

## EGY ÁRPÁD-KORI TEMETŐBEN FELLELT POTT-GIBBUSOS ESET MOLEKULÁRIS ÉS MORFOLÓGIAI VIZSGÁLATA

PÓSA ANNAMÁRIA\* – KÖHLER KITTI\*\* – MAIXNER, FRANK\*\*\* – ZINK, ALBERT\*\*\* –  
JUHÁSZ ELEONÓRA\*\*\*\* – SOLA, CHRISTOPHE\*\*\*\*\* – PÁLFI GYÖRGY\*\*\*\*\* –  
MENDE BALÁZS GUSZTÁV\*\*

**Absztrakt:** *A tuberkulózis (tbc) molekuláris kutatása nagy jelentőséggel bír napjainkban is, minden évben 1,5 millió ember hal meg tuberkulózis következtében. Az utóbbi években jelentős mértékben fejlődött a paleomikrobiológiai diagnosztika a Mycobacterium tuberculosis archaikus DNS kimutatásában.*

*A Győr külterületén feltárt oszteoarcheológiai széria a 10–11. századból származik, a leletmentés során 217 sír maradványait emelték ki a régészek. A morfológiai vizsgálatok során egy igen erőteljes Pott-gibbus-os eset (187. sír) került feljegyzésre, ennek kapcsán merült fel a molekuláris vizsgálatok szükségessége, mintegy megerősítésként a gümőkór jelenlétére. A vizsgálatok során atípusos (borda periostitis, a koponya belső felszínén endocraniális elváltozás) és klasszikus (spondylitis, arthritis), továbbá stresszfaktorok (hosszúcsont periostitis, cribra cranii, cribra orbitalia) jelenlétét is vizsgáltuk. Korábban az Árpád-korból még nem detektáltak molekuláris módszerekkel archaikus Mycobacterium DNS-t, jelen esetben a lelet jó megtartási állapota, illetve a klasszikus tbc-re utaló jelek miatt elvégeztünk paleomikrobiológiai vizsgálatokat. A módszer megerősítheti a Mycobacterium tuberculosis DNS jelenlétét a morfológiailag pozitív esetekben, továbbá információt adhat a csonttani tüneteket nem mutató fertőzésekre is. A Mycobacterium tuberculosis komplex tagjai tartalmaznak egy ismétlődő (repetitív) elemet, amely IS6110-ként ismert, ezt a régiót amplifikáltuk PCR reakció alkalmazásával. A molekuláris vizsgálati eredmények mindkét mintavételi helyen igazolták a kórokozó baktérium DNS jelenlétét, mellyel bizonyítottuk a tuberkulózisfertőzést.*

*A továbbiakban spoligotyping és szekvenálási vizsgálatokkal pontosíthatjuk, hogy a hogy mely tagja volt jelen a M. tuberculosis komplexnek volt jelen ebben a történeti népességben.*

*A jövőbeni vizsgálataink között szerepel a teljes temető paleomikrobiológiára vonatkozó molekuláris genetikai vizsgálata.*

**Kulcsszavak:** *Magyarország, 10–11. század, aDNS, paleopathológia, csonttuberkulózis, Mycobacterium tuberculosis komplex*

### BEVEZETÉS

A tuberkulózis az egyik legrégebbi fertőző betegség, mely pandémiás megjelenésű: a WHO becslései szerint jelenleg a Föld népességének mintegy 30%-a látens Mycobacterium tuberculosis fer-

tőzött lehet, emiatt nagy jelentőséggel bír a tbc paleopatológiai és paleomikrobiológiai kutatása. A tuberkulózis kialakulásáért felelős fő baktériumfajták a Mycobacterium tuberculosis, a Myco-

\* MTA BTK Régészeti Intézet, H-1014, Budapest, Úri u. 49. Szegedi Tudomány Egyetem TTIK Embertani Tanszék, H-1014, Budapest, Úri u. 49. [Posa.Annamaria@btk.mta.hu](mailto:Posa.Annamaria@btk.mta.hu)

\*\* MTA BTK Régészeti Intézet, H-1014, Budapest, Úri u. 49. [kohler.kitti@btk.mta.hu](mailto:kohler.kitti@btk.mta.hu); [mende.balazs@btk.mta.hu](mailto:mende.balazs@btk.mta.hu)

\*\*\* Institute for Mummies and the Iceman, EURAC Research, Bolzano, Viale Druso, 1 / Drususallee 1 39100 Bolzano / Bozen-Italy. [frank.maixner@eurac.edu](mailto:frank.maixner@eurac.edu); [Albert.Zink@eurac.edu](mailto:Albert.Zink@eurac.edu);

\*\*\*\* Miskolci Egyetem, Egészségügyi Kar, Miskolc, H-3515 Miskolc-Egyetemváros B3-B4 épület. [juhaszele@gmail.com](mailto:juhaszele@gmail.com)

\*\*\*\*\* Institut de Génétique et Microbiologie UMR8621 CNRS-Université Paris Sud, Bât. 400 Rue Gregor Mendel, F-91405 Orsay-Cedex. [christophe.sola@u-psud.fr](mailto:christophe.sola@u-psud.fr)

\*\*\*\*\* Szegedi Tudományegyetem TTIK, Embertani Tanszék, H-6726 Szeged, Középfásor 52. [palfigy@bio.u-szeged.hu](mailto:palfigy@bio.u-szeged.hu)

*bacterium bovis* és a *Mycobacterium africanum*. Ezek mellett a *Mycobacterium microti*, a *Mycobacterium canetti*, a *Mycobacterium caprae* és a *Mycobacterium pinnipedii* is a *Mycobacterium tuberculosis* komplex tagjai közé tartozik.<sup>1</sup>

Az archaikus DNS-sel folytatott molekuláris biológiai kutatások hozzájárulnak ahhoz, hogy megértsük a patogének evolúcióját. Szakirodalmi adatok alapján tudjuk, hogy tuberkulózis állat vagy/és ember által közvetített formában (is) transzmisszál. Az is valószínűsíthető tény, hogy a *Mycobacterium tuberculosis* komplex tagjai

egy közös őstől, a *Mycobacterium prototuberculosis*tól származnak, amely együtt evolválódott az emberiséggel.<sup>2</sup> A legkorábbi Kárpát-medencei molekuláris és morfológiai vizsgálatokkal is alátámasztott adataink a késő neolitikus lengyeli és tiszai kultúrából származnak.<sup>3</sup> Több eddigi paleopatológiai vizsgálati eredmény is alátámasztja, hogy a gümőkór az Árpád-kori népeségekben is jelen volt Magyarországon.<sup>4</sup> Ezeket a korábbi morfológiai alapú megfigyeléseinket szeretnénk most molekuláris biológiai eszközökkel is megerősíteni.

### ANYAG ÉS MÓDSZEREK

Győr-Moson-Sopron megye székhelyének külterülete Pósdomb, ahol az első feltárásokra 1970-ben került sor Albeker Mária vezetésével. A feltárás során kora Árpád-kori temető került elő (10–11. század). A régészeti leleteket homokbányászat hozta felszínre, ennek következtében a lelőhely egy része elpusztult, s így jelentős számú sír megsemmisült.<sup>5</sup> A későbbiekben 1970 és 1973 között Mesterházy Károly vezetésével végeztek újabb ásásokat. A feltárások eredményeként összesen 217 sír került elő, ez becslések szerint a teljes temető 60%-át teheti ki.<sup>6</sup>

A temetőt koporsós temetkezés jellemezte, az eltemetett egyének végtagjait enyhén behajlították. A kora Árpád-kori temetőkben szokásos módon a sírok csekély számú mellékletet tartalmaztak, a főként ezüst és bronz köznapi, illetve S-végű karikaékszerek, nyílcsúcsok, bronzpántok, fonott ezüstgyűrűk, gyöngyök, valamint vaskések a népesség köznépi temetkezésére utalnak.<sup>7</sup> Érmét (Salamon-dénárt) csupán egyetlen sír esetén tártak fel a régészek.<sup>8</sup> A sírokból kis számban kerámiatöredékek is előkerültek.

A 217 egyénből 147 került meghatározásra (ez részben a feltárásokat követő elkallódás, részben pedig a megtartási állapot következménye), melyek

között 58 indifferens (ezek főként gyermekek), 49 férfi és 40 nő volt elkülöníthető. A csontszéria részletes morfológiai és metrikus közlésére Juhász Eleonóra szakdolgozatában került sor.<sup>9</sup>

Jelen tanulmányban a 187. sírból származó egyént kívánjuk részletesebben bemutatni, akinek a gerincoszlopán egy erőteljes *Pott-gibbus* volt megfigyelhető (*I. kép 1*). Az eset már a morfológiai vizsgálatok kezdetén feljegyzésre került, ennek kapcsán merült fel a részletesebb morfológiai analízis, illetve molekuláris biológiai vizsgálatok szükségessége, megerősítve a betegség jelenlétét az Árpád-kori népességek körében. A többi csontváz nem mutatott tuberkulózisra utaló jellegzetes, azaz úgynevezett típusos morfológiai elváltozásokat.

A paleomikrobiológiai kutatásokat morfológiai vizsgálatok előzték meg a 187. sírszámú *adultus-maturus* (36–42 éves) férfi esetében, ahol az erőteljes *Pott-gibbus* mellett további tuberkulózisra utaló elváltozásokat lehetett megfigyelni, pl. egyes bordák a gerinc felőli végükön összezsugorodtak. A vizsgálatok során korai (atípusos) és késői (típusos), továbbá az úgynevezett stresszfaktorok jelenlétét is vizsgáltuk.

<sup>1</sup> DONOGHUE 2009.

<sup>2</sup> COLE ET AL. 1998; BROSCHE ET AL. 2002.

<sup>3</sup> KÖHLER ET AL. 2012; KÖHLER ET AL. 2013; MASSON ET AL. 2014; PÓSA ET AL. 2014.

<sup>4</sup> FARKAS–MARCSIK 1996; ÉVINGER ET AL. 2011.

<sup>5</sup> ALBEKER 1970; ALBEKER 1970a.

<sup>6</sup> DÁVID 1970; DÁVID 1971; DÁVID 1972; MESTERHÁZY 1974.

<sup>7</sup> ALBEKER 1970; JUHÁSZ 1999.

<sup>8</sup> MESTERHÁZY 1974.

<sup>9</sup> JUHÁSZ 1999.

## PALEOMIKROBIOLÓGIAI ANALÍZIS

A vizsgálatokba a *humerust* és *femurt* vontunk be a csonttani anyagból. A kontamináció minimalizálása érdekében a mintavétel a Magyar Tudományos Akadémia Régészeti Intézete Archeogenetikai Laboratóriumának mintavételi helyiségében történt, továbbá a vizsgálatok előkészítése is ott zajlott. A paleomikrobiológiai vizsgálatokra az EURAC Institute for Mummies and the Iceman bolzanoi kutatólaboratóriumában került sor.

A *Mycobacterium tuberculosis* komplex tagjai tartalmaznak egy ismétlődő (repetitív) elemet, amely IS6110-ként ismert. Ebben a szekvenciában található egy 123 bázispáros régió, amely egy primer pár (IS6110F és IS6110R) segítségével felszorzozható (amplifikálható). A vizsgálatok során ezt a régiót amplifikáltuk PCR reakció alkalmazásával.

A DNS extrakcióhoz 250 mg csontport használtunk. Az extrakciós elegy 5 ml EDTA-t és 20 µl 20mg/ml Proteinase K-t tartalmazott, keverést követően éjszakára 40°C-on inkubáltuk. A minták felülúszójához 2,5 ml kötő puffert és 100 µl szilika szuszpenziót adtunk a DNS megkötése érdekében, ezt követően 3 órán keresztül inkubáltuk. A DNS kivonást a Nadin Rohland-féle protokoll alapján végeztük, kisebb módosításokkal.<sup>10</sup>

Az amplifikációhoz hot-start PCR-t alkalmaztunk. A PCR reakcióelegy a következőket tartalmazta: 10 mM TRIS-HCl (pH 8.3), 50 mM KCl, 1.875 mM MgCl<sub>2</sub>, 200 µM mindegyik dezoxinukleotid trifoszfátból, 0,5 µM mindkét primerből, 0,1 mg/ml BSA-t, 0,05 U/µl AmpliTaq Gold-ot (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) és 2 µl a kinyert DNS-ből, a végső térfogat 20 µl.

## EREDMÉNYEK ÉS MEGVITATÁS

Az elsődleges molekuláris vizsgálatokba a 187. sírban található individuumot vontuk be, hogy megerősítsük a *mycobacterialis* fertőzés jelenlétét ebben az Árpád-kori temetőben.

A Győr-Pósdomb lelőhely 187. sírjából származó 36–42 éves (*adultus-maturus*) férfi koponyája nem mutatott tbc-re utaló kóros elváltozást. Azonban a *postcranialis* csontokon több morfológiai lézió volt megfigyelhető; csonthártyagyulladás (*periostitis*) nyomai a bordákon (*I. kép 2*), a combcsontokon (*femur*), a sípcsontokon (*tibia*) és a kulcscsontok *sternum* (szegycsont) felőli végén. A jobb oldali 6–7-es bordák a gerinc felőli végükön összezsontosodtak. Mindkét *facies auricularis* esetében megfigyelhető a gyulladáshoz elváltozás, azonban a *sacrum* bal oldalán erőtelje-

sebb (*I. kép 3*). A gerincoszlopon megfigyelhető jellegzetes csigolya elváltozás, amely a vizsgálatok aktualitását adta, s amelyet a szakirodalom *Pott-gibbus* néven említ, előrehaladott tbc-re utal, ahol a *thoracalis* 4–9-es csigolyák összeroppánása, illetve összezsontosodása figyelhető meg (*I. kép 1*).

A molekuláris vizsgálatok alapján mind a karcsontból, mind a combcsontból vett minták esetében pozitív eredményt kaptunk a kórokozó baktérium DNS jelenlétére, mellyel bizonyítottuk a tuberkulózissal történt fertőzést. Azok a tipizáló vizsgálatok, amelyek választ adhatnak azon kérdéseinkre, hogy mely tagja volt jelen a *Mycobacterium tuberculosis* komplexnek ebben a népességben, jelenleg is folyamatban vannak.

<sup>10</sup> ROHLAND ET AL. 2009.

## KÖVETKEZTETÉSEK

A kora Árpád-kori temetőkben ez volt az első alkalom, hogy a tuberkulózisfertőzés jelenlétét molekuláris diagnosztika segítségével vizsgáltuk, melynek során sikeresen izoláltuk a DNS-t az adott mintavételi helyekről.

Annak érdekében, hogy megállapítsuk, az *M. tuberculosis* komplex mely tagja fertőzte meg a vizsgált

egyéneket, további vizsgálatok elvégzése szükséges. Ezek a Kamerbeek és munkatársai által leírt *spoligotyping* módszerrel jelenleg is folyamatban vannak.<sup>11</sup>

Jövőbeni terveink között szerepel a teljes temető vizsgálata annak érdekében, hogy rávilágítsunk az ide temetkező Árpád-kori népesség fertőzöttségének a mértékére.

## KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

A kutatás a TÁMOP-4.2.4.A/2-11/1-2012-0001 azonosító számú Nemzeti Kiválóság Program – Hazai hallgatói, illetve kutatói személyi támogatást biztosító rendszer kidolgozása és működtetése konvergencia program című kiemelt projekt keretében zajlott. A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg. Külön köszönettel tartozunk a Magyar Természettudományi Múzeum Embertani Tárának és különösen, Pap Ildikónak, hogy a vizsgálatainkba bevont csontmaradványokat a rendelkezésünkre bocsátotta.

## IRODALOM

- ALBEKER 1970: Albeker M: Győr-Pósdomb (Nr. 105). *Régészeti Füzetek* Ser I. No. 23 (1970) 64.
- ALBEKER 1970a: Albeker M: Győr-Pósdomb. *Archaeologiai Értesítő* 97 (1970) 316.
- BROSCH ET AL. 2002: Brosch, R. – Gordon, S. V. – Marmiesse, M. – Brodin, P. – Buchrieser, C. – Eiglmeier, K. – Garnier, T. – Gutierrez, C. – Hewinson, G. – Kremer, K. – Parsons, L. M. – Pym, A. S. – Samper, S. – van Soolingen, D. – Cole, S. T.: A new evolutionary scenario for the *Mycobacterium tuberculosis* complex. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 99:6 (2002) 3684–3689.
- COLE ET AL. 1998: Cole, S. T. – Brosch, R. – Parkhill, J. – Garnier, T. – Churcher, C. – Harris, D. – Gordon, S. V. – Eiglmeier, K. – Gas, S. – Barry, C. E. – Tekaia, F. – Badcock, K. – Basham, D. – Brown, D. – Chillingworth, T. – Connor, R. – Davies, R. – Devlin, K. – Feltwell, T. – Gentles, S. – Hamlin, N. – Holroyd, S. – Hornsby, T. – Jagels, K. – Krogh, A. – McLean, J. – Moule, S. – Murphy, L. – Oliver, K. – Osborne, J. – Quail, M. A. – Rajandream, M. A. – Rogers, J. – Rutter, S. – Seeger, K. – Skelton, J. – Squares, R. – Squares, S. – Sulston, J. E. – Taylor, K. – Whitehead, S. – Barrell, B. G.: Deciphering the biology of *Mycobacterium tuberculosis* from the complete genome sequence. *Nature* 393 (1998) 537–544.
- DÁVID 1970: Dávid L: Jelentés a Győr-Sopron megyei múzeumi szervezet 1969. évi működéséről. *Arrabona* 12 (1970) 391–406.
- DÁVID 1971: Dávid L: Jelentés a Győr-Sopron megyei múzeumi szervezet 1970. évi működéséről. *Arrabona* 13 (1971) 505–517.
- DÁVID 1972: Dávid L: Jelentés a Győr-Sopron megyei múzeumi szervezet 1971. évi működéséről. *Arrabona* 14 (1972) 435–451.
- DONOGHUE 2009: Donoghue, H. D.: Human tuberculosis – an ancient disease, as elucidated by ancient microbial biomolecules. *Microbes Infect* 11 (2009) 1156–1162. <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2009.08.008>
- ÉVINGER ET AL. 2011: Évinger, S. – Bernert, Zs. – Fóthi, E. – Wolff, K. – Kővári, I. – Marcsik, A. – Donoghue, H. D. – O’Grady, J. – Kiss, K. K. – Hajdu, T.: New skeletal tuberculosis cases in past populations from Western Hungary (Transdanubia). *HOMO-Journal of*

<sup>11</sup> KAMERBEEK ET AL. 1997.

- Comparative Human Biology* 62:3 (2011) 165–83.
- FARKAS–MARCSIK 1996: Farkas L. Gy. – Marcsik A.: Ópusztaszer-Monostor lelőhely csontvázaian megfigyelhető paleopatológiai elváltozások. In: *Honfoglaló magyarság, Árpád-kori magyarság*. Szerk.: Farkas Gy. – Molnár E. – Pálfi Gy. Szeged 1996, 251–264.
- JUHÁSZ 1999: Juhász E.: *Metodikai tanulmány Győr-Pósdomb 10–11. századi temetőjének embertani anyagán*. Szakdolgozat. Budapest 1999.
- KAMERBEEK ET AL. 1997: Kamerbeek, J. – Schouls, L. – Kolk, A. – van Agterveld, M. – van Soolingen, D. – Kuijper, S. – Bunschoten, A. – Molhuizen, H. – Shaw, R. – Goyal, M. – van Embden, J.: Simultaneous detection and strain differentiation of *Mycobacterium tuberculosis* for diagnosis and epidemiology. *Journal of Clinical Microbiology* 35:4 (1997) 907–914.
- KÖHLER ET AL. 2013: Köhler, K. – Mende, B. G. – Pósa, A.: The Emergence of Tuberculosis in Late Neolithic Transdanubia. *Hungarian Archaeology*, Summer 2013, [http://www.hungarianarchaeology.hu/wp-content/uploads/2013/08/eng\\_Kohler\\_13nyl.pdf](http://www.hungarianarchaeology.hu/wp-content/uploads/2013/08/eng_Kohler_13nyl.pdf)
- KÖHLER ET AL. 2012: Köhler, K. – Pálfi, Gy. – Molnár, E. – Zalai-Gaál, I. – Osztás, A. – Bánffy, E. – Kirinó, K. – Kiss, K. K. – Mende, B. G.: A Late Neolithic case of Pott's disease from Hungary. *International Journal of Osteoarchaeology* 2012. <https://doi.org/10.1002/oa.2254>
- MASSON ET AL. 2013: Masson, M. – Molnár, E. – Donoghue, H. D. – Besra, G. S. – Minnikin, D. E. – Wu, H. H. T. – Lee, O. Y-C. – Bull, I. D. – Pálfi, Gy.: Osteological and Biomolecular Evidence of a 7000-Year-Old Case of Hypertrophic Pulmonary Osteopathy Secondary to Tuberculosis from Neolithic Hungary. *PlosOne* 2013. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0078252>
- MESTERHÁZY 1974: Mesterházy K.: Győr-Pósdomb (Nr. 132). *Régészeti Füzetek* Ser I. No. 27 (1974) 73.
- PÓSA ET AL. 2015: Pósa, A. – Maixner, F. – Mende, B. G. – Köhler, K. – Sola, C. – Dutour, O. – Masson, M. – Molnár, E. – Pálfi, G. – Zink, A.: Tuberculosis in Late Neolithic-Early Copper Age human skeletal remains from Hungary. *Tuberculosis* 95 (Suppl 1) S18–S22. <https://doi.org/10.1016/j.tube.2015.02.011>
- ROHLAND ET AL. 2009: Rohland, N. – Siedel, H. – Hofreiter, M.: A rapid column-based ancient DNA extraction method for increased sample throughput. *Molecular Ecology Resources* 2009 November (2009). <https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2009.02824.x>
- WHO REPORT 2011: *World Health Organization: Global tuberculosis control: surveillance, planning, financing. WHO Report*. Geneva 2011.



## MOLECULAR AND MORPHOLOGICAL CASE OF POTT'S DISEASE FROM THE ARPADIAN AGE

It is well known that tuberculosis (TB) causes 1.5 million deaths every year and a significant proportion of the world's total population was infected with *Mycobacterium tuberculosis*. These facts give a great importance to paleopathological TB research too. Due to recent development of macroscopic and molecular diagnostic methods in paleopathology and paleomicrobiology, molecular methods for the detection of Mycobacterial ancient DNA (aDNA) have also developed considerably in the last few years.

In the osteoarchaeological series of Győr-Pósdomb from the 10th–11th century (western Hungary), which has already been the subject of preliminary paleopathological studies on TB-related bone lesions, an interesting case with Pott's disease (Grave No. 187) was detected. The total graveyard contains 217 individuals. The skeletal material of this cemetery was chosen for the macromorphological investigation which focused both on classical/advanced (tuberculous spondylitis, tuberculous arthritis) stage skeletal TB alterations and atypical/early-stage TB lesions (rib lesions, superficial vertebral changes, endocranial alterations, early-stage spondylodiscitis). In addition, the association of possible stress factors (long bone periostitis, cribra orbitalia, cribra cranii) was also considered. Earlier some cases had been detected from Roman-period Pannonia and from the Avar period by macromorphological methods.

Paleomicrobiological analysis was used to study the presence of *Mycobacterium tuberculosis* DNA both in morphologically positive and negative cases. Samples were examined for the repetitive element IS6110 in the *M. tuberculosis* complex (MTBC). Molecular biological results confirmed TB infection, Mycobacterial DNA was detected in both samples.

The currently ongoing spoligotyping and sequencing can give a more accurate picture of the infection by different MTBC pathogens. Our future aims include the examination of the total series of Győr-Pósdomb so that we can clarify the degree of infection in this era.



1. kép. 1: A Győr-Pósdombon (187. sír, férfi) előkerült Pott-gibbusos eset; 2: Bordaperiostitis; 3: Sacroielitis  
Fig. 1. 1: The case of Pott's disease was found from the site of Győr-Pósdomb (Grave 187, male); 2: Rib periostitis; 3: Sacroielitis