

PALEOSZEROLÓGIAI VIZSGÁLATOK

Írta: LENGYEL IMRE

(Budapest)

Egy új módszer tudományág-teremtő értékét a gyakorlatban két tényező határozza meg: 1. mennyire megbízhatóak a módszer eredményei? és 2. tudjuk-e értelmezni azokat?

Hogy az emberi csontmaradványokon végzett vércsoport-vizsgálatok, a tudományos élet színterén való megjelenésüktől eltelt mintegy 40 év alatt, megteremtették-e a paleoszerológiát mint a történeti embertan és a humánbiológia interdiszciplináris ágazatát, erre a kérdésre is csak a fenti két gyakorlati kritérium értékelése révén tudunk válaszolni.

A válaszadás megkönnyítése céljából foglalom össze a több mint 10 éve folytatott paleoszerológiai vizsgálataim (LENGYEL—NEMESKÉRI 1963, 1972; LENGYEL 1964, 1967, 1970, 1971a, 1971b, 1971c, 1972a, 1972b; FARKAS—LENGYEL—MARCSIK 1971; LENGYEL—FARKAS 1972) eredményeit.

Metodikai áttekintés

A paleoszerológiai vizsgálatok alapja az az empirikus észlelés, amely szerint a praehistorikus és a különböző történeti korú emberi csontmaradványok szöveti alapállományában az ABO csoportspecifitásért felelős antigénstruktúrák általában évezredekken át is megőrzik szerológiai aktivitásukat. E szöveti antigén minőségi tulajdonságának, az ABO specifitásnak meghatározására több módszert is kidolgoztak:

I. A *haemagglutináció-gátlás jelenségén alapuló abszorpciós módszerrel* (BOYD 1933) indultak meg a paleoszerológiai vizsgálatok. E módszer előnyeit és gyengeségeit egyaránt bizonyítja azoknak a kutatóknak a hosszú sora, akik valamilyen megpróbálkoztak az abszorpciós módszer alkalmazásával, majd az eredményeik keltette hiányérzet a módszer valamilyen módosítására ösztönözte őket: többek között BOYD—BOYD 1934; MATSON 1934, 1936; CANDELA 1936, 1940; DERS 1940; FURUHATA—OKIJAMA—SHIMIZU 1950; LAUGHLIN 1950; SALAZAR 1951; GILBEY—LUBRAN 1952, 1953; THIEME—OTTEN 1957; WEINBERG—MAKIN—NELKEN—GUREVITCH 1959; SPRINGER—WILLIAMSON 1960; SMITH 1960, 1963; EZRA—COHN—COOK 1961; SCHWARZFISCHER—LIEBRICH 1963; KOUT—VACIKOVA—STLOUKAL 1965; BORGOGNINI 1966, 1968, 1969; BORGOGNINI—OMER 1967; KIRST—LADES 1971.

II. Az abszorpciós módszer lényegéből fakadó hibaforrások kiküszöbölése céljából más elvi alapokra épülő lehetőséget keresve jutottam az *immun-*

hisztológiai jellegű fluoreszcenz-antitest metódusnak (COONS—CREECH—JONES 1941; COONS—KAPLAN 1950; GOTTSCHESKI 1954; MELLORS—SIEGEL—PRESSMAN 1955; MILCH—RALL—TOBIE 1957; CHERRY—GOLDMAN—CARSKI—MOODY 1960) a paleoserológia területén történő kipróbálásához (LENGYEL—NEMESKÉRI 1963, 1964; LENGYEL 1968).

A fluoreszcenz-antitest metódus elvi alapja az, hogy a reaktív antigéneket tartalmazó szövettani metszetre rétegezett és fluoreszcenz-festékkel „jelzett” antitestek pozitív esetben — az antigének szöveti lokalizációját is feltüntetve — precipitálódnak. Az antigén-antitest kapcsolódások helyén megkötődött fluoreszcenz-festék ultraibolya fény hatására, mikroszkóposan leolvasható, látható fényt emittál. Míg negatív esetben, azaz ha az antigén-antitest kapcsolódás elmarad, a fluoreszcenz-festékkel „jelzett” antitesteket a csontmetszetről maradéktalanul kimoshatjuk, tehát negatív esetben aktív fluoreszcenz-jelenség nem észlelhető.

A fluoreszcenz-antitest metódus eredeti formájában lágyrészekből készült, friss vagy gyorsfagyasztott metszeten, illetőleg bakteriológiai preparátumokon az antigén-antitest reakció *in loco*, szöveti kimutatására alkalmas (PEARSE 1960). Friss vagy történeti korú (ásatag) csontszövet szerológiai karakterének meghatározására azonban ebben az eredeti formájában nem használható. Ezért a csontszövet vizsgálhatóvá tétele céljából módosítanom kellett az eredeti eljárást, két alapvető mozzanatában:

az első módosítás révén a csontszövetet is alkalmassá tehetjük immunfluoreszcenciás vizsgálatra,

a második módosítás révén pedig a módszer érzékenységét és megbízhatóságát fokozhatjuk.

Bár eredményeit tekintve módszerem megbízhatóbb az abszorpciós eljárásnál, hátránya, hogy beállítása hosszadalmas, és végrehajtása nagy gyakorlatot igényel.

III. A *kettős géldiffúziós metodikát* alkalmazza az OUDIN (1946) eredeti eljárására épülő OUCHTERLONY-test (1949a, 1949b, 1949c, 1953, 1962). E módszernek egyszerű vagy több komponensből álló szerológiai rendszerek meghatározására egyaránt alkalmazható lineáris (WILSON—PRINGLE 1954, 1955; OUCHTERLONY 1962), anguláris (ELEK 1949; JENNINGS—MALONE 1954) és radiális FEINBERG 1957; ALADJEM—JAROS—PALLADINO—LACKNER 1959; VAN OSS—HECK 1962) változatai ismeretesek.

A vizsgálandó csontminta anyagából megfelelő módszerrel oldatba vitt antigének agar-gél közegben diffundálva kerülnek kapcsolatba az ismert specifitású és titerértékű antitestekkel. A találkozásuk frontvonalában kialakuló precipitációs zóna helyéből, alakjából, hajlási szögéből stb. identifikálható a csontminta anyagából kioldott szöveti antigének szerológiai karaktere (BIRD 1959; OSS—BRONSON 1969). Különböző történeti korokból származó néhány csontmintasorozat vizsgálatára alkalmazta a kettős géldiffúziós metodikát KELLERMANN (1971, 1972). Bár eddigi eredményei biztatóak, az OUCHTERLONY-test paleoserológiai alkalmazhatóságának kérdésében ez idő szerint még korai lenne állást foglalni.

IV. Az igazságügyi orvostanban a „vérfolt-diagnosztika” céljára ajánlott és széles körben elterjedt *elució*s módszert csontszövetből történő vércsoportmeghatározásra HARSÁNYI alkalmazta először. Tapasztalatai szerint a vizsgálandó csont anyagából kioldott csoportaktív anyagok identifikálására A és B, ill. AB csoportú secretor egyének esetében nagy biztonsággal használható az

eluciós módszer. A negatív eredmény nem feltétlenül a vizsgált csontminta O csoporttulajdonságát jelenti, hanem egyéb biológiai, dekompozíciós vagy technikai okok következménye is lehet. Az eluciós módszernek a csontszövet-hez adaptált változata (HARSÁNYI 1965; HARSÁNYI—GERENCSÉR 1968) friss vagy a kriminalisztikai gyakorlatban zömmel előforduló, néhány évtizedesnél nem régebbi csontanyagban 50—55%-os biztonsággal alkalmazható.

Az abszorpciós és a fluoreszcens-antitest metódus eredményeinek összehasonlítása

I. Recens sorozat vizsgálata

A különböző vizsgálati metodikák eredményeinek megbízhatóságáról úgy kaphatunk egyértelmű felvilágosítást, ha azokat egy más, már kipróbált értékű módszer eredményeihez hasonlítjuk.

Ezért a csontszövetből történő vércsoport-meghatározásra legáltalánosabban használt, a haemagglutináció-gátláson alapuló abszorpciós módszer és a módosított (LENGYEL—NEMESKÉRI 1964) fluoreszcens-antitest metódus vizsgálati eredményeit egy statisztikailag értékelhető esetszámú ($N = 917$), ismert vércsoportú, szekrétor egyénekből válogatott „standard” sorozat eredményeivel hasonlítottam össze.

1. táblázat

Recens csontminta-sorozaton abszorpciós és fluoreszcens-antitest módszerrel végzett vércsoportvizsgálatok eredményeinek összehasonlítása

Table 1. Comparison of the results of the blood-group examinations made on recent bone sample series with the absorption and the fluorescent antibody method

Vércsoport Blood group	Eredmények Results of the					
	Standard sorozat (Se) Standard series (Se)		Abszorpciós módszer Absorption method		Fluoreszcens-antitest módszer Fluorescent-antibody method	
	No.	%	No.	%	No.	%
A	385	41,984	323	35,223	379	41,330
B	196	21,374	188	20,502	193	21,047
0	236	25,736	250	27,263	233	25,408
AB	100	10,905	125	13,631	98	10,687
?	—	—	31	3,380	14	1,527
Összesen: Sum total:	917	99,999%	917	99,999%	917	99,999%

Standard sorozat — Abszorpciós módszer: $\chi^2_{[3]} = 9,32220$; $5\% > P > 1\%$ erősen szignifikáns
 Standard series — Absorption method: $\chi^2_{[3]} = 9,32220$; $5\% > P > 1\%$ strongly significant

Standard sorozat — Fluoreszcens-antitest módszer: $\chi^2_{[3]} = 0,16975$; $99\% > P > 90\%$
 Standard series — Fluorescent antibody method: $\chi^2_{[3]} = 0,16975$; $99\% > P > 90\%$
 nem szignifikáns
 not significant

Abszorpciós módszer — Fluoreszcens-antitest módszer: $\chi^2_{[3]} = 8,23964$; $5\% > P > 1\%$
 Absorption method — Fluorescent antibody method: $\chi^2_{[3]} = 8,23964$; $5\% > P > 1\%$
 erősen szignifikáns
 strongly significant

2. táblázat

A génfrekvencia-számítás eredményeinek összehasonlítása a három recens mintasorozatban
 Table 2. Comparison of the results of gene frequency calculations carried out on the three recent sample series

Gének Gens	Eredmények Results of the					
	Standard sorozat Standard series		Abszorpciós módszer Absorption method		Fluoreszcens-antitest módszer Fluorescent-antibody method	
	Fischer's method	Bernstein's method	Fischer's method	Bernstein's method	Fischer's method	Bernstein's method
p	0,315	0,313	0,280	0,293	0,315	0,313
q	0,179	0,180	0,176	0,193	0,179	0,180
r	0,506	0,507	0,543	0,513	0,506	0,507
	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
$\chi^2_{(1)}$	0,06733	—	12,2527	—	0,09758	—
D/ σ (Stevens szerint) (according to Steven's method)	—	+0,21	—	-3,19	—	-0,60
	90% > P > 70% nem szignifikáns not significant		P < 0,10% extrem szignifikáns extremely significant		90% > P > 70% nem szignifikáns not significant	

Standard sorozatom eseteit úgy válogattam össze, hogy egyes egyedeinek vércsoport-tulajdonságát vagy már in vivo meghatározták (műtét, transzfúzió, véradás, szülés stb. kapcsán), vagy post mortem magam határoztam meg a bal szívfél véreből.

Ennek a standard sorozatnak minden egyes esetében az egyik ágyéki csigolya szivacsos állományán párhuzamosan meghatároztam a vércsoport-tulajdonságot, az abszorpciós és a fluoreszcens-antitest módszerrel.

A csontszövet vizsgálata alapján a szekrétor tulajdonságú egyedekből válogatott standard sorozatom 917 esetéből abszorpciós módszerrel 31, fluoreszcens-antitest metódussal pedig 14 egyén vércsoportja nem volt meghatározható.

Amint az az 1., 2. táblázatban foglalt adatokból leolvasható, a két különböző módszer eredményeinek statisztikai analízise — a standard sorozat „valódi” értékeihez történt viszonyítás alapján — recens sorozaton az immunfluoreszcenciás módszer fölényét bizonyítja az abszorpcióssal szemben.

Vizsgálataim eredményeit részletesen elemezve kitűnik, hogy az abszorpciós módszer a standard sorozat értékeihez viszonyítva a valóságosnál több egyént sorolt a 0, illetve az AB és kevesebbet az A csoportba. A fluoreszcens-antitest módszer eredményei az A, a 0 és az AB csoportúak esetében egyaránt jobban megközelítették a standard sorozat „valódi” értékeit. A B csoportú egyének előfordulásának gyakorisága mindkét módszerrel lényegében megegyezett a standard sorozatával.

Az abszorpciós módszernek az A, a 0 és az AB csoportúak meghatározásánál mutatózó torzításából adódik az a sajátossága is, hogy a meghatározott és az elméletileg számított AB csoportúak esetszáma között a $\chi^2_{(1)}$ és a D/σ teszttel egyaránt szignifikáns különbség mutatkozott. Mivel egy statisztikailag is értékelhető minta szerogenetikai egyensúlyának megítélésében a $\chi^2_{(1)}$ és a D/σ teszt szignifikanciájának döntő szerepe van, saját eredményeim tanulsága szerint az abszorpciós módszer e torzításai miatt erre a célra már eleve alkalmatlan.

II. Különböző subfossilis emberi csontminták vizsgálata

Az abszorpciós és a fluoreszcenz-antitest módszer eredményeit két, statisztikai szempontból értékelhető esetszámú minta vizsgálata kapcsán hasonlítom össze:

1. Pécs (Baranya m.) István tér: Pécesett, a város több pontján, de zömmel az István téren egy ókeresztény temető feltárása van folyamatban. Az ásatások 1958 nyarán a Geizler E. utcában indultak (FÜLEP 1969). Azóta mintegy 130 sírt tártak már fel. A sírmellékletek alapján a temető használati idejét az ásató régész az i. sz. III. század második felétől az V. század első harmadáig terjedő időre teszi. A temető teljes nagysága ma még pontosan nem ítéhető meg. A vizsgált minta esetszáma: 124 (95,38%?).

2. Alattyán (Szolnok m.): Alattyán községtől délre, a Jánoshidára vezető országút mentén fekszik a teljesen feltárt avar kori temető (KOVRIK 1963). Az 1934-ben megindult ásatások több mint két évtizeden át tartottak, és 711 sírt tártak fel. A nagy kiterjedésű temetőnek csak a nyugati peremén, ott, ahol a jánoshidai országút húzódik, kell néhány sír pusztulásával számolnunk.

3. táblázat

Kétféle módszerrel végzett vércsoport-meghatározás eredményei az avar kori alattyáni temető csontmaradványain

Table 3. Results of the two blood typing methods in case of the bone remains of the Avar age cemetery of Alattyán

Vércsoport Blood group	Eredmények Results of the					
	Abszorpciós módszerrel Absorption test			Fluoreszcenz-antitest módszerrel Fluorescent-antibody method		
	No	%	Génfrekvencia Gene frequency	No	%	Génfrekvencia Gene frequency
A	41	17,45	p 0,166	62	26,38	p 0,233
B	67	28,51	q 0,254	83	35,32	q 0,297
0	63	26,80	r 0,580	50	21,27	r 0,470
AB	38	16,17	1,000	29	12,34	1,000
?	26	11,06		11	4,68	
Összesen: Total:	235	99,99%		235	99,99%	
			2,12490			0,70989
$\chi^2_{(1)}$		20% > P > 10% nem szignifikáns of insignificant value			70% > P > 50% nem szignifikáns of insignificant value	

3. táblázat (folytatás)

Az eredmények összehasonlítása
Table 3 (cont.) Comparison of the results

	Vércsoportok Blood groups					Összesen Sum total
	A	B	0	AB	?	
Abszorpciós módszer <i>Absorption method</i>	41	67	63	38	26	235
Fluoreszcensz-antitest módszer <i>Fluorescent-antibody method</i>	62	83	50	29	11	235
Összesen: <i>Sum total:</i>	103	150	113	67	37	470

$\chi^2_{[4]} = 13,35806:$
 $1\% > P > 0,1\%$
 erősen szignifikáns érték
of strongly significant value

A temető használati idejét három, egymást követő kronológiai fázisra bontva, az i. u. VII—IX. századra terjedően jelöli meg az ásató régész. A vizsgált minta esetszáma: 235 (33,05%).

A bemutatott két minta vércsoport-vizsgálatának eredményeiből kitűnik, hogy a két eljárás közti különbségek jellegüket tekintve azonosak a recens mintánál észlelhetőekkel, de ásatag minták esetében kifejezettebbekké válnak.

4. táblázat

A kétféle módszerrel végzett vércsoport-meghatározás eredményei a késő római kori, pécsi (István tér) temető csontmaradványain

Table 4. Results of the two blood typing methods in case of the bone remains of the late Roman age cemetery of Pécs (István square)

Vércsoport Blood group	Eredmények Results of the					
	Abszorpciós módszerrel <i>Absorption test</i>			Fluoreszcensz-antitest metódussal <i>Fluorescent-antibody method</i>		
	No	%	Génfrekvencia <i>Gene frequency</i>	No	%	Génfrekvencia <i>Gene frequency</i>
A	16	12,90	p 0,132	42	33,87	p 0,277
B	19	15,32	q 0,154	23	18,54	q 0,165
0	40	32,25	r 0,714	34	27,41	r 0,558
AB	24	19,35	1,000	11	8,87	1,000
?	25	20,16		14	11,29	
Összesen: <i>Sum total:</i>	124	99,98%		124	99,98%	
$\chi^2_{[1]}$			94,61154			0,24162
			$P < 0,1\%$ extrém szignifikáns <i>of extremely significant value</i>			$70\% > P > 50\%$ nem szignifikáns <i>of insignificant value</i>

4. táblázat (folytatás)

Az eredmények összehasonlítása
Table 4 (cont.) Comparison of the results

	Vércsoportok Blood groups					Összesen Sum total
	A	B	0	AB	?	
Abszorpciós módszer <i>Absorption method</i>	16	19	40	24	25	124
Fluoreszcenz-antitest módszer <i>Fluorescent-antibody method</i>	42	23	34	11	14	124
Összesen: <i>Sum total:</i>	58	42	74	35	39	248

$$-\chi^2_{[4]} = 20,33122:$$

$$P < 0,1\%$$

extrém szignifikáns érték
of extremely significant value

Az abszorpciós módszer, szemben a fluoreszcenz-antitest módszerrel, az egyes sorozatokon belül gyakrabban utal 0 és AB csoporttulajdonságra az A és a B csoportúak rovására, valamint feltűnően emelkedik a meg nem határozható esetek száma is. A két módszer abszolút eredményértékei között szignifikáns különbség bizonyítható. Továbbá az abszorpciós módszer a génszámítás eredményeiben is torzít, és az AB csoportúak várt és talált eset-számában mutatkozó különbségek miatt (konzekvensen AB többlet adódik az abszorpciós módszer nyomán) nem lehetséges a vizsgált népességtöredék szerogenetikai egyensúlyi helyzetének a megítélése sem. Mindezek alapján, a statisztikai számítások tükrében, az amúgy is csak óvatos és sok fenntartással értékelhető ásatag sorozatoknál megengedhetetlen egy konzekvensen torzító metodika alkalmazása.

A subfossilis csontminták vizsgálati eredményei értékelhetőségének kritériumai

Amikor különböző történeti korok temetőiben nyugvók csontjai kerülnek napvilágra, és meghatározzuk a kihantolt egyének vércsoportját, tulajdonképpen egy mintát vizsgálunk az oda temetkezett népesség köréből. Minden egyes minta esetében újra és újra ugyanaz a kérdés merül fel: megegyezik-e a vércsoportok megoszlása a vizsgált sorozatban az egész populációt alkotott egyének összességével? Más szóval, reprezentatív mintaként kezelhető-e az egyazon temetőbe temetkezett, vizsgálatra kerülő népességtöredék? Erre a kérdésre csak szigorú fenntartásokkal lehet igenlő választ adni. Tapasztalataim szerint az igenlő válasz mérlegelésénél figyelembe veendő körülmények a következők:

1. *a vizsgált sorozat esetszáma*: ha mintánk (sorozatunk) esetszáma nem éri el az 50-et mint minimumot, akkor eredményeink a génfrekvencia (p , q , r) számítás szempontjából már nem értékelhetők (BRUES 1963; BIRABEN 1969);

2. *a temető feltártsági foka*: az ásató régész véleményének ismeretében tudnunk kell, hogy a vizsgált sorozat magában foglal-e minden eltemetett egyént, vagy azoknak csak bizonyos hányadát? Ha egy teljesen feltárt temető minden emberi csontvázmaradványából van mintánk, akkor módunk van vizsgálni egy bizonyos populációnak egy adott periódusban (a temető használati ideje alatt) eltemetett népességtörredékét. Ha azonban a temetőnek csak bizonyos hányadát tárták fel, vagy ha vizsgálati sorozatunk összes kihantolt emberi vázmaradványnak csak bizonyos hányadát jelenti, akkor egy további bizonytalansági tényezővel kell számolnunk. Ebben az esetben ugyanis vizsgálataink természetesen csak egy ismeretlen sokaságú népességtörredéket képviselő temető ismeretlen hányadára korlátozódnak. Tehát egy „rosszul tervezett”, többlépcsős mintavétel nyomán kellene helytálló következtetésre jutnunk, ami mind statisztikai, mind logikai szempontból egyaránt lehetetlen (NEMESKÉRI 1970; ANGEL 1969; BECKMANN 1959; ÉRY 1965; ÉRY—KRALOVÁNSZKY—NEMESKÉRI 1969; HENRY 1968);

3. *a temető használati ideje*: a használati idő ugyanis fordítottan arányos az eltemetett népességtörredék reprezentációs értékével.

E három körülmény közül a két utóbbi meghatározásánál az ásató régész adatai képviselik az elsődleges értéket annak ellenére is, hogy a temető feltártsági fokára vonatkozóan módunkban van óvatos következtetéseket levonni a kapott vércsoportmegoszlás statisztikai elemzéséből is.

Mínt hogy ásatag csontanyag vércsoport vizsgálata során nincs megfelelő kontrollra lehetőségünk — hiszen a másik, az abszorpciós módszer eredményei kevésbé megbízhatók, mint a fluoreszcenz-antitest módszeré — vizsgálati eredményeink további ellenőrzésére az alábbi megfontolások alapján statisztikai módszerekre alapított logikai kontrollrendszert kell kialakítanunk.

Ennek lényegét az alábbi 3 pontban foglalom össze:

1. Bár elméletileg az egyes vércsoport-tulajdonságok előfordulási arányának bármilyen változata lehetséges, mégis a vércsoport-tulajdonságok öröklési menetének ismeretében a lehetőségek egy részét eleve kizárhatjuk (HARDY 1908; KRÜGER—VOGEL 1965; VOGEL—STROBEL 1960; THOMA 1970).

2. A vércsoportok abszolút előfordulási számára épített génfrekvencia-számítás eredményei is utalhatnak meghatározásaink reális vagy irreális voltára (BERNSTEIN 1924; FISCHER 1930, 1949).

3. Az A, a B és a 0 vércsoportok előfordulásából a Hardy—Weinberg-törvényre alapítottan kiszámítható az AB csoportúak várható számszerű előfordulása. Ha ezt az értéket az AB csoportúak talált előfordulási számával hasonlítjuk össze (χ^2 és D/σ próba), két lehetőség alakulhat ki:

a) vagy nincs a két érték között szignifikáns különbség,

b) vagy van.

ad a) Ha a két érték között nincs szignifikáns különbség, akkor ez egyben azt is jelenti, hogy vizsgálati sorozatunk, szerológiai gén-poolját tekintve, a genetikai egyensúly állapotában van. Ha a vizsgálati sorozatok reprezentációs értéke magas, ez a tény átvethető arra a teljes populációra is, amelyből vizsgálati sorozatunk származik. A különböző korokból származó csontminták (temetők) vizsgálati eredményeit csakis és kizárólag abban az esetben fogad-

hatjuk el, ha a számított és a meghatározott AB csoportúak előfordulása között nincs szignifikáns differencia!

ad b) Ha a két érték között szignifikáns különbség mutatkozik, és ennek numerikus értéke akár negatív, akár pozitív irányban magas, akkor meghatározási hiba történt.

Ha a χ^2 numerikus értéke nem magas, akkor az eltérés magyarázata annak negatív vagy pozitív irányától függ, éspedig:

ha negatív irányú eltérés mutatkozik, azaz a várt értékhez viszonyítva meghatározásunkban AB hiány alakul ki, akkor a kérdéses populáció nincs a pánmixia állapotában, más szóval vizsgálataink során több, eltérő géngyakoriságú, egymással nem keveredő, egymás közt nem házasodó populációt vagy népességtöredéket vontunk össze;

ha az eltérés pozitív irányú, azaz ha a várt értékhez viszonyítva meghatározásunkban AB többlet alakul ki, akkor az valószínűleg egy magas mortalitású populációban érvényesülő életképességi heterózis hatása. Ebben az esetben a p , q , r értékek még megbízhatóan kezelhetők.

A pozitív irányú eltérés oka azonban lehet az is, hogy mintánk nem reprezentatív értékű, mégpedig vagy azért, mert a vizsgált temető feltártsága csak részleges, vagy azért, mert a teljesen feltárt temetőből nem mindegyik emberi csontmaradványt kaptunk meg vizsgálatra.

Kiszámítható, hogy az A, B és 0 csoportok észlelt előfordulása esetén hány további mintára lenne szükség ahhoz, hogy a várt és talált AB csoportúak előfordulásában a különbség kiegyenlítődjék, azaz a χ^2 vagy D/σ elveszítse szignifikanciáját. Ebből következtethetünk arra is, hogy a temetőnek hozzávetőlegesen mekkora hányada maradt feltáratlan, illetve hogy mekkora lehetett a teljes sorozat.

A χ^2 próba szignifikáns eredménye utalhat olyan biológiailag abszurd helyzetre, mintha a vizsgált népességtöredék nem lett volna a biológiai egyensúly állapotában. Mivel ez a gyakorlatban jóformán sohasem fordulhat elő, a fentebb ismertetett megfontolásoknak megfelelően meg kell keresnünk az ilyen eredmény okát. Akár megtaláljuk ezt az okot, akár nem, szignifikáns értékű χ^2 próba esetében az egész népesség szerológiai karakterére vonatkozóan semmilyen irányban sem vonhatunk le megalapozott következtetést.

*

(A Magyar Biológiai Társaság X. Vándorgyűlésén Szegeden, 1972. augusztus 28-án megtartott előadás; közlésre bérkezett 1973. október 6-án.)

IRODALOM

- ACSÁDI, GY.—NEMESKÉRI, J. (1970): History of Human Life Span and Mortality. — Akadémiai Kiadó, Budapest.
- ALADJEM, F., JAROSS, R. W., PALADINO, R. L., LACKNER, J. A. (1959): The antigen-antibody reaction. III. Theoretical considerations concerning the formation, location, and curvature of the antigen-antibody precipitation zone in agar diffusion plates, and a method for the determination of diffusion coefficients of antigens and antibodies. — J. Immunol. 83; 221—230.
- BECKMAN, L. (1959): Contribution to the physical anthropology and population genetics of Sweden. — Hereditas, 45; 1—189.
- BERNSTEIN, F. (1924): Ergebnisse einer biostatistischen zusammenfassenden Betrachtung über die erblichen Blutstrukturen des Menschen. — Klin. Wschr. 3; 1495—1502.

- BIRABEN, J. N. (1969): Les méthodes de la démographie préhistorique. International Union for the Scientific Study of Population. General Conference: London.
- BIRD, G. W. G. (1959): Agar gel studies of blood group specific substances and precipitins of plant origin. I, II. — *Vox Sang.* (Basel) 4; 307—312, 313—317.
- BORGOGNINI, S. (1966): Studio di alcune caratteristiche del siero emoagglutinante anti-H estratto dai semi di *Ulex europaeus*, usato nella determinazione dei gruppi sanguigni. ABO in ossa umane recenti ed antiche. — *Atti Soc. Toscana Sc. Nat.* 73/B; 1—12.
- (1968): Dimostrazione della presenza di alcuni costituenti fondamentali delle sostanze gruppo-specifiche A B O in ossa di diversa antichità. *Atti Soc. Toscana Sc. Nat. Mem.* 75/B; 202—217.
- (1969): New trends in blood group determination in human bones. *Proc. VIIIth Internat. Congr. Anthropol. Etnol. Sci.*, Tokyo—Kyoto, 1968 Science Council of Japan, Tokyo, 1969.
- BORGOGNINI, S.—BARTOLONI, C. S. OMER (1967): Determinazione dei gruppi sanguigni A B O in un gruppo di scheletri eneolitici provenienti dalla necropoli di Porte S. Pietro. — *Arch. Per l'antropologie e l'etnologie*, 47; 35—46.
- BOYD, W. C. (1933): Blood grouping by means of preserved muscle. — *Science* 78; 578—595.
- BOYD, W. C.—BOYD, L. G. (1934): An attempt to determine the blood group of mummies. — *Proc. Soc. Exp. Biol. et Med. N. Y.* 31; 671—674.
- BRUES, A. M. (1963): Stochastic tests of selection in the ABO blood groups. — *Am. J. Phys. Anthropol.* 21; 287—299.
- CANDELA, P. B. (1936): Blood group reactions in ancient human skeletons. — *Am. J. Phys. Anthropol.* 21; 429—432.
- (1941): Realibility of blood group tests on human bones. — *Am. J. Phys. Anthropol.* 27; 367—381.
- CHERRY, W. B.—GOLDMAN, M.—CARSKI, T. R., MOODY, M. D. (1960): Fluorescent Antibody Techniques in the Diagnosis of Communicable Diseases. — U. S. Department of Health, Education, and Welfare. Public Health Service, Atlanta, Georgia.
- COONS, A. H. (1958): Fluorescent antibody methods. — In: DANIELLI, J. F. (Edit.): *General Cytochemical Methods*. V. I. Academic Press Incorp. New York.
- COONS, A. H.—CREECH, H. J.—JONES, R. N. (1941): Immunological properties of antibody containing fluorescent group. — *Proc. Soc. Exp. Biol. et Med. N. Y.* 47; 200—202.
- COONS, A. H.—KAPLAN, M. H. (1950): Localisation of antigen in tissue cells. II. Improvements in a method for detection of antigen by means of fluorescent antibody. — *J. Exp. Med.* 91; 1—13.
- DERS, A. (1940): Realibility of blood group tests on human bones. — *Am. J. Phys. Anthropol.* 27; 365—381.
- ELEK, S. D. (1949): The serological analysis of mixed flocculating systems by means of diffusion gradients. — *Brit. J. Exp. Pathol.* 30; 484—488.
- EZRA-COHN, H. E.—COOK, S. F. (1961): Blood-typing compact human bone tissue. — *Nature (London)* 191; 1267—1274.
- ÉRY, K. K. (1965): Szempontok az anthropologiai leletek gyűjtési, restaurálási és raktározási munkáihoz. — *Múzeumi Közl.* 7; 13—25.
- ÉRY, K. K.—KRALOVÁNSZKY, A.—NEMESKÉRI, J. (1963): Történeti népességek rekonstrukciójának reprezentációja. — *Anthropol. Közl.* 7; 41—90.
- FARKAS, GY.—LENGYEL, I.—MÁRCSIK, A. (1971): Supposition of genetic connections between the finds of the cemetery at Mélykút-Sáncdűlő (Southern Hungary) on the basis of blood group ABO. — *Acta Biol. Szeged.* 17; 199—207.
- FEINBERG, J. G. (1957): Identification, discrimination and quantitation in Ouchterlony gel plantes. — *Int. Arch. Allergy* 11; 129—135.
- FISCHER, R. A. (1930): *The Genetical Theory of Natural Selection*. — Calrendon Press, Oxford.
- (1949): *Métodos estaticos para los investigadores*. — Aguilar, Madrid.
- FURUHATA, T.—OKAJIMA, M.—SHIMIZU, S. (1950): Blood group determination of 800 year old mummies of governorgeneral in four generations, at Chusonij. — *Proc. Imp. Acad. of Japan* 26; 78—80.
- FÜLEP, F. (1969): Későrómai Temető Pécs, Geisler Eta u. 8. sz. alatt. — *Arch. Ért.* 96; 3—42.
- GILBEY, B. E.—LUBRAN, M. (1952): Blood groups of South American Indian mummies. — *Man* 52; 115—117.
- — (1953): The ABO and Rh blood group antigens in pre-dynastic Egyptian mummies. — *Man* 53; 23—25.
- GOTTSCHIEWSKI, G. H. M. (1954): Die Methoden der Fluoreszenz- und Ultraviolettmikroskopie und Spektroskopie in ihrer Bedeutung für die Zellforschung. — *Mikroskopie* 9; 147—167.
- HARDY, G. H. (1908): Mendelian proportions in a mixed population. — *Science* 28; 49.

- HARSÁNYI, L. (1965): Csoportanyag meghatározás lehetősége csontszövetből. — *Morph. Ig. Orv. Szle.* 5-4; 270-271.
- HARSÁNYI, L.—GERENCSÉR, G. (1968): Nachweis von Gruppensubstanzen in Geweben mit der „Mixed Cell Agglutination“ Methode. — *Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med.* 63; 162-168.
- HENRY, L. (1968): Historical demography. — *Daedalus Historical Population Studies. Proceedings of the American Academy of Arts and Sciences.* 97; 385-396.
- JENNINGS, R. K.—MALONE, F. (1954): Rapid double diffusion precipitin analysis. — *J. Immunol.* 72; 411-417.
- KELLERMANN, G. (1971): Methodological investigations on the ABO-typing of ancient bones. — *Humangenetik* 14; 50-55.
- (1972): Further studies on the ABO-typing of ancient bones. — *Humangenetik* 14; 232-236.
- KIRST, R.—LADES, B. (1971): Über ABO Bestimmungen an kompakten Knochen. — *Krim. u. forens. Wiss.* 6; 99-107.
- KOUT, M.—VACIKOVÁ, A.—STLOUKAL, M. (1965): An attempt to assess blood groups in paleo-anthropological material. — *Anthropologie* 4; 49-58.
- KOVRIG, I. (1963): Das awarenzeitliche Cräberfeld von Alattyán. — *Akadémiai Kiadó, Budapest.*
- KRÜGER, J.—VOGEL, F. (1965): Ergänzende Blutgruppen-Selektionsmodelle. — *Humangenetik* 1; 264-278.
- LAUGHLIN, W. S. (1950): Test for presence of blood group substance in skeleton. 11-218. — *Proc. Amer. Philos. Soc.* 94; 387-393.
- LENGYEL, I. (1964): Contribution à l'analyse histologique, serologique et chimique combinée des os et des dents en archéologie. — *Bull. Group. Int. Rech. Sc. Stomat.* 7; 182-206.
- (1967): Chemico-analytical and serological examinations of the human skeletal finds from Naima Tolgya. — *Acta Arch. Hung.* 19; 411-412.
- (1968): Biochemical aspects of early skeletons. — *In: BROTHWELL, DON. R. (Edit.): The Skeletal Biology of Earlier Human Populations.* Pergamon Press, Oxford-London. 271-288.
- (1970): A Lepenski-Vir lelőhelyen feltárt csontvázletek laboratóriumi vizsgálatának előzetes eredményei. — *Anthrop. Közl.* 14; 181-188.
- (1971a): Chemico-analytical aspects of human bone finds from the 6th century „Pannonian“ cemeteries. — *Acta Arch. Hung.* 23; 155-166.
- (1971b): A pécsi ókeresztény temető anthropológiai anyagának laboratóriumi elemzése. — *Arch. Ért.* 98; 205-209.
- (1971c): Ergebnisse der Laboruntersuchungen an den Skelettfunden von Környe. — *In: SALAMON, A.—ERDÉLYI, I.: Das völkerwanderungszeitliche Gräberfeld von Környe.* — *Akadémiai Kiadó, Budapest.* 149-151.
- (1972a): A csontok kémiai elemzése. *In: FARKAS, GY. (Edit.): Antropológiai praktikum I. Paleoantropológiai metodikák.* JATE Egyetemi Nyomda, Szeged. 140-199.
- (1972b): Analyses Chimiques des os mis au jour dans l'église médiévale en ruine de Balatonfüred. — *Acta Arch. Hung.* 24; 237-240.
- (1972c): Laboratorial analysis of the human bone finds from the early bronze age cemetery of Mokrin. *In: TASIC, N.: Mokrin the Early Bronze Age Necropolis. II. kötet, Archeolosko Društvo Jugoslavije, Beograd.* 75-90.
- LENGYEL, I.—FARKAS, GY. (1972): A mokrini korabronzkori temető emberi csontmaradványain végzett laboratóriumi vizsgálatok eredményeinek kritikai elemzése a régészeti és az antropológiai adatok tükrében. — *Anthrop. Közl.* 16; 51-71.
- LENGYEL, I.—NEMESKÉRI, J. (1963): Application of biochemical methods to biological reconstruction. — *Z. Morph. Anthrop.* 54; 1-56.
- — (1964): Über die Blutgruppenbestimmung an Knochen mit Hilfe der Fluoreszenz-Antikörper Methode. — *Homo* 15; 65-72.
- — (1972): Analysis of the structure of a 9th century ethnic group, on the basis of the laboratory and morphological examination of their bone finds. *In: TÖRÖ, I.—SZABADY, E.—NEMESKÉRI, J.—EIBEN, O. G. (Edit.): Advances in the Biology of Human Populations.* Akadémiai Kiadó, Budapest. 489-494.
- LI, C. C. (1955): Population Genetics. — *The University of Chicago Press, Chicago.*
- LIPPOLD, L. K. (1971): The mixed cell agglutination method for typing mummified human tissue. — *Am. J. Phys. Anthrop.* 34; 377-390.
- MATSON, G. A. (1934): A procedure for determining distribution of blood groups in mummies. — *Proc. Soc. Exp. Biol. N. Y.* 31; 964-968.
- (1936): A procedure for the serological determination of blood-relationship of ancient and modern peoples with special reference to the American Indians. — *J. Immunol.* 30; 459-470.

- MELLORS, R. C.—SIEGEL, M.—PRESSMAN, D. (1955): Analytic pathology. Histochemical demonstration of antibody localisation in tissues. — *Lab. Invest.* 4; 69—89.
- MILCH, R. A., RALL, D. P., TOBIE, J. E. (1957): Bone localization of the tetracyclines. — *J. Nat. Cancer Inst.* 19; 87—93.
- NEI, M. (1965): Variation and covariation of gene frequencies in subdivided populations. — *Evolution* 19; 256—258.
- NEMESKÉRI, J. (1970): A paleodemográfiai kutatások archeológiai és antropológiai feltételei. — *Demográfia* 13; 32—72.
- (1972): Some comparison of the Egyptian and early Eurasian demographic data. — *J. Human Evolution* 1; 171—186.
- OSS, C. J. VAN—BRONSON, P. M. (1969): Immunorheophoresis. — *Immunochem.* 6; 775—781.
- OSS, C. J. VAN—HECK, Y. S. L. (1962): A qualitative and quantitative interpretation of double diffusion. — *Z. Immunforschung.* 122; 44—49.
- OUCHTERLONY, Ö. (1949a): Antigen-antibody reactions in gels. — *Acta Path. Microbiol. Scand.* 26; 507—510.
- (1949b): Antigen-antibody reactions in gels. II. Factors determining the site of the precipitate. — *Arkiv för kemi.* 1; 43—55.
- (1949c): Antigen-antibody reactions in gels. III. The time factor. — *Arkiv för kemi.* 1; 55—59.
- (1953): Antigen-antibody reactions in gels. IV. Types of reactions in coordinated systems of diffusion. — *Acta Path. Microbiol. Scand.* 32; 231—243.
- (1962): Diffusion-in-gel methods for immunological analysis. — *Progr. in Allergy.* 6; 30—38.
- ODIN, I. (1946): Méthode d'analyse immunochimique par précipitation spécifique en milieu gélatiné. — *Compt. Rend. Acad. Sci.* 222; 115—121.
- PEARSE, E. G. A. (1960): *Histochemistry Theoretical and Applied.* — 2. kiadás. J. et A. Churchill, London.
- SALAZAR, M. (1951): Estudio inmunológico de restos óseos antiguos. — *Gac. med. Méx.* 81; 122—127.
- SCHWARZFISCHER, F.—LIEBRICH, K. (1963): Serologische Untersuchungen an prähistorischen Bevölkerungen, insbesondere an altkanarischen Mumien. — *Homo* 14; 129—133.
- SMITH, M. G. (1960): Blood groups of the ancient dead. — *Science* 131; 699—702.
- (1963): Paleoserology. In: THAMES and HUDSON (Edit.): *Science in Archeology.* London. 437—446.
- SPRINGER, G. F.—WILLIAMSON, P. (1960): Blood group determinations of ancient tissue. — *Science* 131; 1858—1870.
- STERN, C. (1960): *Principles of Human Genetics.* — 2. kiadás. Freedman, W. H. and Co., San Francisco, London.
- THIEME, F. P.—OTTEN, C. M. (1957): The unreliability of blood-typing aged bone. — *Am. J. Phys. Anthropol.* 15; 387—397.
- THOMA, A. (1970): Selective differentiation of the ABO blood group gene frequencies in Europe. — *Human Biology* 42; 450—468.
- VOGEL, F.—STROBEL, D. (1960): Über die Populationsgenetik der ABO Blutgruppen. — *Mitt. Acta Genet. (Basel)* 10; 247—267.
- WEINBERG, H.—MAKIN, N.—NELKEN, D.—GUREVITCH, J. (1959): A and B antigens in human bone tissue. — *J. Bone Joint Surg.* 41/B; 151—163.
- WILSON, M. W.—PRINGLE, B. H. (1954): Experimental studies of the agar plate precipitin test of Ouchterlony. — *J. Immunol.* 73; 232—240.
- (1955): Interpretation of the Ouchterlony precipitin test. — *J. Immunol.* 75; 460—464.
- YADA, S.—OKANE, M.—SANO, Y. (1966): A simple method for blood grouping bone fragments. — *Acta Crim. Med. leg. Japan*, 32; 99—105.

PALEOSEROLOGICAL EXAMINATIONS

by

I. Lengyel

(Summary)

The value of the discipline of a methodology is, on the whole, determined by two factors, namely

1. how reliable its results are, and
2. whether they can be assessed satisfactorily.

The question as to whether the blood-group examinations carried out on human bone remains have created in the nearly 40 years which have passed since the appearance of the method the paleoserology, as one of the interdisciplinary branch of human biology and historical anthropology, can also be answered by considering these two viewpoints.

The starting point of the methodological exploration of the blood-group examinations which can be carried out on the earthly remains of our human ancestor is the absorption method of BOYD (1933) and CANDELA (1936), whose advantages are proved best by the role the „starting point” has played since, and whose weaknesses by the innumerable attempts of modification all leading into a blind alley.

Seeking another starting basis in contrariety to the absorption method, for the purpose of blood-group examinations which can be carried out on bone material, I employed, in an appropriately revised form, the immunofluorescent method elaborated by COONS, CRECH and JONES (1941), LENGYEL and NEMESKÉRI (1964).

For the purpose of being able to assess the value of the two different methods, the absorption method and the immunofluorescent method I examined their results in the light of the data of such fresh dissecting room series, a „standard” series, of 1125 members of which I already knew in each case the blood-group of the individual concerned from the clinical anamnesis.

Table 1: absolute figures and %.

Table 2: gene frequency calculations.

As the illustrations reveal, the statistical analysis of the results of the two different methods, on the basis of the data of the „standard” series, proves the superiority of the immunofluorescent method, which reflects the real situation better, over the absorption method.

The superiority of the immunofluorescent procedure is due to the inadequacy of the absorption method manifesting itself in the fact that the latter produces more often than expected, with all the three diagnostic sera, collaterally, aspecific negative or positive reactions — indicating, by its incorrect results, erroneously AB and 0 blood-group properties of the bone samples examined. The result is that AB group property always manifests itself in a higher number of significant cases in our sample series than it is possible to assess with either the FISCHER or BERNSTEIN methods — and that the r^0 gene frequency in the calculation of gene frequency is unfoundedly high. For this reason the absorption method is not suitable, within a single sample series, for either the examination of the frequency of the several genes or for judging the serogenetical equilibrium of the sample series as a whole.

The distortion of the absorption method observed in respect of the frequency of AB and 0 blood-group properties in even more striking on historical bone material — so much so that it does not allow the employment of this method even in individual cases.

Table 3: analysis of material of the Avar age (Alattyán — I. KOVRIG).

Table 4: analysis of late Roman material (Pécs — F. FÜLEP).

While in the examination of the serological nature of recent populations or sub-populations the formation of a representative sampling group does not cause any particular difficulties, the serological profile of historical populations can be drawn only on the basis of the examination of the bone remains brought to light from their cemeteries. We are compelled, therefore, to accept the cemetery uncovered by the archeologist organizing the excavation as the sampling group of the historical population or a fraction of the population interred there.

In view of the fact that we do not possess any direct proof regarding the extent to which the blood-group properties which can be determined today from the bone remains of the sampling group emerging in this way, that is from the bone remains of those resting in the cemetery which are to be examined, reflect the real serological character of the ethnic group that had lived in times past, we should, at least in selecting the sampling group, that is the cemetery to be examined, adhere strictly to the requirements of statistical and biological estimation.

1. As a prerequisite for acquiring a basis for statistical elaboration the number of cases of the series to be examined must exceed a minimum (N_{\min}) which, in the case of an examination

of the four phenotypes, is 50. Though it is possible to examine also series with a number of cases below 50, in the absence of the only method proving the soundness of the results of the blood-group determination, the applicability of statistical analysis, the results obtained in this case cannot be evaluated!

2. In order to be able to determine the serological parameters of the entirety of those resting in the cemetery examined, as the fraction of a historical population, on the basis of the results obtained from blood-group examinations, beyond the requirement of a minimum number of cases, also the representative value of the examination series must be known, that is the proportion between the number of the cases to be examined and the total number to paleodemographic assessments (NEMESKÉRI 1970) examinations must be made on at least 75% of the human skeleton remains of a fully-excavated cemetery.

3. The possibility of evaluating our examinations rests on yet another biological condition, according to which the blood-group results obtained with the immunofluorescent method on an examination series corresponding to both statistical requirements, can be regarded as suitable for drawing further conclusions if there is no significant difference between the number of those belonging to the AB group calculated in advance and determined in connexion with the examinations — in other words, if the fraction of the population examined proves to be in the condition of serological equilibrium.

To sum up my report I will say that the following conclusions can be drawn:

1. The results of paleoserological examinations can be accepted only on the basis of very exacting methodical conditions, supported by statistical calculations, and in the knowledge of the archeological data relative to the representative index of the cemeteries!

2. The raising of the efficiency of paleoserological examinations can be expected, apart from the specification of the methodology, in the first place from the full excavation of the cemeteries, from the exact delimitation of the time of the interments, and from the statistical assessment of the examination results of sample series of an adequate number of cases, made up from all the human bone remains brought to light from each cemetery. In this, but only in this case may paleoserological examinations enrich our biological and historical knowledge with valuable information.

A szerző címe:
Authors' address:

DR. LENGYEL IMRE
1023 Budapest, Árpád fejedelem útja 44.