

ДОПРИНОС ПАЛЕОГЕНЕТИКЕ У ИСТРАЖИВАЊУ ЕПИДЕМИЈА У ПРОШЛОСТИ

Александра Жегарац

Универзитет у Београду, Филозофски факултет,

Одељење за археологију, Београд

Група за биоархеологију, Институт БиоСенс,

Универзитет у Новом Саду, Нови Сад

e-mail: klea064@gmail.com | Прегледни рад

Примљено: 28. 3. 2023. | УДК: 56:575 56:579

Прихваћено: 21. 6. 2023. | 616-036.22(091)

Апстракт: Проучавање древних патогена је изузетно значајно јер може пружити информације о здрављу и социјалном статусу индивида и популација у прошлости, али и омогућити боље разумевање интеракција и коеволуције између патогена и домаћина у зависности од еколошких и социоекономских фактора. Међутим, детектовање узрока епидемија у прошлости представљао је тежак задатак, с обзиром на то да су болести видљиве на костима тек у хроничном стању. Развој палеогенетике допринео је лакшој идентификацији микроорганизама у скелетним остацима, добијању информације о пореклу патогена, као и детекцији геномских промена које доводе до разлика у манифестацији болести, односно региона одговорних за њено брзо ширење и повећану смртност у популацији. Ово је веома важно за истраживање процеса адаптације патогена, што може помоћи контроли садашњих епидемија и побољшати здравствени систем. Досадашња истраживања су показала да се динамика болести не може објаснити само генетиком и вирусносношћу патогена, већ она зависи и од промене начина трансмисије болести, имунитета индивида, као и од социјалних фактора који утичу на њено ширење у популацији. Из тог разлога, пандемије су добар пример како патогени утичу на понашање човека и промене у друштву. Сусрети човека и патогена постали су чеићи почетком неолита услед ближег контакта са животињама и складиштења хране и отпада, а брз развој друштва и градова доводи до неодговарајућих услова за живот, још веће густине насељености и израженије социјалне неједнакости. Стога улога човека у појави инфективних болести никако не сме бити занемарена јер управо човек својим неодговорним понашањем, масовном урбанизацијом и експлоатацијом природне средине узрокује климатске промене и настанак епидемија.

Кључне речи: палеомикробиологија, палеогенетика, древна ДНК, патогени, епидемије, куга

Спољашњи утицаји, различитог интензитета и трајања, представљају селекционе притиске који утичу на све организме у природи. Ови селекциони притисци делују и на геном човека, те њихово дефинисање може допринети сазнањима о еволуционој историји човека и његовој адаптацији на дату средину. Један од најважнијих селекционих фактора који су утицали на структуру и функцију геномских региона људи јесу патогени и болести које они изазивају. Наиме, микробиом се дефинише као сложена заједница микроорганизама (МО) који настањују наше тело (Lederberg and McCray 2001) и који се формира одмах након рођења и одржава у организму домаћина током целог живота. Микробиом је нераздвојан део онога што чини нашу исхрану и околину, његов састав је стабилан током времена, али има способност да брзо одговара на срединске промене што узрокује стрес и дисбаланс и може довести до развоја патогена. Из ових разлога, постало је јасно да се еволуција човека више не може посматрати одвојено од микробиома, што је и довело до развоја палеомикробиологије – мултидисциплинарне научне области која се бави студијом древних МО, како оних који живе са нама у симбиотском односу, тако и патогена који су кроз процесе стварања токсина, стимулације запаљенских реакција и нарушавања метаболизма ћелија домаћина способни да узрокују болести домаћина (Abbas and Licthman 2008).

Главни фактори имуног система домаћина су гени укључени у процесе имуног система и протеини које ови гени активирају, а представљају прву одбрану домаћина од патогена и омогућавају одговарајући адаптивни одговор. Насупрот томе, снага патогена је условљена генима који одређују фактор вирулентности, неопходним нутријентима за њихово умножавање и њиховој заступљености у средини (Scheib 2021). Уколико је равнотежа између инфективних патогена и имуног система човека нарушена у корист патогена, смањује се адаптивна вредност организма. Основни принцип ширења патогена се заснива на њиховом балансираном умножавању како не би дошло до преане смрти домаћина, а самим тим и патогена.

Иако корисни у анализи, савремени узорци временски ограничавају посматрање и предвиђање еволуционих сценарија, те је истраживање древних патогена (с обзиром на њихову брзу еволуцију) веома корисно за студије порекла, филогеније и коеволуције између патогена и имуног система њихових домаћина (Anastasiou and Mitchell 2013). Приликом истраживања трагова трауме и патологије на скелетним остацима могу се добити информације о здрављу и социјалном статусу одређене индивидуе у тренутку умирања. Уколико се информације добију на већем броју индивидуа, анализе се могу при-

менити и на популацију како би се добили подаци о епидемијама у прошлости, а анализе великог броја скелета из различитих периода указују на промене у распрострањености болести у одређеним тренуцима (Pinhasi and Turner 2008, 45–56). На основу посматрања више индивида може се закључити и о међусобном односу одређених фактора (на пример, исхране, радних навика или сродничких односа) са здравственим статусом индивида (Pinhasi and Turner 2008, 45–56; Scheib 2021). Тако је, поред карактеризације узрочника епидемија у прошлости, студирање срединских и културних услова који доприносе поновној појави „старих” или доводе до појаве нових патогена један од главних задатака палеопатологије. Другим речима, палеопатологија омогућава боље разумевање интеракција између патогена и домаћина у зависности од климатских и еколошких услова, али и од социоекономских фактора (Harkins and Stone 2015). Ово је од изузетно важно јер боље разумевање болести несумњиво доприноси и бољем третману пацијената и побољшању здравственог система. Међутим, треба напоменути да је неопходно опрезно доносити закључке на основу добијених података јер археолошки узорак не представља репрезентативну популацију.

Утицај човека на појаву и ширење патогена

Приликом истраживања епидемија важно је нагласити да се човек не може посматрати одвојено од своје околине. Човек својим понашањем доприноси појави и ширењу нових облика патогена, те су и епидемије тесно повезане са културним променама у људској историји. На пример, исхрана, социјална организација и припадност одређеној социјалној групи утичу на квалитет уноса хранљивих материја, састав микробиома и имуни систем човека, што се и увидело приликом поређења патолошких маркера древних индивида са археолошким артефактима пронађеним у њиховим гробовима, где су лезије биле израженије код сиромашнијих индивида (Armstrong et al. 2005). С друге стране, средински фактори, попут климатских услова и распрострањености биљног и животињског света, утичу на миграције људи, приликом чега долази до промена еколошких ниша и сусрета са новим паразитима, али и ширења патогена које људи доносе са собом.

Сусрети човека и патогена постали су чешћи почетком неолита пре око 10.000 година на Блиском истоку, када људи почињу да се баве земљорадњом и domestikацијом животиња. Ближи контакт са животињама које оболевају од зооноза, а чији се узрочници могу пренети на човека преко продуката домаћих животиња (млека, коже или длаке), излаже човека новим патогенима (Barrett et al. 1998; Harkins and Stone 2015). За разлику од

малобројнијих и раштрканих популација у палеолиту у којима је преношење заразе контактом отежано, пораст фертилитета у првим фазама неолита довео је и до веће густине насељености и чешћег контакта међу члановима заједнице, а последично и бржем преношењу болести. О томе сведоче и повећане учесталости лезија на скелетним остацима из неолита, денталне патологије и неправилан раст костију у односу на пронађене кости ловаца-сакупљача (Cohen and Armelagos 1984; Spyrou et al. 2019).

Промене у односу патогена и домаћина директно су повезане са променама начина живота људи и променама у социјалној организацији друштва (Barrett et al. 1998). Увођење житарица у исхрану и смањена варијабилност намирница и нутријената може изазвати проблеме у исхрани, што популацију чини рањивијом према патогенима (Cohen and Armelagos 1984). Складиштење хране и отпада такође је довело до чешћих контаминација и тровања храном, као и стварања оптималних услова за ширење паразита и гастроинтестиналних инфекција (Barrett et al. 1998). Додатно, неодговарајући санитарни услови и контаминација воде, до којих је долазило услед развоја друштва и градова током историје, узроковали су ширење вирулентнијих патогена и епидемија колере, куге, тифуса, заушки, морбила и малих богиња, које даље изазивају велике економске кризе и продубљују јаз између социјалних група (Barrett et al. 1998; Matta 2020).

Са индустријском револуцијом долази до опадања стопе морталитета од инфективних болести пре свега услед развоја медицине и технологије, пастеризације и боље санитације (Barrett et al. 1998). Иако су развој медицине и боља хигијена мењали интеракцију човека са МО и довели до изумирања многих бактерија, једноћелијских и вишећелијских паразита (Schnorr et al. 2016), ове интервенције су захватиле и корисне бактерије, што је довело до повећаног ризика од аутоимуних болести (Tito et al. 2012). Све чешћи поремећаји у развоју имуног система човека и његовој регулацији доводе се у везу с недостатком излагања срединским агенсима у раном животном добу (Schnorr et al. 2016) јер стерилна средина резултује у небалансираном развоју Т-ћелија (Tito et al. 2008).

Крчење шума и масовна урбанизација узроковале су и повећано загађење ваздуха и воде, а последично је дошло и до пораста респираторних инфекција и болести попут рака, дијабетеса, срчаних болести, алергија, као и све чешћих случајева депресије и анксиозности (Barrett et al. 1998; Armelagos et al. 2005; Matta 2020). Такође, неодговорност човека и мањак еколошких регулација доводе до климатских промена, које могу узроковати поновне појаве старих инфекција.

У свету се још пре 30 година апеловало на могућу реактивацију одређених МО који су представљали опасност у прошлости, као и појаву нових инфекција које ће довести до повећаног морбидитета и морталитета услед развоја технологије и индустрије, еколошких промена, ратова, масовних миграција, раста популације и погоршања основне здравствене неге (Satcher 1995; Barrett et al. 1998; Matta 2020). Глобализација, односно честа интернационална путовања и трговина доприносе кретању активних патогена који су сада могу да превазиђу географске баријере и стигну у нове средине и популације. На тај начин они се шире у нове еколошке нише и ступају у контакт са новим преносиоцима болести, при чему долази до њихових промена и адаптације на нове средине (Harkins and Stone 2015).

Палеогенетичке методе за карактеризацију патогена у прошлости

Први корак приликом детектовања патогена јесте посматрање промена у виду лезија или рупа на скелетним остацима. Приликом описивања абнормалних стања костију, важно је разликовати промене на скелетним остацима које су резултат инфекције и трауме од оних које су се десиле након смрти организама и резултат су процеса тафономије (Grauer 2008, 57–76; Turner-Walker 2008, 3–29). Друге методе у палеопатологији најчешће се заснивају на употреби скенирајућег електронског микроскопа или компјутерске томографије (Lynnerup 2008, 101–119). Међутим, највећи проблем приликом детектовања узрока епидемија је што акутне инфекције не остављају дијагностичке промене на костима. Из овог разлога, болест је често немогуће уочити на скелетним остацима, а проучавање епидемија у прошлости углавном је ограничено на гробља која су настала за време активности познатих патогена. С обзиром на то да се болести манифестују на костима тек у хроничном стању, на некрополама се често јавља парадокс да су индивидуе које делују здраво у ствари најболесније, док су индивидуе са лезијама често биле успешније у борби са актуелним инфективним болестима (Harkins and Stone 2015).

Развој палеогенетике омогућио је изоловање нуклеинских киселина патогена из скелетних остатака, чак и у случајевима када не постоје видљиви знаци болести. Ланчана реакција полимеразе (PCR) омогућила је таргетирање и умножавање ДНК секвенци без потребе за гајењем култура (Harkins et al. 2015; Seifert et al. 2016), а нова генерација секвенцирања (НГС) бољу аутентификацију узорака и анализу кратких фрагмената древне ДНК. Са НГС методом анализе су се такође значајно убрзале, јер је омогућено истовремено студирање великог броја индивидуа и идентификација

свих МО присутних у узорку (Adler et al. 2013; Warinner et al. 2014). Генетичке промене у МО су делимично одговорне за разлике у манифестацији болести и озбиљности клиничке слике, те је њихово детектовање изузетно важно ради бољег разумевања еволуционих промена организама који су допринели настанку епидемија (Bos et al. 2011). С развојем палеогенетике такође је постало могуће поредити геноме древних и савремених МО, што може пружити вредна сазнања о њиховом пореклу и филогенетском стаблу (Harkins and Stone 2015; Bos et al. 2016). Компаративна геномика је на тај начин допринела проценама времена настанка и учесталости патогена међу људима, као и процену диверзитета патогена у прошлости и данас (Arriola et al. 2020).

Иако се петрозне кости најчешће користе као материјал за изоловање древне ДНК (Gamba et al. 2014, Pinhasi et al. 2015), оне најчешће нису од користи приликом истраживања патогена. Патогени се најбоље изолују из костију на којима су присутне лезије и које су очигледни показатељи хроничних болести (Spyrou et al. 2019). Тако су на пример изоловане *Mycobacterium tuberculosis* из вертебре (Bos et al. 2014), *Mycobacterium leprae* из максила и дугих костију скелета који потичу из средњег века у Европи (Schuenemann et al. 2013; 2018a), као и *Treponema pallidum subsp. Pallidum* и *T. pallidum subsp. pertenue* из дугих костију (Schuenemann et al. 2018b). Као одличан извор древне ДНК патогена могу послужити и зуби, односно исушена крв из пулпе (Schuenemann et al. 2011; Marciniak et al. 2016; Mühlemann et al. 2018; Vågene et al. 2018), или зубни каменац, који се може користити као извор оралног микробиома индивидуе, односно оралних патогена и протеина асоцираних са имунитетом домаћина (Adler et al. 2013; Warinner et al. 2014; Weyrich et al. 2017). Додатно, патогени су изоловани из мумија (Maixner et al. 2016; Duggan et al. 2016), ткива очуваних у алкохолу (Devault et al. 2014a), замрзнутих узорака (Taubenberger et al. 2005) и хербаријума (Martin et al. 2013).

Након изоловања ДНК могу се секвенцирати цели геноми организама (енгл. *shotgun sequencing*), или се могу користити методе обогаћивања (енгл. *hybridization enrichment* или *DNA capture*) које се заснивају на продукцији специфичних проба, односно ДНК или РНК олигонуклеотида комплементарним секвенцама од интереса. Ове методе се најчешће користе за детекцију специфичних организама у узорку, уколико се на основу посматрања скелетних лезија или неких других доказа може претпоставити и узрочник епидемије (Bos et al. 2011; 2014; Schuenemann et al. 2013; Devault et al. 2014b; Wagner et al. 2014). Иако секвенцирање целих генома доприноси

бољем разумевању еволуције патогена, методе обогаћивања су јефтиније уколико постоји велики број узорака, али немају могућност детекције до сада непознатих организама.

Специјални биоинформатички програми користе се за идентификацију МО на тај начин што се добијене секвенце мапирају на референтни геном (у случају да постоји претпоставка о једном патогену који је узрочник болести) или мултигеном референцу, која укључује неколико врста одређеног рода. Након тога, могу се користити и специјални програми за идентификацију мутација и региона за рекомбинацију (Sprou et al. 2019). Молекуларни подаци и филогенетске реконструкције често се примењују за процене настанка и старости одређених сојева патогена, процену диверзитета, као и за предвиђање времена дивергенције таксона (Sprou et al. 2019).

Међутим, и методе палеогенетике имају своја ограничења, пре свега због фрагментације и деградације ДНК у скелетним остацима, и њене мале количине у лошије очуваним узорцима. Контаминација савременом ДНК се знатно смањила захваљујући специјалним лабораторијама за древну ДНК и успешној аутентификацији древних узорака биоинформатичким програмима (Jónsson et al. 2013). Додатно, огромна количина података која се добија након секвенцирања мора се на адекватан начин процесуирати, што може представљати проблем у случају МО због њиховог огромног диверзитета и немогућности мапирања. Добијање информација о великом броју организама у којима већинска ДНК потиче од организама из средине отежава изоловање циљних патогена будући да многи патогени имају блиске рођаке у срединској ДНК, те их је понекад немогуће идентификовати у узорку (Müller et al. 2016; Warinner et al. 2017; Arriola et al. 2020). Један од начина превазилажења проблема јесте метагеномски приступ, у коме се ради карактеризација и процена диверзитета свих МО присутних у скелетним остацима (Adler et al. 2013; Devault et al. 2014b; Warinner et al. 2014; Kay et al. 2014; Bos et al. 2015; Weyrich et al. 2017). Управо због ових ограничења важно је добро смислити истраживање и уколико је могуће, дефинисати узрочнике патологије, а затим и применити све потребне експерименталне контроле и провере квалитета ДНК секвенци од интереса.

Епидемије куге у прошлости

Свакако најбоље и најчешће изучавани патоген у палеомикробиологији јесте *Yersinia pestis*, Грам-негативна бактерија из фамилије Enterobacteriaceae – узрочник куге већ 5.000 година (Rasmussen et al. 2015). Када и зашто је ова бактерија еволуирала у тако смртоносног патогена, као

и начин на који се ширила и преносила на људе, а потом и нестајала, питања су која и данас интригирају научну заједницу.

Код људи се разликују три форме куге: бубонска, плућна и септични облик куге (Perry and Fetherston 1997). Бубонска куга је најчешћа форма, која резултује у 60% смртности уколико се не лечи антибиотицима. Када дође до уједа буве која је заражена бактеријом, бактерија путује до најближег лимфног чвора, где долази до њене репликације, и изазива надувеност лимфних чворова. Бактерија из лимфних чворова може отићи у крвоток, где се даље размножава и преко крви се разноси по телу изазивајући септични облик куге, или стиже у дисајне органе где изазива плућну кугу (Perry and Fetherston 1997). Обе форме су високо леталне уколико се не третирају на време. Само се плућна форма може преносити са човека на човека преко ваздуха, док се друге две форме преносе са пацова на човека и животиње преко уједа вектора (буве).

Због много бржег ширења куге у прошлости него данас, дуго се сумњало да је *Y. pestis* њен узрочник. Молекуларне методе и истраживања на древним геномима допринеле су детекцији ове бактерије у жртвама епидемија и идентификацији геномских промена које омогућавају повећану вирулентност патогена и њихово брзо ширење у популацији, доводећи до разлика у манифестацији и озбиљности клиничке слике болести.

Дијагностичке секвенце *Y. pestis* изоловане су још 1998. године PCR техником из зуба жртава средњовековних епидемија у Француској (Drancourt et al. 1998; Raoult et al. 2000), а потом и из 76 жртава „црне смрти” широм Европе (Haensch et al. 2010). Прва идентификација ове бактерије новом генерацијом секвенцирања одиграла се 2011. године, када је ова бактерија изолована из зуба жртава „црне смрти” пронађених у масовној гробници у Енглеској (Bos et al. 2011; Schuenemann et al. 2011). Убрзо након овог открића, изоловали су се и други геноми *Y. pestis*, који су омогућили поређење генома патогена у различитим пандемијама и хронолошки преглед вирулентности и еволуције ове бактерије, као и доказе да су ектопаразити важни у процесу заражавања људи (Rasmussen et al. 2015; Bos et al. 2016; Feldman et al. 2016; Spyrou et al. 2016; Andrades Valtueña et al. 2017; Namouchi et al. 2018; Rascovan et al. 2019).

Бактерија *Y. pestis* је довела до најмање три велике пандемије у прошлости, од којих је последња избила половином 19. века у Кини¹, одакле се брзо ширила морским рутама и опстала до данашњег дана у деловима Африке, Азије и Јужне Америке (Perry and Fetherston 1997). За старије до-

¹ Бактерију је први пут описао 1894. године Александар Јерсин, по коме је и добила име.

кументоване пандемије, попут куге у Атини (430–427. године пре нове ере) или Антонинијеве куге (165–180. године), не постоје директни докази да их је изазвала *Y. pestis*.

Анализе древне ДНК доказале су да је ова бактерија одговорна за прву велику пандемију (541–750. године), чији је први талас познат као Јустинијанова куга (541–544. године) (Harbeck et al. 2013; Wagner et al. 2014; Feldman et al. 2016). Историјски подаци показују да је ова куга, у којој је умрло око 10% светске популације, почела у 6. веку у Египту и ширила се Европом преко Римског царства у више наврата (Perry and Fetherston 1997). Након секвенцирања генома бактерије изоловане из жртава ове пандемије у 6. веку у јужној Немачкој, идентификоване су геномске промене јединствене за овај сој, а филогенетске анализе су показале да је геном најсличнији савременим ланцима *Y. pestis* пронађеним код глодара у Кини, сугеришући да сој одговоран за Јустинијанову кугу води порекло из источне Азије (Wagner et al. 2014; Feldman et al. 2016).

Друга велика пандемија почела је 1346. године и први талас, познатији као „црна смрт”, трајао је до 1351. године, проузроковавши смрт чак 30–50% популације у Европи. Након тога, пандемија је са одређеним периодима паузе трајала од 14. до 18. века (1346–1772. године), међу којима су најпознатији таласи велике куге у Лондону и Марсељу (Perry and Fetherston 1997). Историјски записи говоре да се болест први пут појављује у луци на Црном мору. На основу анализе генома древних патогена из западне, северне и јужне Европе (од 14. до 18. века) доказано је да је *Y. pestis* узрочник пандемије и да овај сој одликује релативно мали диверзитет. Ови резултати даље сугеришу модел појављивања бактерије у једном таласу и њено брзо ширење Европом, као и локално настајање сојева који су изазвали средњовековне епидемије (Bos et al. 2011; 2016; Spyrou et al. 2016; Namouchi et al. 2018). Овај сој је такође допринео настанку већини савремених ланаца, међу којима је и ланац повезан са трећом пандемијом (Bos et al. 2011; 2016; Wagner et al. 2014; Spyrou et al. 2016; Namouchi et al. 2018).

С обзиром на велики генетички диверзитет ове бактерије у Кини, дуго се претпостављало да сој бактерије који је одговоран за „црну смрт” води порекло из источне Азије (Cui et al. 2013). Међутим, треба напоменути да се оваквим претпоставкама мора приступити са предострожношћу због ограниченог узорковања древног материјала и неадекватне процене генетичког диверзитета у неким деловима света. Најновија истраживања су показала да овај сој, као и сви остали активни сојеви у Европи следећих 500 година (Bos et al. 2016), воде порекло од соја у Киргистану (Spyrou et al.

2022). Три од седам индивидуа из којих је ДНК изолована из зубне пулпе, а које су биле жртве епидемије куге 1338–1339. године, биле су инфициране бактеријом *Y. pestis*, која је изазвала „црну смрт”, чак деценију пре њене активности у Европи. С обзиром на то да су ове индивидуе сахрањене са егзотичним материјалом, претпостављено је да су биле трговци и да су кугу ширили пацови поморским рутама до Црног мора (Spyrou et al. 2022).

Примарни домаћин *Y. pestis* су глодари које је човек ловио ради коришћења њихових зуба и костију за израду објеката, али је такође долазио и у контакт са контаминираном складиштену храном (Anisimov et al. 2004; Rascovan et al. 2019). Трансмисија ове бактерије одиграва се преко вектора, односно буве (Anisimov et al. 2004; Hinnebusch et al. 2016). Наиме, *Y. pestis* одликује јединствена способност да колонизује и формира биофилм (чврсту масу) у буви, који блокира део њеног дигестивног система и спречава да оброк крви уђе у дигестивни тракт. Ово додатно изгладњује буве, које су принуђене да повећају број уједа и наставе да се хране крвљу, што на крају доводи до пљувања оброка заједно са *Y. pestis* у домаћина (пацова) и до ефективног преноса бактерије на домаћина (Hinnebusch et al. 2016).

Да би идентификација молекуларних механизма и елемената који су одговорни за повећање патогености бактерије и сложену трансмисију која одликује кугу била успешна, неопходно је да се древни узорци пореде са савременим сојевима, али и са *Y. pseudotuberculosis* – бактеријом која живи у земљишту и изазива ентеричне болести, од које је *Y. pestis* еволуирала (Achtman et al. 1999). Време раздвајања линија *Y. pseudotuberculosis* и *Y. pestis* процењено је на 55.000 година (Rasmussen et al. 2015). Иако ове две врсте имају 97% идентичних нуклеотида на генима који кодирају за протеине (Chain et al. 2004), оне су различите у погледу свог вирулентног потенцијала и механизма трансмисије. Наиме, обе врсте поседују плазмид pCD1, али *Y. pestis* садржи и два додатна плаزمида која омогућавају оболевање сисара: плазмид pMT1, који игра улогу у колонизацији бува (Hinnebusch et al. 2002; Sun et al. 2014), и плазмид pPCP1, на којем се налази *pla* ген (енгл. *plasminogen activator gene*) – одговоран за бактеријску активност и вирулентност јер олакшава умножавање бактерије и њено ширење (Schuenemann et al. 2011; Zimpler et al. 2015; Andrades Valtueña et al. 2017).

На основу анализе бактеријских генома из зуба индивидуа пореклом из касног неолита и бронзаног доба у Европи и Азији показано је да је бактерија *Y. pestis* била присутна још пре око 5.000 година (много пре првих регистрованих пандемија), али у нешто другачијој, мање инфективној форми, која је била ограничена на локалне заједнице (Rasmussen et al. 2015;

Andrades Valtueña et al. 2017; Spyrou et al. 2018; Rascovan et al. 2019). Од ове бактерије је добијањем одређених елемената одговорних за повећану патогеност еволуирала вирулентнија и смртоноснија форма. Иако мање вирулентна форма такође поседује плазмиде рCD1, рMT1 и високо конзервиран рPCP1 плазмид, она не поседује кључне вирулентне факторе присутне у каснијим пандемијама – пре свега *ymt* ген (енгл. *Yersinia murine toxin*) на рMT1 плазмиду, који има улогу да штити бактерију унутар буве и омогућава векторску трансмисију и ефикасније преношење на потенцијалне домаћине (Hinnebusch et al. 2002; Rasmussen et al. 2015). Подаци добијени на анализираним индивидуама из Шпаније и Русије показују да се овај ген први пут појавио пре око 3.500–3.800 година, када се колонизација бува први пут десила, а након чега се брзо ширио у природи (Rasmussen et al. 2015; Andrades Valtueña et al. 2017; Spiroy et al. 2018). Додатно, процес трансмисије преко вектора зависи и од псеудогенизације одређених гена који су активни у *Y. pseudotuberculosis*: регулатора за формирање биофилма *rcaA*, *pde2* и *pde3* (Sun et al. 2014; Andrades Valtueña et al. 2017) и ген уреазе *ureD*, који обезбеђује уреолитичку активност бактерије (Andrades Valtueña et al. 2017). Старије варијанте бактерије поседују и активан флагелин ген (*flhD*), који је потентни покретач урођеног одговора домаћина, а који је такође изгубио своју функцију у каснијим формама *Y. pestis*, вероватно након 2746. године пре н. е. (Rasmussen et al. 2015). Све ове карактеристике генома из касног неолита и бронзаног доба (недостатак *ymt* гена и функционални псеудогени) показују да бактерија није била способна да колонизује дигестивни тракт зглавкара за време праисторије, што је основ за развој бубонске куге (Sun et al. 2014; Hinnebusch et al. 2016; Andrades Valtueña et al. 2017; Rascovan et al. 2019). Међутим, ови сојеви су били способни да изазову плућну кугу, која вероватно није била честа у каснонеолитским и бронзанодопским насељима у Еврозији због релативно мале густине насељености (Rasmussen et al. 2015; Zimblet et al. 2015; Rascovan et al. 2019).

Y. pestis је идентификована и у масовној неолитској гробници у Шведској пре око 5.000 година (Rascovan et al. 2019), што сугерише да су инфективне болести (у комбинацији са експлоатацијом шума и ресурса) могући разлог за опадање бројности и постепено слабљење неолитских популација у Европи пре око 6.000–5.000 година. Анализе генома и археолошких података такође су показале да се куга у овим заједницама вероватно није ширила због масовних миграција, већ услед популационог раста, неповољне природне средине, лошије исхране, коживота са великим бројем животиња, али и услед ширења трговинских мрежа и церемонијалних оку-

пљања (Rascovan et al. 2019). Досадашње анализе указују да континуирани циклус трансмисије између буве и пацова обезбеђује опстанак ове бактерије на одређеним деловима света, али да такође зависи и од срединских и климатских фактора, као и густине насељености (Stenseth et al. 2006; Rascovan et al. 2019). Прекид ове равнотеже може изазвати ерупцију болести међу глодарима и смањење њихове популације, што приморава буве да траже алтернативне домаћине као што је човек, чиме потенцијално започиње пандемија (Sprou et al. 2019). Сматра се да су управо изненадне промене у климатским условима (пре свега у температури и падавинама) одговорне за прелазак бактерије са глодара на људе, јер топла и влажна клима потенцирају раст популације бактерија, глодара и бува, те се јавља потреба за новим домаћином (Sprou et al. 2022).

Разлози за нестајање куге у првој и другој пандемији су и даље непознати, али се могу тражити у промени климе и популације глодара,² или у промени бактерије и стицању одређеног имунитета на кугу код људи или пацова. Захваљујући бољој хигијени смањен је број глодара и ектопаразита, а побољшање здравствене неге и појава антибиотика допринели су да се куга сведе на спорадичне епидемије, са знатно нижим бројем смртних случајева и мањим социјалним и економским утицајем.

Закључак

Из досадашњих истраживања на смртоносним патогенима (пре свега на бактерији *Y. pestis*) може се закључити да се вирулентност патогена и динамика болести не могу објаснити само генетиком већ се објашњење мора тражити и у промени вектора, имуном одговору индивидуа, али и социјалним факторима који утичу на болест и њено ширење, с обзиром на то да су пандемије добри показатељи како патогени могу утицати на понашање човека и промене у друштву (Armelagos et al. 2005). Улога човека у преносу инфективних болести свакако не сме бити занемарена, пре свега због интензивних миграција људи у прошлости и данас, али и због експлоатације природних ресурса и пренасељености становништва у градовима, што доводи до неповољних услова за живот. Неодговорно понашање човека и непоштовање природне средине као и претерана и неправилна употреба антибиотика могу довести до развоја отпорности патогена на постојеће лекове и промене у броју специфичних бактеријских група, те на тај начин узроковати наста-

² Индустријализација је довела до уништавања великог броја станишта пацова и замене црног пацова (који је и даље присутан на неким местима где је куга активна) са браон пацовом, чије је станиште другачије и који мање долази у контакт с људима (Sprou et al. 2016).

нак нових, вирулентнијих сојева. Стога је потребно да еволуциони биолози блиско сарађују са антрополозима и археолозима приликом идентификације древних патогена и гена одговорних за сложену интеракцију са имуним системом домаћина како би се добио увид у адаптацију патогена и њихово ширење, што може помоћи у контроли садашњих епидемија.

Почетак пандемије вируса корона код нас указао је на мањак образовања људи и у његово улагање, као и на чињеницу да су одређене промене у друштву неопходне. Нажалост, та сазнања су била краткотрајног века, те су истраживања епидемија и непрестана подсећања на свачију одговорност неопходна. Иако је сарадња наших институција с водећим институтима у Европи и свету омогућила да анализе древне ДНК из скелетних остатака на територији Србије заживе и у нашој земљи, оне су и даље у развоју и до сада су се бавиле сродством и популационом генетиком, што је била тема радова и ауторке овог текста (Burger et al. 2020, Žegarac et al. 2021). Велики потенцијал истраживања ДНК древних микроорганизама пружа наду да ће ове анализе у будућности бити могуће и на скелетним остацима са територије Србије, не само да би допринеле проширивању знања већ и промоцији науке у нашем друштву.

Захвалност: Чланак је резултат рада на пројекту *Човек и друштво у време кризе*, финансиран из средстава Филозофског факултета у Београду. Такође, захваљујем финансијској подршци Министарства науке, технолошког развоја и иновација Републике Србије (грант број 451-03-47/2023-01/200358).

БИБЛИОГРАФИЈА

- Abbas, A. K., and Lichtman, A. H. 2008. *Osnovna imunologija: funkcija i poremećaji imunskog sistema*, Beograd: Data Status.
- Adler, C. J., Dobney, K., Weyrich, L. S., Kaidonis, J., Walker, A. W., Haak, W., Bradshaw, C. J., Townsend, G., Soltysiak, A., Alt, K.W. and Parkhill, J., 2013. Sequencing ancient calcified dental plaque shows changes in oral microbiota with dietary shifts of the Neolithic and Industrial revolutions. *Nature genetics*, 45(4), pp. 450–455.
- Anastasiou, E. and Mitchell, P. D., 2013. Palaeopathology and genes: investigating the genetics of infectious diseases in excavated human skeletal remains and mummies from past populations. *Gene*, 528(1), pp. 33–40.
- Anisimov, A. P., Lindler, L. E. and Pier, G. B., 2004. Intraspecific diversity of *Yersinia pestis*. *Clinical microbiology reviews*, 17(2), pp. 434–464.
- Arriola, L. A., Cooper, A. and Weyrich, L. S., 2020. Palaeomicrobiology: application of ancient DNA sequencing to better understand bacterial genome evolution and adaptation. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 8, pp. 40.

- Armelaos, G. J., Brown, P. J. and Turner, B.** 2005. Evolutionary, historical and political economic perspectives on health and disease. *Social Science & Medicine*, 61, pp. 755–765.
- Achtman, M., Zurth, K., Morelli, G., Torrea, G., Guiyoule, A. and Carniel, E.**, 1999. *Yersinia pestis*, the cause of plague, is a recently emerged clone of *Yersinia pseudotuberculosis*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 96(24), pp. 14043–14048.
- Barrett, R., Kuzawa, C. W., McDade, T., and Armelagos, G. J.** 1998. Emerging infectious disease and the third epidemiological transition. In Durham, W. (Ed.). *Annual Review of anthropology*, 27(1), pp. 247–271.
- Bos, K. I., Schuenemann, V. J., Golding, G. B., Burbano, H. A., Waglechner, N., Coombes, B. K., McPhee, J. B., DeWitte, S. N., Meyer, M., Schmedes, S. and Wood, J.**, 2011. A draft genome of *Yersinia pestis* from victims of the Black Death. *Nature*, 478(7370), pp. 506–510.
- Bos, K. I., Harkins, K. M., Herbig, A., Coscolla, M., Weber, N., Comas, I., Forrest, S. A., Bryant, J. M., Harris, S. R., Schuenemann, V. J. and Campbell, T. J.**, 2014. Pre-Columbian mycobacterial genomes reveal seals as a source of New World human tuberculosis. *Nature*, 514(7523), pp. 494–497.
- Bos, K. I., Jäger, G., Schuenemann, V. J., Vågene, Å. J., Spyrou, M. A., Herbig, A., Nieselt, K. and Krause, J.**, 2015. Parallel detection of ancient pathogens via array-based DNA capture. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 370(1660), pp. 20130375.
- Bos, K. I., Herbig, A., Sahl, J., Waglechner, N., Fourment, M., Forrest, S. A., Klunk, J., Schuenemann, V. J., Poinar, D., Kuch, M. and Golding, G. B.**, 2016. Eighteenth century *Yersinia pestis* genomes reveal the long-term persistence of an historical plague focus. *Elife*, 5, pp. e12994.
- Burger, J., Link, V., Blöcher, J., Schulz, A., Sell, C., Pochon, Z., Diekmann, Y., Žegarac, A., Hofmanova, Z., Winkelbach, L. and Reyna-Blanco, C. S.**, 2020. Low prevalence of lactase persistence in Bronze Age Europe indicates ongoing strong selection over the last 3,000 years. *Current Biology*, 30(21), pp. 4307–4315.
- Vågene, Å. J., Herbig, A., Campana, M.G., Robles García, N. M., Warinner, C., Sabin, S., Spyrou, M. A., Andrades Valtueña, A., Huson, D., Tuross, N. and Bos, K. I.**, 2018. *Salmonella enterica* genomes from victims of a major sixteenth-century epidemic in Mexico. *Nature ecology & evolution*, 2(3), pp. 520–528.
- Valtueña, A. A., Mittnik, A., Key, F. M., Haak, W., Allmæe, R., Belinskij, A., Daubaras, M., Feldman, M., Jankauskas, R., Janković, I. and Massy, K.**, 2017. The Stone Age plague and its persistence in Eurasia. *Current biology*, 27(23), pp. 3683–3691.
- Gamba, C., Jones, E. R., Teasdale, M. D., McLaughlin, R. L., Gonzalez-Fortes, G., Mattiangeli, V., Domboróczki, L., Kóvári, I., Pap, I., Anders, A. and Whittle, A.**, 2014. Genome flux and stasis in a five millennium transect of European prehistory. *Nature communications*, 5(1), pp. 5257.
- Grauer, A. L.** 2008. Microscopic and Data Collection in Paleopathology. In *Advances in human palaeopathology*, Pinhasi, R. and Mays, S. eds., pp.57-76. New York: John Wiley & Sons.

- Devault, A. M., Golding, G. B., Waglechner, N., Enk, J. M., Kuch, M., Tien, J. H., Shi, M., Fisman, D. N., Dhody, A. N., Forrest, S. and Bos, K. I., 2014a. Second-pandemic strain of *Vibrio cholerae* from the Philadelphia cholera outbreak of 1849. *New England Journal of Medicine*, 370(4), pp. 334–340.
- Devault, A. M., McLoughlin, K., Jaing, C., Gardner, S., Porter, T. M., Enk, J. M., Thissen, J., Allen, J., Borucki, M., DeWitte, S. N. and Dhody, A. N., 2014b. Ancient pathogen DNA in archaeological samples detected with a Microbial Detection Array. *Scientific reports*, 4(1), pp. 4245.
- Drancourt, M., Aboudharam, G., Signoli, M., Dutour, O. and Raoult, D., 1998. Detection of 400-year-old *Yersinia pestis* DNA in human dental pulp: an approach to the diagnosis of ancient septicemia. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 95(21), pp. 12637–12640.
- Duggan, A. T., Perdomo, M. F., Piombino-Mascali, D., Marciniak, S., Poinar, D., Emery, M. V., Buchmann, J. P., Duchêne, S., Jankauskas, R., Humphreys, M. and Golding, G. B., 2016. 17th century variola virus reveals the recent history of smallpox. *Current Biology*, 26(24), pp. 3407–3412.
- Žegarac, A., Winkelbach, L., Blöcher, J., Diekmann, Y., Krečković Gavrilović, M., Porčić, M., Stojković, B., Milašinović, L., Schreiber, M., Wegmann, D., Veeramah, K. R., Stefanović, S. and Burger, J., 2021. Ancient genomes provide insights into family structure and the heredity of social status in the early Bronze Age of southeastern Europe. *Scientific reports*, 11(1), pp. 1–11.
- Zimble, D. L., Schroeder, J. A., Eddy, J. L. and Lathem, W. W., 2015. Early emergence of *Yersinia pestis* as a severe respiratory pathogen. *Nature communications*, 6(1), pp. 7487.
- Jónsson, H., Ginolhac, A., Schubert, M., Johnson, P. L. and Orlando, L., 2013. mapDamage2. 0: fast approximate Bayesian estimates of ancient DNA damage parameters. *Bioinformatics*, 29(13), pp. 1682–1684.
- Kay, G. L., Sergeant, M. J., Giuffra, V., Bandiera, P., Milanese, M., Bramanti, B., Bianucci, R. and Pallen, M. J., 2014. Recovery of a medieval *Brucella melitensis* genome using shotgun metagenomics. *MBio*, 5(4), pp. e01337–14.
- Lederberg, J. and McCray, A.T., 2001. Ome SweetOmics--A genealogical treasury of words. *The scientist*, 15(7), pp. 8-8.
- Lynnerup, N. 2008. Computed Tomography Scanning and Three-Dimensional Visualization of Mummies and Bog Bodies. In *Advances in human palaeopathology*, Pinhasi, R. and Mays, S. eds., pp. 101–119. New York: John Wiley & Sons.
- Maixner, F., Krause-Kyora, B., Turaev, D., Herbig, A., Hoopmann, M. R., Hallows, J. L., Kusebauch, U., Vgl, E. E., Malfrather, P., Megraud, F. and O’Sullivan, N., 2016. The 5300-year-old *Helicobacter pylori* genome of the Iceman. *Science*, 351(6269), pp. 162–165.
- Martin, M. D., Cappellini, E., Samaniego, J. A., Zepeda, M. L., Campos, P. F., Seguin-Orlando, A., Wales, N., Orlando, L., Ho, S. Y., Dietrich, F. S. and Mieczkowski, P. A., 2013. Reconstructing genome evolution in historic samples of the Irish potato famine pathogen. *Nature communications*, 4(1), pp. 2172.

- Marciniak, S., Prowse, T. L., Herring, D. A., Klunk, J., Kuch, M., Duggan, A. T., Bondioli, L., Holmes, E. C. and Poinar, H. N.,** 2016. Plasmodium falciparum malaria in 1st–2nd century CE southern Italy. *Current Biology*, 26(23), pp. R1220–R1222.
- Matta, G.,** 2020. Science communication as a preventative tool in the COVID19 pandemic. *Humanities and Social Sciences Communications*, 7(1), pp. 1–14.
- Mühlemann, B., Jones, T. C., Damgaard, P. D. B., Allentoft, M. E., Shevnina, I., Logvin, A., Usmanova, E., Panyushkina, I. P., Boldgiv, B., Bazartseren, T. and Tashbaeva, K.,** 2018. Ancient hepatitis B viruses from the Bronze Age to the Medieval period. *Nature*, 557(7705), pp. 418–423.
- Müller, R., Roberts, C. A. and Brown, T. A.,** 2016. Complications in the study of ancient tuberculosis: Presence of environmental bacteria in human archaeological remains. *Journal of Archaeological Science*, 68, pp. 5–11.
- Namouchi, A., Guellil, M., Kersten, O., Hänsch, S., Ottoni, C., Schmid, B. V., Pacciani, E., Quaglia, L., Vermunt, M., Bauer, E. L. and Derrick, M.,** 2018. Integrative approach using Yersinia pestis genomes to revisit the historical landscape of plague during the Medieval Period. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 115(50), pp. E11790–E11797.
- Perry, R. D. and Fetherston, J. D.,** 1997. Yersinia pestis--etiologic agent of plague. *Clinical microbiology reviews*, 10(1), pp. 35–66.
- Pinhasi, R. and Turner, K.** 2008. Epidemiological approaches in palaeopathology. In *Advances in human palaeopathology*, Pinhasi, R. and Mays, S. eds., pp. 45–56. New York: John Wiley & Sons.
- Pinhasi, R., Fernandes, D., Sirak, K., Novak, M., Connell, S., Alpaslan-Roodenberg, S., Gerritsen, F., Moiseyev, V., Gromov, A., Raczky, P. and Anders, A.,** 2015. Optimal ancient DNA yields from the inner ear part of the human petrous bone. *PLoS one*, 10(6), pp. e0129102.
- Raoult, D., Aboudharam, G., Crubézy, E., Larrouy, G., Ludes, B. and Drancourt, M.,** 2000. Molecular identification by “suicide PCR” of Yersinia pestis as the agent of medieval black death. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 97(23), pp. 12800–12803.
- Rasmussen, S., Allentoft, M.E., Nielsen, K., Orlando, L., Sikora, M., Sjögren, K. G., Pedersen, A. G., Schubert, M., Van Dam, A., Kapel, C. M. O. and Nielsen, H. B.,** 2015. Early divergent strains of Yersinia pestis in Eurasia 5,000 years ago. *Cell*, 163(3), pp. 571–582.
- Rascovan, N., Sjögren, K. G., Kristiansen, K., Nielsen, R., Willerslev, E., Desnues, C. and Rasmussen, S.,** 2019. Emergence and spread of basal lineages of Yersinia pestis during the Neolithic decline. *Cell*, 176(1-2), pp. 295–305.
- Satcher, D.,** 1995. Emerging infections: getting ahead of the curve. *Emerging infectious diseases*, 1(1), pp. 1.
- Seifert, L., Wiechmann, I., Harbeck, M., Thomas, A., Grupe, G., Projahn, M., Scholz, H. C. and Riehm, J. M.,** 2016. Genotyping Yersinia pestis in historical plague: evidence for long-term persistence of Y. pestis in Europe from the 14th to the 17th century. *PLoS One*, 11(1), p.e0145194.

- Spyrou, M. A., Tukhbatova, R. I., Feldman, M., Drath, J., Kacki, S., de Heredia, J. B., Arnold, S., Sítidikov, A. G., Castex, D., Wahl, J. and Gazimzyanov, I. R., 2016. Historical *Y. pestis* genomes reveal the European Black Death as the source of ancient and modern plague pandemics. *Cell host & microbe*, 19(6), pp. 874–881.
- Spyrou, M. A., Tukhbatova, R. I., Wang, C. C., Valtueña, A. A., Lankapalli, A. K., Kondrashin, V. V., Tsybin, V. A., Khokhlov, A., Kühnert, D., Herbig, A. and Bos, K. I., 2018. Analysis of 3800-year-old *Yersinia pestis* genomes suggests Bronze Age origin for bubonic plague. *Nature communications*, 9(1), pp. 2234.
- Spyrou, M. A., Bos, K. I., Herbig, A. and Krause, J., 2019. Ancient pathogen genomics as an emerging tool for infectious disease research. *Nature Reviews Genetics*, 20(6), pp. 323–340.
- Spyrou, M. A., Musralina, L., Gnechi Ruscone, G. A., Kocher, A., Borbone, P. G., Khartanovich, V. I., Buzhilova, A., Djansugurova, L., Bos, K. I., Kühnert, D. and Haak, W., 2022. The source of the Black Death in fourteenth-century central Eurasia. *Nature*, 606(7915), pp. 718–724.
- Stenseth, N. C., Samia, N. I., Viljugrein, H., Kausrud, K. L., Begon, M., Davis, S., Leirs, H., Dubyanskiy, V. M., Esper, J., Ageyev, V. S. and Klassovskiy, N. L., 2006. Plague dynamics are driven by climate variation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(35), pp. 13110–13115.
- Sun, Y. C., Jarrett, C. O., Bosio, C. F. and Hinnebusch, B. J., 2014. Retracing the evolutionary path that led to flea-borne transmission of *Yersinia pestis*. *Cell host & microbe*, 15(5), pp. 578–586.
- Scheib, C. L., 2021. Ancient Health Landscape: foundations and perspectives. *Journal of Anthropological Sciences* 99, pp. 1–4.
- Schnorr, S. L., Sankaranarayanan, K., Lewis Jr, C. M. and Warinner, C., 2016. Insights into human evolution from ancient and contemporary microbiome studies. *Current opinion in genetics & development*, 41, pp. 14–26.
- Schuenemann, V. J., Bos, K., DeWitte, S., Schmedes, S., Jamieson, J., Mittnik, A., Forrest, S., Coombes, B. K., Wood, J. W., Earn, D. J. and White, W., 2011. Targeted enrichment of ancient pathogens yielding the pPCP1 plasmid of *Yersinia pestis* from victims of the Black Death. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(38), pp. E746–E752.
- Schuenemann, V. J., Singh, P., Mendum, T. A., Krause-Kyora, B., Jäger, G., Bos, K. I., Herbig, A., Economou, C., Benjak, A., Busso, P. and Nebel, A., 2013. Genome-wide comparison of medieval and modern *Mycobacterium leprae*. *Science*, 341(6142), pp. 179–183.
- Schuenemann, V. J., Avanzi, C., Krause-Kyora, B., Seitz, A., Herbig, A., Inskip, S., Bonazzi, M., Reiter, E., Urban, C., Dangvard Pedersen, D. and Taylor, G. M., 2018a. Ancient genomes reveal a high diversity of *Mycobacterium leprae* in medieval Europe. *PLoS pathogens*, 14(5), pp. e1006997.
- Schuenemann, V. J., Kumar Lankapalli, A., Barquera, R., Nelson, E.A., Iraíz Hernández, D., Acuña Alonzo, V., Bos, K.I., Márquez Morfin, L., Herbig, A. and Krause, J., 2018b. Historic *Treponema pallidum* genomes from Colonial Mexico retrieved from archaeological remains. *PLoS neglected tropical diseases*, 12(6), pp. e0006447.

Taubenberger, J. K., Reid, A. H., Lourens, R. M., Wang, R., Jin, G. and Fanning, T. G., 2005. Characterization of the 1918 influenza virus polymerase genes. *Nature*, 437(7060), pp. 889–893.

Tito, R. Y., Macmil, S., Wiley, G., Najar, F., Cleeland, L., Qu, C., Wang, P., Romagne, F., Leonard, S., Ruiz, A. J. and Reinhard, K., 2008. Phylotyping and functional analysis of two ancient human microbiomes. *PLoS One*, 3(11), p. e3703.

Tito, R. Y., Knights, D., Metcalf, J., Obregon-Tito, A. J., Cleeland, L., Najar, F., Roe, B., Reinhard, K., Sobolik, K., Belknap, S. and Foster, M., 2012. Insights from characterizing extinct human gut microbiomes. *PLoS one*, 7(12), p.e 51146.

Turner-Walker, G. 2008. The chemical and microbial degradation of bones and teeth. In *Advances in human palaeopathology*, Pinhasi, R. and Mays, S. eds., pp.3-29. New York: John Wiley & Sons.

Feldman, M., Harbeck, M., Keller, M., Spyrou, M. A., Rott, A., Trautmann, B., Scholz, H. C., Pfüffgen, B., Peters, J., McCormick, M. and Bos, K., 2016. A high-coverage *Yersinia pestis* genome from a sixth-century Justinianic Plague victim. *Molecular biology and evolution*, 33(11), pp. 2911–2923.

Haensch, S., Bianucci, R., Signoli, M., Rajerison, M., Schultz, M., Kacki, S., Vermunt, M., Weston, D. A., Hurst, D., Achtman, M. and Carniel, E., 2010. Distinct clones of *Yersinia pestis* caused the black death. *PLoS pathogens*, 6(10), pp. e1001134.

Harbeck, M., Seifert, L., Hänsch, S., Wagner, D. M., Birdsell, D., Parise, K.L., Wiechmann, I., Grupe, G., Thomas, A., Keim, P. and Zöller, L., 2013. *Yersinia pestis* DNA from skeletal remains from the 6th century AD reveals insights into Justinianic Plague. *PLoS pathogens*, 9(5), pp. e1003349.

Harkins, K. M. and Stone, A. C., 2015. Ancient pathogen genomics: insights into timing and adaptation. *Journal of Human Evolution*, 79, pp. 137–149.

Harkins, K. M., Buikstra, J. E., Campbell, T., Bos, K. I., Johnson, E. D., Krause, J. and Stone, A. C., 2015. Screening ancient tuberculosis with qPCR: challenges and opportunities. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 370(1660), pp. 20130622.

Hinnebusch, B. J., Rudolph, A. E., Cherepanov, P., Dixon, J.E., Schwan, T. G. and Forsberg, Å., 2002. Role of *Yersinia murine* toxin in survival of *Yersinia pestis* in the midgut of the flea vector. *Science*, 296(5568), pp. 733–735.

Hinnebusch, B. J., Chouikha, I. and Sun, Y. C., 2016. Ecological opportunity, evolution, and the emergence of flea-borne plague. *Infection and immunity*, 84(7), pp. 1932–1940.

Cohen, M. N., and Armelagos, G. J. 1984. *Paleopathology at the origins of agriculture*. New York: Academic Press.

Cui, Y., Yu, C., Yan, Y., Li, D., Li, Y., Jombart, T., Weinert, L. A., Wang, Z., Guo, Z., Xu, L. and Zhang, Y., 2013. Historical variations in mutation rate in an epidemic pathogen, *Yersinia pestis*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(2), pp. 577–582.

- Chain, P. S., Carniel, E., Larimer, F. W., Lamerdin, J., Stoutland, P. O., Regala, W. M., Georgescu, A. M., Vergez, L. M., Land, M. L., Motin, V. L. and Brubaker, R. R.,** 2004. Insights into the evolution of *Yersinia pestis* through whole-genome comparison with *Yersinia pseudotuberculosis*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(38), pp. 13826–13831.
- Wagner, D. M., Klunk, J., Harbeck, M., Devault, A., Waglechner, N., Sahl, J. W., Enk, J., Birdsell, D. N., Kuch, M., Lumibao, C. and Poinar, D.,** 2014. *Yersinia pestis* and the Plague of Justinian 541–543 AD: a genomic analysis. *The Lancet infectious diseases*, 14(4), pp.319-326.
- Warinner, C., Rodrigues, J. F. M., Vyas, R., Trachsel, C., Shved, N., Grossmann, J., Radini, A., Hancock, Y., Tito, R. Y., Fiddyment, S. and Speller, C.,** 2014. Pathogens and host immunity in the ancient human oral cavity. *Nature genetics*, 46(4), pp. 336–344.
- Warinner, C., Herbig, A., Mann, A., Fellows Yates, J. A., Weiß, C.L., Burbano, H. A., Orlando, L. and Krause, J.,** 2017. A robust framework for microbial archaeology. *Annual review of genomics and human genetics*, 18, pp. 321–356.
- Weyrich, L. S., Duchene, S., Soubrier, J., Arriola, L., Llamas, B., Breen, J., Morris, A. G., Alt, K. W., Caramelli, D., Dresely, V. and Farrell, M.,** 2017. Neanderthal behaviour, diet, and disease inferred from ancient DNA in dental calculus. *Nature*, 544(7650), pp. 357–361.

Aleksandra Žegarac

Faculty of Philosophy, Department of Archaeology, University of Belgrade,
Belgrade

Group for Bioarchaeology, BioSense Institute, University of Novi Sad,
Novi Sad

**CONTRIBUTION OF THE PALEOGENETICS FIELD
TO THE STUDY OF PAST EPIDEMICS**

Keywords: *paleomicrobiology, paleogenetics,
ancient DNA, epidemics, pathogens, plague*

Paleomicrobiology, a study of ancient microorganisms – both symbiotic and pathogenic, is a recently emerging field, which provides information about microbial evolution. Not only can it be very useful in gaining information about the health and social status of individuals and populations in the past, but it could also help us to better understand interactions and coevolution between microorganisms and humans. Specifically, observing pathogens' adaptation to different ecological and social factors is beneficial for the comprehension of diseases in order to control present epidemics and to improve the health system.

Pathology and trauma are manifested as lesions or holes on skeletal remains. However, they could only be seen in the chronic state, while acute infections do not leave traces on bones. For this reason, detecting pathogens and infected individuals in the past was not an easy task. With the development of paleogenetics, causative agents are now easily isolated and identified from archaeological specimens. New generation sequencing methods proved to be a powerful tool in the retrieval of whole pathogen genomes and in identifying genome regions which are responsible for pathogen virulence potential and differences in clinical manifestation and severity of an illness. The most effective sampling strategy for recovering pathogens' DNA is to sample directly from skeletal lesions, if possible. Other effective methods include sampling of inner cavities of teeth (such as pulp chamber) or dental calculus, which could be a source of oral pathogens.

The most commonly researched pathogen in paleomicrobiology is *Yersinia pestis*, a bacterium which caused at least three great pandemics of plague. Ancient DNA analyses were successful in detecting bacteria in victims of these pandemics, proving that they were present and active 5,000 years ago, but in a less virulent and mortal form. Molecular methods also provided a comparison of

genomes from different epidemics with modern strains and its ancestor, *Y. pseudotuberculosis*, in order to obtain knowledge about pathogen lineage, as well as genes liable for a rapid spread in population and a higher mortality rate.

This bacterium is very significant for studying pathogens and epidemics because it illustrates perfectly how an environmental and a less virulent form evolved into a very dangerous pathogen with only few changes in the genome. From this example, it became obvious that pathogen's virulence potential, transmission mechanisms and disease manifestation are not only depended on genetics, but also on changes in the climate (for instance, on change in temperature and humidity), host immunity and social factors. Moreover, human role in spreading infectious diseases cannot be disregarded anymore as irresponsible behaviours of humans, such as massive migrations and urbanisation, high population density, as well as forest and natural resource exploitation, cause climate changes and even more pronounced social inequality, which further contribute to the emerging and spreading of new virulent pathogens and pandemics.