



VALIDITY OF HISTOMORPHOMETRIC RIB ASSESSMENT FOR AGE AT DEATH PREDICTION

Jarosław BEDNAREK, Elżbieta BLOCH-BOGUSŁAWSKA, Piotr ENGELGARDT, Ewa WOLSKA,
Karol ŚLIWKA

Department of Forensic Medicine, Collegium Medicum of Nicolaus Copernicus University, Bydgoszcz, Poland

Abstract

The objective of the study was to determine regression equations for age at death prediction on the basis of features of from the cortical bone of the ribs in the Polish population. Rib fragments were taken at autopsy from 39 male and 35 female cadavers. The age range for the male samples was 18–88 years with a the mean age and standard deviation of 49.23 ± 21.47 , and for the female samples, the corresponding value was 50.43 ± 19.21 . Soft tissues were removed by boiling and subsequently the specimens were degreased using acetone. Two cross sections about 5 mm thick were cut from every rib by a sabre saw. The specimens were ground to a final thickness of approximately 100 μ m. The sections were polished and then cleaned by soaking in acetone and alcohol for 24 hours. Microscopic analysis was performed to determine the mean osteon population density. Regression equations for predicting age were generated using osteon density as the independent variable and age as the dependent variable.

Key words

Forensic anthropology; Age estimation; Histomorphometry; Ribs.

Received 29 June 2009; accepted 19 August 2009

1. Introduction

When carrying out individual identification based on features of the skeleton, assessment of chronological age poses the most serious problem. This is due to possible discrepancies between biological (skeletal) and chronological age. For chronological (calendar) age is determined on the basis of skeletal age, which in turn is assessed on the basis of defined morphological features of the skeleton. Since the rate and specific character of the skeletal ontogenetic development process exhibit interindividual variations [13], the skeletal age of the investigated individual is not always necessarily identical with the calendar age. For this reason, we have to bear in mind that assessment of chronological age based on morphological methods may be associated with considerable error [3].

As has been suggested by some authors [1, 7], in the process of personal identification it is necessary to employ a comprehensive assessment procedure that includes the highest possible number of features which change with age. The higher the number of age indices employed, the greater the chance of determining age, which facilitates appropriate identification of an unknown individual. Thus, it is necessary to continuously improve known methods and to search for new techniques of age at death determination. This is why, in addition to numerous methods based on the state of morphological features of the skeleton and dentition and biochemical methods, histomorphometric methods have also been developed, i.e. ones based on quantitative changes in bone tissue features [3].

All methods of this type are based on similar principles [3]. Having prepared appropriate microscopic

preparations of cortical bone, the investigator counts its basic structural elements and determines their density. This procedure predominantly focuses on osteons, lamellas of the bone and non-Haversian canals. Since the density of the above elements is correlated with age, regression equations formulated on the basis of relationships observed in a representative sample of the population are used to assess it (age). A detailed review of histomorphometric methods of age assessment was presented in an earlier publication [3].

The majority of methods concentrate on changes occurring in limb bones [2, 5, 8, 11]. Similarly to other components of the skeleton, these bones may for various reasons be unavailable for examination. In addition, they are subject to various types of mechanical load, which may affect the dynamics of the bone tissue remodelling process and in consequence the reliability of age determination [3]. For this reason, methods have also been developed that are based on changes occurring with advancing age in the ribs [6, 9, 10]. They were developed using material originating chiefly from the American and East-Asian populations. Standards that reflect changes typical for the Polish population have not been developed to date. Inasmuch as each population is characterised by a specific gene pool and exists in a specific environment, we may assume that the model of changes occurring in bone tissue will manifest interpopulation variability. Therefore, it is necessary to determine whether the standards of age assessment based on this method that are accessible in the literature are applicable to the Polish population. If any differences are observed, corrections will necessarily have to be introduced to the previously proposed regression equations. Implementation of this task with respect to changes occurring with age in the cortical bone of the ribs is the objective of the present investigation.

2. Material and methods

Bone material was collected from the left 4th rib in the course of *post-mortem* examinations of 35 females aged 18–88 years ($m = 50.43$; $S = 19.21$) and 39 males aged 17–86 years ($m = 49.23$; $S = 21.47$). The cadavers from which samples were collected did not show any signs of pathological processes that might have affected the process of bone remodelling. The rib fragments were stripped free of soft tissues by boiling and degreased using acetone. In keeping with the suggestion put forward in the literature [10], in order to minimize the likelihood of error, at least two different cross-sections should be examined in each rib. There-

fore, following rinsing and drying, two fragments approximately 0.5 cm in thickness were cut from each rib using a sabre saw. The fragments were ground using a grinder with fine-grain abrasive paper followed by manual processing with a grinding stone until a final thickness of approximately 100 μm was achieved. The sections of the cortical bone obtained in this way were cleaned by immersion in acetone for 24 hours and then rinsed in water. The material was mounted in glycerine on a microscope slide.

Microscopic analysis focused on the osteon density, i.e. the number of osteons per 1 mm² of cortical bone surface area. In keeping with the developed methodology [10], the total number of osteons visible in the entire rib cross section was calculated. This value represented the sum of complete osteons, undamaged by the process of bone remodelling and also fragmented osteons which were partially degraded as a consequence of the process. The surface area of the cortical bone was determined using Imaging Analysis Software Lucia 4.80 (www.lucia.cz). The values of osteon density obtained when examining preparations originating from the same individual were averaged and rounded off to whole numbers. In view of the possibility of differences resulting from the specific character of changes in bone structure occurring in female and male subjects, the results obtained in the two groups were analysed separately.

The statistical analysis was aimed at determining the strength of the correlation between osteon density (independent variable) and age (dependent variable). To achieve this goal, the classic Pearson's correlation coefficient was employed [4]. A linear regression equation for age prediction based on osteon density was formulated using the least squares approach [12]. Statistical calculations were performed employing the Gnumeric spreadsheet (www.gnome.org/gnumeric).

3. Results

Figure 1 presents the distribution of the mean osteon density values for males, while the corresponding values for females are shown in Figure 2. The values of correlation and determination coefficients as well as regression equations for predicting age based on osteon density are presented in Table I.

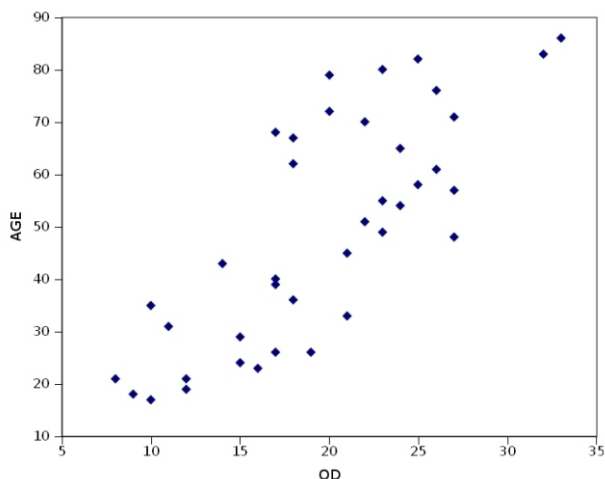


Fig. 1. Osteon density distribution in males (GO – osteon density).

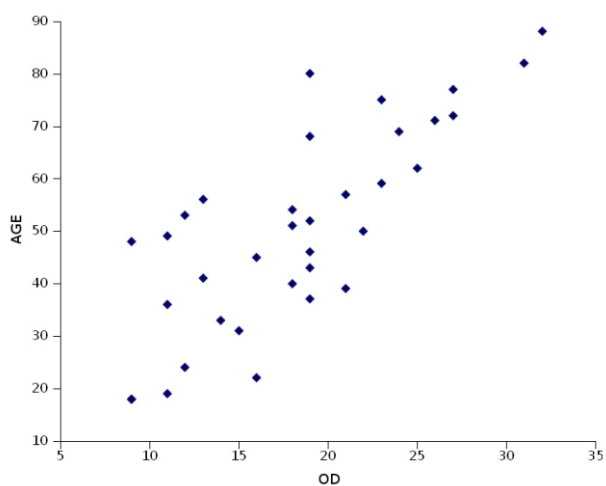


Fig. 2. Osteon density distribution in females (GO – osteon density).

TABLE I. THE RESULTS OF THE STUDY

	Males ($N = 39$)	Females ($N = 35$)
r	0.778	0.789
Regression equation	Age = $2.684 GO - 3.358$	Age = $2.443 GO + 5.687$
r^2	0.578	0.622

r – Pearson’s correlation coefficient between age at death and the mean osteon density of the rib cortical bone; GO – osteon density; r^2 – coefficient of determination.

4. Discussion

Similarly to results obtained by other authors [6, 9, 10], the present results also indicate a clear correlation between chronological age and the number of osteons per unit surface area of the cortical bone of the ribs. The resultant correlation coefficients (r) indicate that the correlation is strong. In turn, the values of determination coefficients (r^2) indicate that the model shows a sufficient degree of goodness of fit with the empirical data. In light of the above results, the correlation between osteon density and age may be regarded as a reliable basis for determining age at death in forensic medical and anthropological practice. The present investigations have also confirmed the hypothesis of the interpopulation variability of the model of relations between rib bone structure and the age of an individual. The observed values of osteon density are characterised by a somewhat different age-dependant distribution as compared to results published in the literature [6, 9, 10].

Thus, a hypothesis may be formulated that the regression equations for age assessment created based on the presented results markedly differ from the equations proposed by the authors quoted above. Unfortunately, this hypothesis cannot be verified, since the present authors employed a simple linear regression equation, while the researchers in the cited publications used the multiple regression method in view of the specific character of the observed correlations or due to a higher number of investigated features.

When we compare the present results with data obtained by other research teams, both similarities and differences in types of correlations may be observed. The linear correlation found in the Polish population in both gender groups was also obtained by Kim et al. [6]. In turn, Stout et al. [9] observed a squared correlation. The observations suggest that using data originating from foreign populations is a risky approach which may lead to errors in age estimation. An obvious consequence of such errors is problems in identification of deceased persons. Thus, performing control studies for each population is indicated, serving as a basis for obtaining regression analysis results that would be appropriate for the biological state of a given population.

Causes of differences may also be sought in the research methodology. The above-mentioned research teams employed different techniques of microscope preparation processing and osteon counting. Also, the microscopes had different optical systems. It does not seem likely, however, that such differences could significantly affect the readings of the number of the analysed structures. The preparation processing technique

is of no significance, providing the employed tools and reagents do not cause changes in the structure of bone tissue. There are no grounds for suspecting that the bone fragments investigated by the above authors were inappropriately cleaned, cut at an angle or else their final thickness was inappropriate.

With respect to methodology, a much more significant effect on differences in results may be exerted by the origin of the examined rib bones. The present authors, as in the case of the team of Korean researchers [6], used material collected from the sternal tips of the left 4th ribs. In turn, Stout and Paine [10] as well as Stout et al. [9] performed their histomorphometric investigations using the 6th ribs. In the former case, these were left ribs, while in the latter; the authors did not provide any information about which side of the body the investigated bones were collected from. It is not certain, however, whether the state of the costal cortical bone demonstrates variations depending on the type of the rib, side of the body or bone fragment from which samples were collected. No publications on this subject have been published to date.

Divergences in results may also be a consequence of the size of the sample, its age structure and selection of the investigated individuals. Stout and Paine [10] collected their study material from 40 individuals, but their group included only 7 females. Therefore, the analysis of results was of necessity carried out without dividing the group according to gender. In addition, the sample showed a preponderance of young individuals (the mean age was 28.6 years and the standard deviation 12.9). A larger population, albeit also statistically younger than the present sample, was investigated by Stout et al. [9]. Also, in this case, regression equations were developed without separating the sample into male and female groups. Division according to gender was taken into consideration by Kim et al. [6]. Nevertheless, any possibility of comparing their results with data obtained for the Polish population is considerably limited since, in addition to osteon density, the investigations of the Korean team also encompassed other bone tissue features and the formulae they developed took the form of multiple regression equations that simultaneously included all correlations.

The present results and analysis of investigations of a similar research profile allow us to draw a series of conclusions on the possibility of employing rib histomorphometry for the purpose of age assessment in the process of identification of humans. Firstly, as far as possible, one should use equations developed for the population to which the identified individual belongs. If no appropriate sources are available, it is advisable

to treat the results with caution, being aware that the (correctness of the) estimated age will have a lower probability. When we decide to adopt a given method of age assessment, it is suggested that material collection and preparation of samples should be carried out strictly in accordance with the methodology described by the authors of the source publication. This allows us to eliminate methodological factors that exert an adverse effect on the reliability of readings of age-correlated features.

The analysis of correlations between the state of costal bone tissue and age also allows us to formulate conclusions of a scientific nature. The small number of publications addressing the subject and the different methodology employed by different research teams does not allow unambiguous conclusions regarding the degree of interpopulation variability. Thus, it is impossible to determine the risk of error when equations developed based on investigations carried out in another population are used in age assessment. A solution to this problem might be to carry out investigations of materials originating from numerous populations with different geographical and cultural backgrounds.

Another problem is the previously mentioned issue of possible variability occurring within the ribs of the same individual. It has not been explained to date whether the process of bone remodelling takes place in the same way in all rib bones. Thus, we are not certain whether the developed models of changes typical for the 4th or 6th rib may be employed when assessing age on the basis of other ribs. In order to elucidate this issue, investigations need to be carried out on a sample composed of individuals in all age categories.

Similarly to other population studies, there is also the problem of sample selection and its size and representativeness. The best solution would be to use a very large group with an even age distribution. However, fulfilling this condition is extremely difficult, since investigated material mostly originates from cadavers at medico-legal autopsies. In the majority of cases, the demographic structure of the group of individuals whose corpses are autopsied does not correspond to the structure of the general population. In the autopsied group, elderly individuals, mostly male, predominate. In many cases, the cause of death or pathologies detected during autopsy rule out the possibility of using a rib fragment for investigations in view of possible intravital metabolic abnormalities that may have modified the process of bone remodelling. Hence, selecting a sample that meets the above criteria is very time-consuming.

5. Summary

It transpires from the above deliberations that histomorphometric rib analysis to assess the age of an individual at death is burdened with numerous limitations. Such limitations are not solely a consequence of the biological nature of the investigated material, but also of the non-uniform methodology of investigations carried out by various authors. The lack of sufficient knowledge on the variability of the process of bone remodelling within the ribs is also significant here. However, solving the above problems, although time-consuming, does not appear to be difficult. All that is called for is that investigations should be performed in accordance with a uniform methodology and using sufficiently numerous and representative material – a study meeting such criteria is currently being carried out by the Faculty of Forensic Medicine, Collegium Medicum, Nicolaus Copernicus University.

It should also be emphasised that the presented difficulties do not disqualify the method – however, caution should be exercised when drawing conclusions from the results of studies. Thus, the presented regression equations for age assessment may constitute a valuable addition to the body of age reconstruction techniques used in the identification of subjects of unknown identity originating from the Polish population.

References

1. Acsádi G., Nemeskéri J., History of human lifespan and mortality, Akadémiai Kiadó, Budapest 1970.
2. Ahlqvist J., Damsten O., Modification of Kerley's method for the microscopic determination of age in human bone, *Journal of Forensic Sciences* 1969, 14, 205–212.
3. Bednarek J., Metody oceny wieku w chwili śmierci w oparciu o histomorfometrię istoty zbitęj tkanki kostnej, *Archiwum medycyny sądowej i kryminologii* 2009, 58, 197–204.
4. Feinstein A. R., Principles of medical statistics, Chapman & Hall/CRC, Boca Raton 2002.
5. Kerley E. R., The microscopic determination of age in human bone, *American Journal of Physical Anthropology* 1965, 23, 149–164.
6. Kim Y. S., Kim D. I., Park D. K. [et al.], Assessment of histomorphological features of the sternal end of the fourth rib for age estimation in Koreans, *Journal of Forensic Sciences* 2007, 52, 1237–1242.
7. Ritz-Timme S., Cattaneo C., Collins M. J. [et al.], Age estimation: the state of the art in relation to the specific demands of forensic practise, *International Journal of Legal Medicine* 2000, 113, 129–136.
8. Singh U., Gunberg D. L., Estimation of age at death in human males from quantitative histology of bone fragments, *American Journal of Physical Anthropology* 1970, 33, 373–382.
9. Stout S. D., Dietze W. H., Işcan M. Y. [et al.], Estimation of age at death using cortical histomorphometry of the sternal end of the fourth rib, *Journal of Forensic Sciences* 1994, 39, 778–784.
10. Stout S. D., Paine R. R., Brief communication: histological age estimation using rib and clavicle, *American Journal of Physical Anthropology* 1992, 87, 111–115.
11. Thompson D. D., The core technique in the determination of age at death in skeletons, *Journal of Forensic Sciences* 1979, 24, 902–915.
12. Vittinghoff E., Shiboski S. C., Glidden D. V. [et al.], Regression methods in biostatistics. Linear, logistic, survival, and repeated measures models, Springer, Berlin 2005.
13. Wolański N., Rozwój biologiczny człowieka, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2006.

Corresponding author

Jarosław Bednarek
Katedra Medycyny Sądowej CM UMK
ul. M. Skłodowskiej-Curie 9
PL 85-094 Bydgoszcz
e-mail: bednarek@cm.umk.pl

PRZYDATNOŚĆ HISTOMORFOMETRYCZNYCH BADAŃ ŻEBER DO OCENY WIEKU W CHWILI ŚMIERCI

1. Wstęp

Spośród wszystkich zagadnień dotyczących identyfikacji osobniczej na podstawie cech szkieletu największy problem stanowi ocena wieku chronologicznego. Spowodowane jest to możliwością wystąpienia niezgodności pomiędzy wiekiem biologicznym (szkieletowym) a wiekiem chronologicznym. Wiek chronologiczny (kalendarzowy) wyznaczany jest bowiem na podstawie wieku szkieletowego, który z kolei ocenia się w oparciu o stan określonych cech morfologicznych kości. Ponieważ tempo i specyfika przebiegu rozwoju ontogenetycznego szkieletu wykazują zmienność międzyosobniczą [13], wiek szkieletowy badanej osoby nie zawsze musi być tożsamy z jej wiekiem kalendarzowym. Dlatego należy liczyć się z faktem, że ocena wieku chronologicznego oparta na metodach morfologicznych może być obarczona znacznym błędem [3].

Jak sugerują niektórzy autorzy [1, 7], w procesie identyfikacji człowieka konieczne jest zastosowanie kompleksowej procedury oceny obejmującej możliwie największą liczbę cech wykazujących zmienność z wiekiem. Im więcej wskaźników wieku jest wykorzystywanych, tym większa szansa na określenie wieku ułatwiającego prawidłową identyfikację nieznaną osobę. Konieczne jest zatem stałe doskonalenie znanych, jak i poszukiwanie nowych metod oceny wieku w chwili śmierci. Dlatego oprócz licznych metod bazujących na stanie cech morfologicznych szkieletu i uzębienia oraz metod biochemicznych opracowano również metody histomorfometryczne, tzn. wykorzystujące zmiany liczebności cech tkanki kostnej [3].

Wszystkie tego typu metody opierają się na podobnych zasadach [3]. Po wykonaniu odpowiednich preparatów mikroskopowych z istoty kostnej zbitej dokonuje się zliczania podstawowych elementów jej budowy i określa się ich gęstość. Pod uwagę brane są przede wszystkim osteony, blaszki kostne oraz kanały kostne niebędące kanałami Haversa (ang. non-Haversian canals). Ponieważ gęstości wymienionych elementów wykazują pozytywną korelację z wiekiem, do jego oceny wykorzystuje się równania regresji wyznaczone na podstawie zależności obserwowanych w reprezentatywnej próbie z populacji. Szczegółowy przegląd histomorfometrycznych metod oceny wieku został dokonany we wcześniejszej publikacji [3].

Większość metod bierze pod uwagę zmiany zachodzące w kościach kończyn [2, 5, 8, 11]. Podobnie jak inne elementy szkieletu, kości te mogą być z różnych powodów niedostępne do badania. Poza tym podlegają one

zróżnicowanym obciążeniom mechanicznym, co może rzutować na dynamikę procesu przebudowy tkanki kostnej i w dalszej konsekwencji na rzetelność oceny wieku [3]. Dlatego opracowano również metody bazujące na zmianach zachodzących z wiekiem w obrębie żeber [6, 9, 10]. Zostały one skonstruowane w oparciu o materiał pochodzący głównie z populacji amerykańskich i wschodnioazjatyckich. Nie opracowano natomiast standardów odzwierciedlających przemiany typowe dla populacji polskiej. Ponieważ każda populacja charakteryzuje się swoistą pulą genową oraz egzystuje w specyficznym dla siebie środowisku, należy przypuszczać, że model przemian zachodzących w tkance kostnej będzie wykazywał zmienność międzypopulacyjną. W związku z tym konieczne jest zbadanie, czy dostępne w piśmiennictwie naukowym standardy oceny wieku oparte na tej metodzie mają zastosowanie w populacji polskiej. W przypadku stwierdzenia odrębności, niezbędne będzie wprowadzenie odpowiednich korekt do zaproponowanych wcześniej równań regresji. Realizacja takiego zadania naukowego w odniesieniu do zmian zachodzących z wiekiem w istocie zbitej tkanki kostnej żeber jest celem niniejszej pracy.

2. Materiał i metody

Materiał kostny został pobrany z czwartego żebra lewego podczas sekcji zwłok od 35 kobiet w wieku 18–88 lat ($m = 50,43$; $S = 19,21$) i 39 mężczyzn w wieku 17–86 lat ($m = 49,23$; $S = 21,47$). Zwłoki osób, od których pobrano próbki do badań, nie wykazywały śladów procesów chorobowych mogących mieć wpływ na proces przebudowy kości. Pobrane fragmenty żeber zostały oczyszczone poprzez gotowanie i odtłuszczenie przy pomocy roztworu acetonu. Zgodnie z sugestią wyrażoną w literaturze [10], aby zmniejszyć prawdopodobieństwo popełnienia błędu, należy w każdym z żeber zbadać co najmniej dwa różne przekroje. W związku z tym po wypłukaniu i wyschnięciu z każdego żebra wycięto za pomocą piły o cienkim brzeszczocie dwa fragmenty o szerokości ok. 0,5 cm. Zostały one poddane szlifowaniu z wykorzystaniem szlifierki z droбноziarnistym papierem ściernym oraz wygładzaniu ręcznemu na kamieniu szlifierskim o grubości ok. 100 μm . Uzyskane w ten sposób skrawki istoty kostnej zbitej oczyszczano poprzez umieszczenie na okres 24 godzin w roztworze acetonu, po czym poddawano płukaniu w wodzie. Oczyszczony materiał umieszczano w preparacie mikroskopowym z dodatkiem gliceryny.

Przedmiotem analizy mikroskopowej była gęstość osteonów, czyli ich liczebność w przeliczeniu na 1 mm^2 powierzchni istoty kostnej zbitej. Zgodnie z opracowaną metodyką [10], obliczano całkowitą liczbę osteonów widoczną na całym przekroju żebra. Wielkość ta jest sumą osteonów kompletnych, nienaruszonych przez proces przebudowy kości oraz osteonów fragmentarycznych, które uległy częściowej degradacji pod wpływem tego procesu. Wielkość pola powierzchni istoty kostnej zbitej określano przy pomocy programu do analizy obrazu Lucia 4.80 (www.lucia.cz). Gęstości osteonów stwierdzone podczas badań preparatów pochodzących od tej samej osoby uśredniano i zaokrąglano do wartości całkowitych. Z uwagi na możliwość wystąpienia różnic wynikających z odmiennej specyfiki zmian struktury kości u kobiet i mężczyzn, wyniki dla obu grup płci przeanalizowano oddzielnie.

Analiza statystyczna została przeprowadzona w kierunku ustalenia siły związku pomiędzy gęstością osteonów (zmienna niezależna) a wiekiem (zmienna zależna). Do tego celu wykorzystano klasyczny współczynnik korelacji Pearsona [4]. Równanie regresji liniowej dla przewidywania wieku na podstawie gęstości osteonów wyznaczono metodą najmniejszych kwadratów [12]. Obliczenia statystyczne wykonano przy pomocy arkusza kalkulacyjnego Gnumeric (www.gnome.org/gnumeric).

3. Wyniki

Rozkład stwierdzonych średnich gęstości osteonów dla grupy mężczyzn prezentuje rycina 1, a rycina 2 dla grupy kobiet. Wartości współczynników korelacji i determinacji oraz równania regresji do przewidywania wieku na podstawie gęstości osteonów przedstawia tabela I.

4. Dyskusja wyników

Podobnie jak wyniki badań innych autorów [6, 9, 10], również rezultaty uzyskane w niniejszej pracy wskazują na istnienie wyraźnej pozytywnej korelacji pomiędzy wiekiem chronologicznym a liczbą osteonów przypadającą na jednostkę powierzchni istoty kostnej zbitej żeber. Otrzymane współczynniki korelacji (r) wskazują, że stwierdzona zależność jest silna. Z kolei wartości współczynników determinacji (r^2) dowodzą, że model jest dostatecznie dobrze dopasowany do danych empirycznych. W świetle tych wyników zależność pomiędzy gęstością osteonów a wiekiem można uznać za rzetelną podstawę do określania wieku w chwili śmierci w praktyce medycyny sądowej i antropologii. Przeprowadzone badania potwierdziły również hipotezę o międzypopulacyjnej zmienności modelu relacji pomiędzy strukturą tkanki kostnej żeber a wiekiem osobnika. Stwierdzone gęstości

osteonów charakteryzują się nieco innym rozkładem w zależności od wieku w porównaniu do opublikowanych w literaturze [6, 9, 10].

Można więc postawić hipotezę, że równania regresji do oceny wieku wyprowadzone na podstawie zaprezentowanych tu wyników znacznie różnią się od formuł zaproponowanych przez cytowanych wyżej autorów. Niestety weryfikacja tej hipotezy nie jest możliwa, ponieważ w niniejszej pracy posłużono się prostym równaniem regresji liniowej, natomiast w cytowanych publikacjach z uwagi na specyfikę stwierdzonych związków lub z powodu większej liczby badanych cech wykorzystano regresję wielokrotną.

Porównując uzyskane wyniki z rezultatami innych zespołów badawczych, można stwierdzić zarówno podobieństwa, jak i różnice dotyczące rodzajów stwierdzonych korelacji. Zależność o charakterze liniowym stwierdzoną w populacji polskiej w obydwu grupach płci otrzymali również Kim i in. [6]. Z kolei Stout i in. [9] zaobserwowali kwadratowy charakter zależności. Powyższe spostrzeżenia sugerują, że posługiwanie się danymi pochodzącymi z innych populacji jest ryzykowne i może prowadzić do błędów w określaniu wieku. Oczywiście ich konsekwencją będą trudności w ustaleniu tożsamości osób zmarłych. Wskazane jest zatem wykonywanie badań kontrolnych dla każdej populacji i wyprowadzanie na podstawie ich wyników równań regresji adekwatnych do stanu biologicznego tej populacji.

Przyczyny różnic można się również dopatrywać w metodyce badań. Cytowane wyżej zespoły badawcze posługiwały się innymi technikami wykonywania preparatów mikroskopowych i zliczania osteonów. Wykorzystano również mikroskopy o innej optyce. Nie wydaje się jednak, aby czynniki te w sposób istotny wpływały na odczyt liczby analizowanych struktur. Technika wykonania preparatu nie ma znaczenia, o ile wykorzystane narzędzia i odczynniki nie powodują zmian w strukturze tkanki kostnej. Nie ma podstaw, by sądzić, że badane przez cytowanych autorów fragmenty kostne zostały nieprawidłowo oczyszczone lub przycięte skośnie i do nieodpowiedniej grubości.

W zakresie metodyki znacznie większy wpływ na różnice wyników może mieć pochodzenie badanego żebra. W niniejszej pracy, podobnie jak w badaniach zespołu koreańskiego [6], wykorzystano materiał pobrany z mostkowych końców czwartych lewych żeber. Z kolei Stout i Paine [10] oraz Stout i in. [9] wykonali badania histomorfometryczne szóstych żeber. W pierwszym przypadku były to żebra lewe, w drugim autorzy nie podali informacji na temat strony ciała, z których pochodziły badane kości. Nie ma jednak pewności, czy stan istoty zbitej tkanki kostnej żeber wykazuje różnice w zależności od rodzaju żebra, strony ciała lub fragmentu kości, z którego pobrano próbki. Dotychczas nie opublikowano żadnych doniesień naukowych na ten temat.

Rozbieżności wyników mogą być również konsekwencją wielkości badanej próby, jej struktury wiekowej i doboru badanych obiektów. Stout i Paine [10] pobrali materiał do badań od 40 osób, w tym tylko od 7 kobiet. Analiza wyników została więc z konieczności przeprowadzona bez podziału na płeć. Dodatkowo w badanej próbie przeważały osoby młode (średnia wieku 28,6 lat z odchyleniem standardowym 12,9). Populację liczniejszą, ale również statystycznie młodszą od analizowanej w niniejszej pracy, badali Stout i in. [9]. Także i w tym przypadku równania regresji wyprowadzono bez podziału na grupę kobiet i mężczyzn. Podział na płci uwzględnili z kolei Kim i in. [6]. Jednak możliwość porównania ich wyników z danymi uzyskanymi dla populacji polskiej jest znacznie ograniczona, ponieważ badania zespołu koreańskiego, oprócz gęstości osteonów, obejmowały również inne cechy tkanki kostnej i wyprowadzone przez nich formuły mają postać regresji wielokrotnej obejmującej wszystkie zależności jednocześnie.

Uzyskane wyniki i analiza prac o podobnym profilu badawczym nasuwają szereg wniosków odnośnie do możliwości wykorzystania histomorfometrii żeber w celu oceny wieku w procesie identyfikacji człowieka. Przede wszystkim w miarę możliwości należy korzystać ze wzorów wyprowadzonych dla populacji, z której pochodzi identyfikowana osoba. W przypadku braku odpowiednich źródeł wskazane jest traktowanie otrzymanych wyników z ostrożnością, mając świadomość, że oszacowany wiek będzie mniej prawdopodobny. Decydując się na wybór określonego sposobu oceny wieku, sugerowane jest pozyskiwanie materiału i wykonywanie preparatów zgodnie z metodyką opisaną przez autorów publikacji źródłowej. Pozwala to wyeliminować czynniki metodyczne niekorzystnie wpływające na rzetelność odczytu cech skorelowanych z wiekiem.

Analiza relacji pomiędzy stanem tkanki kostnej żeber a wiekiem prowadzi również do konkluzji o charakterze naukowym. Niewielka liczba publikacji na ten temat oraz odmienna metodyka zastosowana przez różne zespoły badawcze nie pozwalają jednoznacznie wnioskować o stopniu zmienności międzypopulacyjnej. Nie ma zatem możliwości stwierdzenia, jakie jest ryzyko popełnienia błędu przy wykorzystaniu do oceny wieku wzorów wyprowadzonych na podstawie badań przeprowadzonych w innej populacji. Rozwiązania tego problemu mogłyby dostarczyć badania materiału pochodzącego z wielu populacji odmiennych geograficznie i kulturowo.

Kolejnym problemem jest wspomniana już wcześniej kwestia występowania ewentualnej zmienności w obrębie żeber tego samego osobnika. Nie wyjaśniono dotychczas, czy proces przebudowy kości zachodzi we wszystkich żebrach w sposób jednakowy. Nie ma zatem pewności, czy modele przemian typowe dla czwartego lub szóstego żebra mogą być wykorzystane przy ocenie wieku na podstawie innych żeber. Wyjaśnienie tej kwestii

wymaga przeprowadzenia badań z wykorzystaniem próby złożonej z osobników reprezentujących wszystkie kategorie wiekowe.

Podobnie jak w innych badaniach populacyjnych, pojawia się również problem doboru próby oraz jej liczebności i reprezentatywności. Najlepszym rozwiązaniem byłoby wykorzystanie próby bardzo licznej o równomiernej dystrybucji wieku. Jednak spełnienie tego warunku jest niezwykle trudne, ponieważ badany materiał pozyskiwany jest przede wszystkim ze zwłok podczas sekcji sądowo-lekarskich. Struktura demograficzna osób, których zwłoki poddawane są sekcji, przeważnie nie odpowiada strukturze populacji. Przewagę w tej grupie stanowią osoby starsze, głównie mężczyźni. Przyczyna śmierci lub stwierdzone w toku sekcji zmiany patologiczne w wielu przypadkach wykluczają możliwość wykorzystania fragmentu żebra z uwagi na możliwe przyżyciowe zaburzenia metaboliczne mogące modyfikować proces przebudowy kości. Stąd też dobranie próby spełniającej opisane wyżej kryteria wymaga dłuższego czasu.

5. Podsumowanie

Jak wynika z powyższych rozważań, histomorfometryczna analiza żeber w celu oceny wieku człowieka w chwili jego śmierci jest obciążona szeregiem ograniczeń. Nie jest to wyłącznie konsekwencja biologicznej natury badanego materiału, ale także niejednolitej metodyki badań prowadzonych przez różnych autorów. Nie bez znaczenia jest też brak dostatecznej wiedzy na temat zmienności procesu przebudowy kości w żebrach. Rozwiązanie wymienionych wyżej problemów, choć czasochłonne, nie wydaje się jednak trudne. Wymaga bowiem przeprowadzenia badań według jednolitej metodyki z wykorzystaniem dostatecznie licznych i reprezentatywnego materiału, co jest obecnie czynione w Katedrze Medycyny Sądowej Collegium Medicum Uniwersytetu Mikołaja Kopernika.

Należy też zwrócić uwagę, że opisane trudności nie dyskwalifikują metody, a jedynie sugerują ostrożność przy wyciąganiu wniosków z wyników badań. W związku z tym przedstawione w pracy równania regresji do oceny wieku mogą stanowić cenne uzupełnienie zasobu technik rekonstrukcji wieku dla potrzeb identyfikacji osób o nieznanym tożsamości należących do populacji polskiej.