1934.

BOYDE, A.: Scanning electron microscope studies of bone.
In: BOURNE,G.H. /Ed./: The biochemistry and physiology of bone. Academic Press, New York and London. 259-310, 1972.

CANDELA, P.B.:
Blood Group Reactions in Ancient Human Skeletons.
Am.J.Phys.Anthrop., 21, 429-432. 1936.

CANDELA, P.B.:
Blood Group Determinations upon the Bones of Thirty Aleutian Mummies.
Amer.J.Phys.Anthrop., 24, 361-383. 1939.

COONS,A.H., CREECH,H.J., JONES,R.N.:
Immunological Properties of Antibody Containing Fluorescent Group.
Proc.Soc.Exp.Biol. et Med., N.Y., 47, 200-202, 1941.

CORNALL,A.G., BORDAWILL,C.J., DAVID,M.M.:
Determination of Protein Content by the Modified Biuret Reaction.
J.Biol.Chem., 177, 751-766. 1949.

CSALOG, ZS.: Archäologische Forschungen im Jahre 1962.
Archeológiai Értesitő, 90, 298, 1963.

DAS, B.M., DAS, P., DAS, R.:
Genetic distance in respect of ABO blood groups among four castes of Assam, India.
Humangenetik, 20, 179-181. 1973.

DERS, A.: Reliability of Blood Group Tests on Human Bones.
Amer.J.Phys.Anthrop., 27, 365-381, 1940.

EASTOE,J.E., COURTS,A.:
Practical analytical methods for connective tissue proteins.
Spon, London. 1963.

EDWARDS,R.G., FERGUSON,L.C., COOMBS,R.R.A.:
Blood Group antigens on Human Spermatozoa.
J.Reprod.Fertil., 7, 153-161. 1964.

EICHNER,E.R., FINN,R., KREVANS,L.R.:
Relationship Between Serum Antibody--levels and the ABO Blood Group Polymorphism.
Nature /Lond./, 198, 164-165. 1963.

ENGSTRÖM, A.: Aspects of the molecular structure of bone.
In: BOURNE,G.H. /Ed./: The biochemistry and physiology of bone. Academic Press, New York and London, 237-257. 1972.

EVANS,A.S., SHEPARD,A.K., RICHARDS,A.V.:
ABO blood groups and viral diseases.
Yale J.Biol.Med., 45/2/, 81-92. 1972.

EZRA-COHN,H.E., COOK,S.F.:
Blood-Typing Compact Human Bone Tissue.
Nature, 191, 1267-1274, 1961.

FARKAS,GY., LENGYEL,I., MARCSIK,A.:
Supposition of genetic connections between the finds of the cemetry at Mélykút-Sáncdülő /Southern Hungary/ on the basis of blood-grouping ABO.
Acta Biol., Szeged, 17 /1-4/, 199-207, 1971.

FIORI,A., BENCIOLINI,P.:
The ABO grouping of stains from body fluids.
Z.Rechtsmedizin, 70, 214-222, 1972.

FISHER, R.A.: Métodos estadisticos para investigadores.
Aguilar, S.A.Madrid, 1949.

FURUHATA,T., OKAJIMA,M., SHIZIMU,S.:
Blood Group Determination of 800 Years Old Mummies of Governor-general in Four Generations at Chusonji.
Proc.Imp.Acad. of Japan, 26, 78-81, 1950.

GARRETT,J.V., NICHOLSON,A., WHITTAKER,J.S., RIDWAY, J.C., BOWMAN,C.M.:
Blood-groups and secretor status in patients with salivary-gland tumours.
Lancet, 1177-1179, 1971.

GERSHOWITZ,H., BEHRMAN,S.J., NEEL,J.V.:
Haemagglutinins in Uterine Secretions.
Science, 128, 719-720, 1958.

GORDON,J.E., CHITKARA,I.D., WYLON,B.J.:
Wearing Diarrhea.
Amer.Med.Sci., 245, 348-377, 1963.

GORDON,J.E., SCRIMSHAW,N.S.:
Early Nutrition and the Diarrheas of Early Childhood in the Tropics.
In: ACHERSON,R.M. Comparability in Internal Epidemiology. Blackwell Publ. Co., New York, 233-239, 1965.

GOSHI,N., SCOTT,B.L., TOKUDOME,M.:
Functional variation and acid phosphatase reactivity in osteoclasts.
Jikeikai Med.J., 20, 189-202, 1973.

HARSÁNYI, L.:Csoportanyag-meghatározás lehetőségei csontszövetből.
Morph. és Ig.Orv.Szemle, 5.4. 270-271, 1965.

HARSÁNYI, L.:A faj megállapitásának lehetősége a csontszövet immunfluorescens vizsgálatával.
Morph. és Ig.Orv.Szemle, 16.2. 100-102, 1976.

HERRING,G.M.:The organic matrix of bone.
In: BOURNE, G.H./Ed./: The biochemistry and physiology of bone. Academic Press, New York and London, 128-189, 1972.

HIRSZFELD,L., HIRSZFELD,H.:
Serological Differences Between the Blood Groups of Different Races.
Lancet, ii, 675-693, 1919.

IMBELLONI,J.:Tabla classificatoria de los Indos. Regionas biologicas y grupos racides humanos de America.
Physis, 12, 229-249, 1938.

KABAT,E.A.: Blood Group Substances their chemistry and immunochemistry.
Academic Press, New York, 1956.

KELLERMANN, G.: Methodological Investigations on the ABO-Typing of Ancient Bones. Humangenetik, 14, 50-55, 1971.

KELLERMANN, G.: Further Studies on the ABO-Typing of Ancient Bones. Humangenetik, 14, 232-236, 1972.

KELSO, A.J.: Dietary Differences: A Possible Selective Mechanism in ABO Blood Group Frequencies. Southwestern Lore, 28, 48-56, 1962.

KELSO, A.J.; ARMELAGOS, G.: Nutritional Factors as Selective Agencies in the Determination of ABO Blood Group Frequencies. Southwestern Lore, 29, 44-48, 1963.

KOUT, M., VACIKOVA, A., STLOUKAL, M.: An Attempt to Assess Blood Groups in Paleoanthropological Material. Anthropologie, II/3, 49-58, 1965.

KOVRIG, I.: Das awarenzeitliche Gräberfeld von Alattyán. Akad. Kiadó, Budapest, 1963.

LANDSTEINER, K.: The Specificity of Serological Reactions. /Revised ed./ Harvard Univ. Press, Cambridge, Mass., 1947.

LENGYEL, I.: Contribution a l'analyse histologique, serologique et chimique combinél des os et des dents en archéologie. Bull. Grp int. Rech. sci. Stomat., 7, 182-206, 1964.

LENGYEL, I.: Konzerváló és tisztitószerek hatása ásatásból előkerült csontok kémiai összetételére. Arch.Ért., 93, 114-118, 1966.

LENGYEL, I.: Biochemical Aspects of Early Skeletons. In: Brotwell, D.R.: The Skeletal Biology of Earlier Human Populations. Pergamon Press, Oxford, 271-288, 1968.

LENGYEL, I.: A pécsi ókeresztény temető antropológiai anyagának laboratóriumi elemzése. Arch.Ért., 98, 205-209, 1971.

LENGYEL, I.: Analyses chimiques des os mis au jour dans l'église médiévale en ruine de Balatonfüred. Acta Arch.Acad.Scient.Hung., 24, 237-240, 1972.

LENGYEL, I.: In: FARKAS,GY./Szerk./: Antropológiai praktikum I. Paleoantropológiai metodikák. Kézirat, Szeged, 160-164, 1972.

LENGYEL, I.: In: FARKAS,GY./Szerk./: Antropológiai praktikum II. Az élő lakosság antropológiai vizsgálatának módszerei. Kézirat, Szeged, 211-237, 1973.

LENGYEL, I.: Palaeoserology. Blood typing with the fluorescent antibody method. Akadémiai kiadó, Budapest, 1975.

LENGYEL, I., NEMESKÉRI, J.: Application of Biochemical Methods to Biological Reconstruction. Z.Morph.Anthrop., 54, 1-56, 1963.

LENGYEL, I., NEMESKÉRI, J.: Über die Blutgruppenbestimmung an Knochen mit Hilfe der Fluorescenz-Antikörper-Methods. Homo, 15/2, 65-72, 1964.

LENGYEL, I., NEMESKÉRI, J.:
Analysis of the Structure of a 9th Century Ethnic Group, on tha Basis of the Laboratory and Morphological Examination of their Bone Finds.
Akad.Kiadó, Budapest, 489-494, 1970.

LIPTÁK, P.: Historisch-antropologische Auswertung der im awarenzeitlichen Gräberfeld von Alattyán erschlossenen Skelettreste.
In: KOVRIG,I.: Das awarenzeitliche Gräberfeld von Alattyán. Archeologia Hung., 40, 245-258, 1963.

LIPTÁK, P.: Embertan és emberszármazástan.
Tankönyvkiadó, Budapest, 1969.

LLOYD,K.O., KABAT,E.A., LAYUG,E.J., GRUEZO,F.:
Immunochemical Studies on Blood Groups. XXXIV. Structures of Some Oligosaccharides Produced by Alkaline Degradation of Blood Group A, B and H Substances.
Biochemistry /Washington/, 5, 1489-1501, 1966.

MANUILA,A.: Distribution of ABO Blood Groups in Eastern Europe.
Amer.J.Phys.Anthrop., 14, 577-588, 1956.

MARSHALL,J.D., Jr.EVELAND,W.C., SMITH,C.W.:
Superiority of Fluorescein Isothiocyanate /riggs/ for Fluorescent Antibody Technique with a Modification of its Application.
Proc.Soc.Exp.Biol. et Med., 98, 898-900, 1958.

MATSON,G.A.: Procedure for Serological Determination of Blood Relationship in Ancient and Modern Peoples with Specific Reference to the American Indians; Blood Grouping of Mummies.
J.Immunol., 30, 459-470, 1936.

Orvostani Könyvtar

MAZZA, S., SCHÜRMANN, K., GUTDEUTSCH, H.:
Die geographische Verteilung der Blutgruppen.
Z.Rassenphysiologie, 8, 38-47, 1933.

McARTHUR, N., PENROSE, L.S.:
In: Thoma,A.: Selective Differentiation of the ABO Blood Group Gene Frequencies in Europe.
Human Biol., 42/3, 450-468, 1951.

McILWAIN, H.:
In: Pearse,A.G.E.: Histochemistry: Theoretical and applied 3rd. ed.: J. and A. Churchill, London, 1968.

McKINNEY,R.M., SPILLANE, J.T., REARCE,G.W.:
Factors Affecting the Rate of Reaction of Fluorescein Isothiocyanate with Serum Proteins.
J.Immunol., 93, 232-242, 1964.

MORGAN,W.T.J., WATKINS,W.M.:
Genetic and Biochemical Aspects of Human Blood Group A-, B-, H-, Le^a- and Le^b- Specifity.
Brit.Med.Bull., 25/1, 30-34, 1969.

MOURANT,A.E., KOPEC,A.C., DOMANIEWSKA-SOBCZAK,K.:
The Blood Group: Comprehensive Tables and Maps of World Distribution.
Blackwell Sci.Publ. Oxford., 1958.

NEMESKÉRI, J.:
A paleodemográfiai kutatások archeológiai és antropológiai feltételei.
Demográfia, 13, 32-72, 1970.

PAINTER,T.J., WATKINS,W.M., MORGAN,W.T.J.:
Serologically Active Fucos-Containing Oligosaccharides Isolated from Human Blood Group A and B substances.
Nature, 206, 594-597, 1965.

PEARSE, A.G.E.: Histochemistry: Theoretical and Applied. 3rd. ed.J. and A.Churchill, London, 1968.

PUSZTAI,A., MORGAN,W.T.J.: Studies in Immunochemistry.22. The Amino Acid Composition of the Human Blood Group A, B and H and the Specific Substances. Biochem.J., 88, 546-555,1963.

RACE,A.A., SANGER,R.: Blood Groups in Man.4th. ed.Blackwell Sci.Publ.Oxford, 1962.

REGE,V.P., PAINTER,T.J., WATKINS,W.M., MORGAN, W.T.J.: Isolation of Serologically Active Fucose-containing Trisaccharide from Human Blood Group Le^a Substance. Nature /Lond./, 204, 740-742, 1964.

RIGGS,J.I., SEIWALD,R.J., BRUCKHALTER, J.H., DOWNS, C.M., METCALF, T.G.: Isothiocyanate Compounds as Fluorescent Labelling Agents for Immune Serum. Amer.J.Path., 34,1081-1092, 1958.

ROGERS,H.J., WEIDMANN,S.M., PERKINSON,A.: Studies on Skeletal Tissues. The Collagen Content of Bones from Rabbits, oxen and Humans. Biochem.J., 50, 437-452,1952.

RUFFIÉ, B.J.: Hématologie géographique, Masson et Cie., Paris, 1966.

SALAZAR,M.M.: Estudio immunilogico de restos osseos antiguos. Cac., ed.Méx., 81, 122-138, 1951.

SALDANHA,P.H.: ABO Blood Groups, Age and Disease. Rev.Bras.Biol., 16, 349, 1956.

SCHWARZFISCHER,F., LIEBRICH,K.: Serologische Untersuchungen an prähirtorischen Bevolkerungen insbesondere an altkanarischen Mumien. Homo, 14, 129-133, 1963.

SMITH, M.: Blood Groups of Ancient Dead. Science, 131, 699-702, 1960.

SMITH, M.: Paleoserology. In: Science in Archeology. Tames and Hudson, London, 437-446, 1963.

SPRINGER,G.F., WIENER,A.S.: A Alleged Causes of the Present Day World Distribution of the Human ABO Blood Groups. Nature /Lond./, 193, 444-446,1962.

SPRINGER,G.F., WILLIAMSON,P.: Blood Group Determinations of Ancient Tissues. Science, 131, 1858-1870. 1960.

SPRINGER,G.F., WILLIAMSON,P., BRABDES,W.C.: Blood Group Activity of Gram-negative Bacteria. J.Exp.Med., 113, 1077-1093, 1961.

STACEY,M., BARKER,S.A.: Carbohydrates of Living Tissues. D. Van Nortrand Co. LTD, London, 135-147, 1962.

STEVENS In: FARKAS,GY./Szerk./: Antropológiai praktikum I. Paleoantropológiai metodikák. Kézirat, Szeged, 1953.

SZABÓ, L.: Származásmegállapitási perekben alkalmazott vércsoportvizsgálatok kiterjesztésének lehetőségei eredményeink tükrében.
Morph. és Ig.Orv.Szemle, 16.2. 103-110, 1976.

SZENTÁGOTHAI, J.:
Functionalis anatomia.
Medicina Könyvkiadó, Budapest, 1971.

THIEME,F.P., OTTEN,C.M.:
The Unreability of Blood Typing Aged Bones.
Amer.J.Phys.Anthrop., 15, 387-397, 1957.

THIEME,F.P., OTTEN,C.M., SUTTON,H.E.:
The Blood Typing of Human Skull Fragments from the Pleistocene.
Amer.J.Phys.Anthrop., 14, 437-443, 1956.

THOMA, A.: Selective Differentation of the ABO Blood Group Gene Frequencies in Europe.
Human Biol., 42/3, 450-468, 1970.

THORDARSON,G., BJARNASON,O., LINCOLN,P.J., DODD,B.E.:
ABH secretor and Lewis type frequencies in an Icelandic series.
J.med.Genet., 9, 46-47, 1972.

TÖRŐ, I.: Szövettan.
Medicina Könyvkiadó, Budapest, 1962.

TÖRÖK, GY.: Beobachtung bei der Freilegung des Gräberfeldes von Sopronkőhida.
Arbeits. u. Forsch.z.Sächsischen Boden denkmalpflege, 11-12, 463-482, 1963.

YOSHIKI,S.: An application of cyanuric chloride fixation to the dental tissue.
Bull.Tokyo Dent.Coll., 15, 1-5, 1974.

VARGA,I.: Kunszállás-Fülöpjakabon feltárt avarkori temető részletes embertani vizsgálata.
Doktori disszertáció. Kézirat, Szeged, 1973.

VOGEL, F.: ABO blood groups and disease. Amer.J.Hum.Genet., 22, 464-475, 1970.

VOGEL, F., PETTENKOFER, H.J., HELMBOLD, W.: Über die Populationsgenetik der ABO-Blutgruppen, 2. Mitteilung. Häufigkeit und epidemische Erkrankungen. Acta Genet. et. Statist.Med., 10, 267-294, 1960.

VOIGT,G.E.: Ein neuer histotopochemischer Nachweis des Calciums mit Naphtalhydroxan-Säure. Beitr.Path.Anat., 124, 351-360, 1960.

WATKINS,W.M.: Blood-group Specific Substances. In: Gottschalk,A.: Glycoproteins: their Composition, Structure and Function. Elsevier, Amsterdam, 11, 462-507, 1966.

WEINBERG,H.M., MAKIN,D., NELKEN,J., GUREWITZ,J.: A and B Antigens in Human Bone Tissue. J.Bone Jt.Surg., 41/B, 151-163, 1959.

WILSON,G.S., MILES,A.A.: Topley and Wilson's Principles of Bacteriology and Immunology. 5th ed. Williams and Wilkins, Baltimore, 1964.

ORVOSTUDOMÁNYI EGYETEM KÖNYVTÁRA SZEGED 852 1977

Ezúton mondok köszönetet Dr.LENGYEL IMRE /Budapest/ orvos-antropológusnak, akinek elméleti és gyakorlati segitsége nélkül ez az értekezés nem valósult volna meg. /Külön köszönet a 11.-13. ábrák átengedésért./ Dr.LIPTÁK PÁL /Szeged, JATE Embertani Intézet/ tanszékvezető egyetemi tanárnak köszönöm, hogy intézetében lehetőséget biztositott a vizsgálatok elvégzésére. Dr. CSILLIK BERTALAN /SZOTE, Anatómiai, Szövet- és Fejlődéstani Intézet/ tanszékvezető egyetemi tanárnak az értekezés megirásához ill. a kiegészitő vizsgálatok elvégzéséhez nyújtott segitségéért mondok köszönetet. BÓDI IBOLYA titkárnőt az értekezés technikai kivitelezéséért illeti köszönet.

Ezenkivül mindazoknak hálával tartozom, akik munkámat közvetve vagy közvetlenül támogatták.

SZEGEDI ORVOSTUDOMÁNYI EGYETEM
Anatómiai, Szövet- és Fejlődéstani Intézete
Igazgató: Dr. Csillik Bertalan egyetemi tanár
Szeged, Kossuth Lajos sgt. 40. Telefon: 14-325, 11-435, 12-743
Levélcím: 6701 Szeged, Pf. 512.

Birálat

Bodor Tibor: "Az emberi csontszövet paleoszerológiai vizsgálata. Módszertani és szerogenetikai értékelés" c. egyetemi doktori értekezéséről.

Szerző 95 oldal terjedelmü, 105 irodalmi hivatkozást tartalmazó, 7 fénymikroszkópos felvétellel, 9 vonalas ábrával és 17 táblázattal illusztrált doktori értekezésében ismerteti az emberi csontszövet paleoszerológiájára vonatkozó vizsgálatait, melyeket a JATE Embertani Intézetében kezdett meg, s melyek egy részét a "Humangenetik" c. folyóiratban 1974-ben angol nyelven publikálta. Értekezésének központjában a Szolnok Rákóczifalva-Katélydombi avarkori temetőből származó csontvázmaradványokon végzett ABO vércsoport-meghatározásai állanak. A vizsgálatokat egyrészt az általánosan elterjedt Boyd-Candela-féle abszorbciós módszer módositott változatával, másrészt az utóbbi években bevezetett Lengyel-féle fluoreszcens antitest módszerrel végezte el. A kétféle módszer eltérő eredményeket adott a vizsgált történeti népesség szerogenetikai egyensúlyára vonatkozóan. Mig a fluoreszcens antitest módszerrel végzett vizsgálatok a genetikai egyensúly meglétére utalnak, addig az abszorbciós módszerrel végzett vizsgálatok a genetikai egyensúly hiányát bizonyitják. E különbség az abszorbciós módszer lényegéből fakad és gyakorlatilag az AB csoportúak esetszámának nagymérvü megnövekedésében nyilvánul meg. Ezért a szerző az abszorbciós módszer szolgáltatta eredményeket nem tartja értékelhetőnek, s ezért a szerogenetikai értékelésnél a fluoreszcens antitest metódussal kapott adatokat veszi figyelembe. Az általa vizsgált avarkori temető népességének ill. a már mások által elemzett hasonló korú népesség-csoportoknak a szerogenetikai profilját matematikai statisztikai módszerrel hasonlitotta össze. Az összehasonlitás eredményeként megállapitotta, hogy vizsgálati anyaga az Alatyтyán II. kronológiai csoporttal mutat legnagyobb fokú szerogenetikai hasonlóságot. Azt, hogy ez a két népesség-csoport közös etnikai eredetü, a régészeti információk is alátámasztják.

Bodor Tibor értekezése mind formai, mind pedig tartalmi szempontból maradéktalanul eleget tesz az egyetemi doktori értekezésekkel szemben támasztott kivánalmaknak. A disszertáció nyelvezete megfelelő, stilusa tiszta, világos, el-

vontsága mellett is jól érthető. Külön érdeméül tudható be, hogy paleoszerológiai kutatásainak eredményeit általános biológiai és etnikai szempontok alapján is értelmezi. Egyedül illusztrációs anyagának kissé eklektikus volta kifogásolható; amennyiben az értekezés publikálásra kerül - amire Egyetemünk Studia Medica sorozata alkalmas közlési fórumnak látszik - úgy a fluoreszcens immunhisztokémiai mikrofotogrammok további kiegészitését fogom javasolni.

Ettől függetlenül azonban Bodor Tibor munkáját, mint kiváló doktori értekezést, elfogadásra ajánlom, s számára, doktori szigorlatainak megfelelő szintü letétele esetén, a summa cum laude egyetemi orvosbiológiai doktori cim megadását javaslom.

Szeged, 1976. szeptember 20.

SZEGEDI ORVOSTUDOMÁNYI EGYETEM Anatómiai, Szövet- és Fejlődéstani Intézet

Dr.Csillik Bertalan
tanszékvezető egyetemi tanár
a biológiai tudományok doktora