

DOKTORI (PHD) ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

**A CSONTKÉMIAI VIZSGÁLATOK JELENTŐSÉGE ÉS ALKALMAZÁSA A
TÖRTÉNETI ÉS IGAZSÁGÜGYI ANTROPOLÓGIÁBAN**

MÁRK LÁSZLÓ
egyetemi tanársegéd
Pécsi Tudományegyetem
Biokémiai és Orvosi Kémiai Intézet

Pécs
2006.

1. BEVEZETÉS

Az antropológiai és régészeti maradványok elemzése rendkívül összetett feladat. A kutatók számára igen nagy kihívást jelent az egykori életmód, társadalom és környezet rekonstrukciója. Az elmúlt évek során a tudományág által alkalmazott kutatási módszerek — a segédtudományok fejlődésével karöltve — nagy változáson mentek keresztül, így a történeti, recens és igazságügyi embertan is rutinszerűen használja a legújabb biológiai, kémiai és fizikai vizsgálati technikákat. Azon túl, hogy ezek a modern természettudományos vizsgálati eljárások kiválóan kiegészítik a morfológiai jellegek által szolgáltatott információkat, hozzájárulnak a klasszikus antropológia által nem vizsgálható, töredékes, rossz állapotú maradványok tudományos feldolgozásához.

Jelen tanulmány az antropológiai leletek kémiai elemzéseinek alkalmazhatóságával és fejlesztési lehetőségeivel foglalkozik. Napjainkban számos közlemény jelenik meg a témával kapcsolatban, azonban viszonylag kevés a szisztematikus, összetett vizsgálat. Hazánkban, Lengyel Imre a hatvanas évektől végzett nemzetközi szintű csontkémiai vizsgálatokat, melyek azonban tragikus halála következtében megszakadtak.

Ezért tűztem ki célul csontkémiai vizsgálatok hazai lehetőségeinek megteremtését és a módszerek fejlesztését. Vizsgálataimat különböző régészeti korszakokból származó és recens csontanyagon végeztem el, a leletek a Szegedi Tudományegyetem Természettudományi Kar Embertani Tanszékének és a Pécsi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Kar Igazságügyi Orvostani Intézetének gyűjteményéből származnak.

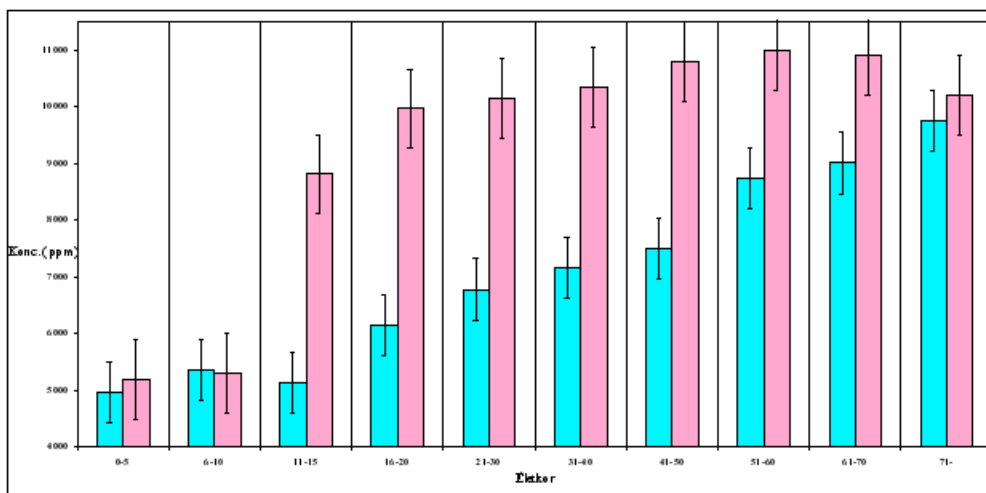
Disszertációmban ismertetem a csontszövet általános kémiai felépítését és a fosszilizáció során bekövetkező főbb változásokat. Vizsgálataimhoz számos modern analitikai módszert alkalmaztam, ezek közül kiemelném a nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiát (HPLC) és a mátrix segített lézerdeszorpciós ionizációt alkalmazó repülési idő tömegspektrometriát (MALDI TOF MS). A két módszernek óriási szerepe van napjaink analitikájában és orvosi diagnosztikájában, ezeket az eredményeket az igazságügyi és történeti antropológia is sikeresen alkalmazhatja.

2. KUTATÁSI CÉLOK

1. Olyan analitikai kémiai módszerek kifejlesztése és rutinszerű alkalmazása, amelyek a rendkívül töredékes történeti és igazságügyi anyagra egyaránt alkalmazható nem meghatározást tesznek lehetővé.
2. A táplálkozási szokások és a csontszövet kémiai összetétele közötti összefüggések pontosabb feltárása. A Kárpát-medence történeti népességének táplálkozástudományi vizsgálata, különös tekintettel a neolitikáció időszakára és a Kr.u. IX. és XI. század közötti periódusra.
3. Az egykori temetkezési szokások pontosabb megismerése természettudományos módszerek segítségével.
4. Olyan analitikai módszerek kifejlesztése, amelyek alkalmasak történeti népességeket érintő betegségek (tuberculosis) kimutatására.

4. EREDMÉNYEK

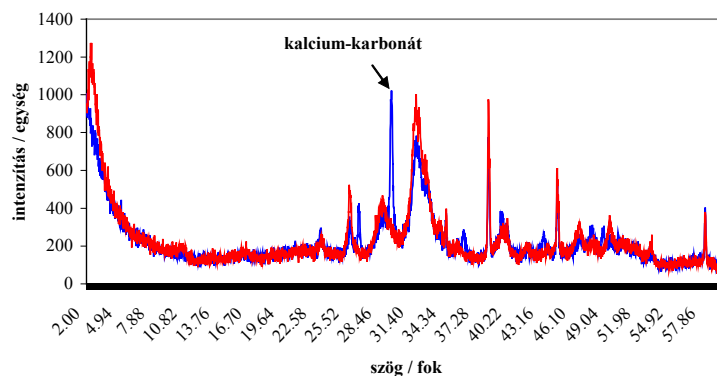
Lengyel Imre professzor úr tragikus halála óta elsőként végeztem el szisztematikus csontkémiai vizsgálatokat régészeti és igazságügyi maradványokon.



Csontmaradványok citrát-tartalmának alakulása az életkor függvényében

A vizsgálat során a csontszövetből nemi hormonokat (ösztrom, ösztadiol, ösztrol, progeszteron, tesztoszteron) vontam ki, amelyeket tömegspektrometriával határoztam meg. Sikeresen határoztam meg a nemét egy erősen károsodott Dunából előkerült recens emberi maradványnak. Az elemzést DNS és morfológiai vizsgálatokkal ellenőrztem, amelyek megerősítették eredményeimet.

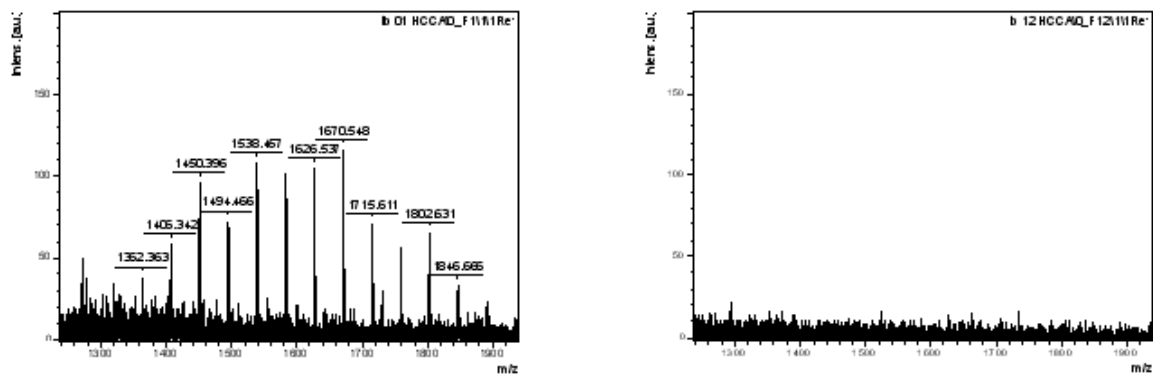
3. Nagyszámú, szisztematikusan gyűjtött antropológiai leletek táplálkozástudományi vizsgálatát végeztem el. Az elemzésekhez számos modern műszeres analitikai módszert használtam fel, amelyek közül a neutron aktivációs analízist és az izotóparány tömegspektrometriát elsőként alkalmaztam. Kémiai módszerekkel mutattam ki a IX. és XI. századokban bekövetkező alapvető táplálkozási változást. Elvégeztem egy teljes őskori temető kémiai analízisét és táplálkozástudományi vizsgálatát.
4. Természettudományos eszközökkel bizonyítottam a szarmata népesség körében alkalmazott különleges temetkezési szokás meglétét.



Röntgendiffrakciós vizsgálatok eredményei a madarasi Szarmata leleteknél

Korábbi antropológiai megfigyelések alapján a Madaras-Halmok lelőhelyen feltárt több mint 600 síros hunkori szarmata temető csontanyaga erősen rossz állapotú, a csontokon ismeretlen eredetű szerves anyag figyelhető meg. Komplex kémiai elemzéseim eredményeként sikerült megállapítanom egy különleges temetkezési szokás meglétét a szarmata lakosság körében. Analitikai vizsgálatok segítségével bizonyítottam a bőrbe temetkezés rítusát a késői szarmatáknál. A különleges temetkezést alkalmazó csoport esetében életmódbeli eltérést is kimutattam, amely még ismeretlen társadalmi vagy származásbeli különbségekre utalhat.

5. Munkám során egy teljesen új Mycobacteriális fertőzések kimutatására alkalmas tömegspektrometriás vizsgálati módszert fejlesztettem ki. A MALDI TOF tömegspektrometriára épülő technika alkalmas rendkívül töredékes (5–10 mg) régészeti és recens csontmaradványok nagyhatékonyságú, pontos, nagyérzékenységű vizsgálatára. A módszer alkalmas olyan csontminták vizsgálatára is, amelyek fertőzöttek de ennek csontokon megjelenő morfológiai nyoma még nem figyelhető meg. A MALDI TOF tömegspektrometria érzékenysége és az egyszerű mintaelőkészítés hozzájárul ahhoz, hogy olyan csontmaradványokon is pozitív eredményt kaphatunk, ahol a mycobacteriális DNS izolálás és szekvenálás nem járt sikerrel.



Mycobacterium-mal fertőzött (A) és egészséges (B) csontminta MALDI TOF vizsgálata

A dolgozatban ismertetett módszer alapjait képezi egy hosszútávú patológiás kutatásnak, amelyben kis molekulatömegű biomarkerek és fehérjék, fehérjetöredékek tömegspektrometriás vizsgálatát végzem el. Elképzeléseim szerint emberi maradványokból származó fehérjék szekvenciájának és kémiai módosításainak meghatározása nagyban hozzájárul a paleopatológia további fejlődéséhez.

6. ÖSSZEZGÉS

B)

Munkám során törekedtem arra, hogy kis mintaigényű, kevés mintaelőkészítést igénylő analitikai módszereket alkalmazzak az antropológiai maradványok elemzésére. A MALDI TOF tömegspektrometria maximálisan kielégíti a high-throughput analitikai technikák iránt támasztott követelményeket. Segítségével rendkívül gyorsan akár több száz minta is vizsgálható, így lehetővé válik teljes temető komplex feldolgozása.

Reményeim szerint a kifejlesztett és a diszertációmban ismertetett módszerek segítségével hazánk nem csupán bekapcsolódhat a nemzetközi csontkémiai vizsgálatokba, hanem meghatározó szerepet tölthet be azok fejlesztésében.

7. PUBLIKÁCIÓS LISTA

AZ ÉRTEKEZÉS TÁRGYÁHOZ KAPCSOLÓDÓ SAJÁT KÖZLEMÉNYEK

1. **Márk L.** (2002) The chemical and bloodgroup analyses of paleoanthropological remains, *Collegium Anthropologicum* **26**, p.129 (IF: 0,4140)
2. **Márk L.** (2002) Chemical analyses of osteological remains from a Sarmatian period cemetery at Madaras-Halmok, Hungary, *Research Papers in Anthropology and Linguistics* **5**, pp.213–229
3. **Márk L.**; Muka A. (2002) Talajtani elemzés a csengelei 57-es sírból, Horváth F.: *A csengelei kunok ura és népe*, pp.350–352
4. **Márk L.** (2003) A Szarmata népesség temetkezési szokásiról, vegyészszemmel – A burial rite of Sarmatian population, in mirror of the chemis, *Studia Archaeologica* **9**, pp.151-163
5. **Márk L.** (2004) Bajnóczky I.: Geschlechts- und Altersbestimmung durch Bioanalytische Methoden, *Rechtsmedizin* **14 (4)**, pp.359
6. Patonai Z.; Bajnóczky I.; **Márk L.** (2005) Az analitikai kémia szerepe az emberi csontmaradványok vizsgálatában, *Orvosi és Gyógyszerészeti Szemle* (Marosvásárhely), **51** (supl.1), p.10
7. **Márk L.** (2005) Osteochemical analyses of sarmatian skeletal remains from Hungary, *Geoarchaeological and Bioarchaeological Studies* **3**, pp.489-491
8. **Márk L.**; Marcsik A. (2006) Csontkémiai vizsgálatok jelentősége és alkalmazhatósága a történeti kutatásokban, *Studia Archaeologica* (in press)
9. **Márk L.**; Marcsik A. (2006) Václav Smrčka: Trace elements in the bone tissue, *Folia Anthropologica* (in press)

10. **Márk L.** (2006) High-throughput sex determination method for forensic and paleoanthropological remains by MALDI TOF/TOF mass spectrometry, *Forensic Science International* (submitted)

AZ ÉRTEKEZÉS ANYAGÁBÓL BEMUTATOTT ELŐADÁSOK, POSZTEREK

1. **Márk L.:** The Chemical analysis of some Sarmatian anthropological finds from cemetery at Madaras-Halmok (Hungary), British Association of Biological Anthropology and Funerary Archaeology, Bradford, Anglia, 2000. 09. 15–18, p.21
2. **Márk L.:** Interpreting the past. Study of the complex assay of the archaeological sites, Australasian Archaeometry Conference 2001, Auckland, Új-Zéland, 2001. 02. 05–09., p.45
3. **Márk L.:** Chemical analyses of osteological remains from a Sarmatian period cemetery at Madaras-Halmok, Hungary, Australasian Archaeometry Conference 2001, Auckland, Új-Zéland, 2001. 02. 05–09., p.44
4. **Márk L.:** Osteochemical analyses of paleoanthropological remains from Hungary, 33rd International Symposium on Archaeometry, Amsterdam, Hollandia, 2002. 04. 22–26., p.265
5. **Márk L.:** The chemical and serological analyses of paleoanthropological remains, UK Archaeological Science 2003, Oxford, Anglia, 2003. 04. 2–5., p.54
6. **Márk L.;** Marcsik A.: New perspectives of sex and age determination of paleoanthropological remains, 14th Congress of European Anthropological Association, Komotini, Görögország, 2004. 09. 01–05., p.28
7. **Márk L.;** Marcsik A.; Bajnócky I.: New chemical methods for sex and age determination of human remains, 34th International Symposium on Archaeometry, Zaragoza, Spanyolország, 2004. 05. 3–7

8. **Márk L.**; Bajnóczky I.; Marcsik A.: New analytical methods for sex determination of human skeletal remains, 1st Biomolecular Archaeology Symposium, Amsterdam, Hollandia, 2004. 03. 18–19., p.34
9. **Márk L.**; Bajnóczky I.; Marcsik A.: Patológiás csontelváltozások igazságügyi és történeti antropológiai anyagon, A Magyar Igazságügyi Orvosok Társaságának XIII. Nagygyűlése, Szeged, 2005. 09. 28–31
10. **Márk L.**: New Analytical Methods for sex determination of human skeletal remains, 35th International Symposium on Archaeometry, Beijing, China, 2005. 05. 10–15.
11. **Márk L.**; Marcsik A.: Medicine in the Dark Ages? Chemical analysis of syphilis infected bones, 27th Scientific Conference of Hellenenic Society for Biological Sciences, Nafplio, Görögország, 2005. 05. 12–14., p.229
12. **Márk L.**: Csontkémiai vizsgálatok a történeti antropológiában, IV. Kárpát-medencei Biológiai Szimpózium, 2005. 10. 17–19.
13. **Márk L.**; Marcsik A.: Mass Spectrometry-based proteomic analysis of paleoanthropological remains, 36th International Symposium on Archaeometry 2006. 05. 2–6., Quebec, Kanada
14. Montskó G.; Németh V.; Pandur E.; Nagy J.; Patonai Z.; **Márk L.**: Paleoproteomics: Determination of proteins and pathological biomarkers from human bone remains using MALDI TOF/TOF mass spectrometry, 5. Magyar Sejtanalitikai Konferencia, 2006. 05. 4–6., 2006

AZ ÉRTEKEZÉS ANYAGÁT KÖZVETLENÜL NEM ÉRINTŐ KÖZLEMÉNYEK

1. **Márk L.** (1997) *Évezredek ünnepei és hétköznapjai*, MFM–JATE RT Diákműhelyéből **3**, Kiállítási katalógus, Szentes, pp.27–29
2. Farkas Cs.; **Márk L.** (2000) Szarmata kori fémleletek analitikai vizsgálata - Die analyse von sarmatenzeithichen metallgegenständen, *Hadak Útján* **X**, pp.161–179

3. **Márk L.** (2001) Egy középkori bronzgyűrű kémiai összetételéről - Über die Chemische Zusammensetzung eines Mittelalterlichen Bronzeringes, *Studia Archaeologica* **7**, pp.391–392
4. Braun T.; Rausch H.; Bíró L.P.; Zsoldos E.; Ohmacht R.; **Márk L.** (2003) The survivability of polycrystalline C₆₀ to high speed vibration milling, *Chemical Physics Letters* **375**, pp.522-524 (IF: 2,4380)
5. **Márk L.**; Ohmacht R.; Glasl S.; Reznicek G (2003) Separation of sesquiterpenes from *Achillea* species by HPLC-MS on non-porous columns, 5th Balaton Symposium, Siófok, 2003. 09. 3–5., p.62
6. Szabó Z., Ohmacht R., **Márk L.** Stöggel W., Huck Ch., Bonn G. K (2003) Optimization of the preparation of silica based long-chain (C18 and C30) reversed phase packings for HPLC. II. Evaluation and applications of C30 packing materials with different pore structure, 5th Balaton Symposium, Siófok, 2003. 09. 3–5., p.178
7. Avar P.; **Márk L.**; Ohmacht R. (2004) Rezveratrol és piceid folyadékkromatográfiás meghatározása borokban, Magyar Elvásztási Társaság Vándorgyűlése, Hévíz, 2004. 09. 22–25, P-31
8. **Márk L.**; Pour Nikfardjam M.S.; Avar P.; Ohmacht R. (2005) A Validated HPLC Method for the Quantitative Analysis of Trans-Resveratrol and Trans-Piceid in Hungarian Wines, *Journal of Chromatographic Science* **43 (9)**, pp.445–449 (IF: 1,1660)
9. **Márk L.**; Avar P.; Pour Nikfardjam M.S.; Ohmacht R (2005) HPLC-MS Analysis of Resveratrol and Piceid isomers in Hungarian red Wines, 6th Balaton Symposium, Siófok, 2005. 09. 7–9.
10. **Márk L.**; Szabó Z.; Ferenczi T.; Ohmacht R.; Braun T. (2005) HPLC-MS analysis of biocompatible C₆₀ and fullerene derivatives, 6th Balaton Symposium, Siófok, 2005. 09. 7–9.

11. Szabó Z., Böddi K.; **Márk L.**; Szabó L.Gy.; Ohmacht R. (2005) New HPLC method for determination of nitrate ion from nettle (*Urtica dioica* sp.), 6th Balaton Symposium, Siófok, 2005. 09. 7–9.
12. Avar P.Á.; Ohmacht R., **Márk L.** (2005) A bor aktív összetevőinek elemzése, *Orvosi és Gyógyszerészeti Szemle* (Marosvásárhely) **51** (supl.1), p.58
13. Ferenczi T.; Bajnóczky I.; **Márk L.** (2005) Gombamérgek analitikai vizsgálatának lehetőségei, *Orvosi és Gyógyszerészeti Szemle*, **51** (supl. 1), 80
14. Pour Nikfardjam M.S.; **Márk L.**; Avar P.; Figler M.; Ohmacht R. (2006) Polyphenols and anthocianins in red wines from the Hungarian Villány region, *Food Chemistry* **98** (3), 453–462 (IF: 1.5350)
15. Szabó Z.; Böddi K.; **Márk L.**; Szabó Gy.; Ohmacht R. (2006) Analysis of nitrate ion in nettle (*Urtica dioica* L.) by ion-pair chromatographic method on C30 stationary phase, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* (in press) (IF: 2,3270)