# UNIWERSYTET MEDYCZNY

# im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Katedra i Zakład Medycyny Sądowej

# PRZYDATNOŚĆ OCENY OBRAZU HISTOLOGICZNEGO I SKŁADU CHEMICZNEGO OBOJCZYKA W BADANIACH IDENTYFIKACYJNYCH SZCZĄTKÓW LUDZKICH.

Julia Sobol

Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych wykonana w ramach studium doktoranckiego

Promotor prof. dr hab. n. med. Roman Wachowiak

Poznań 2011

Panu profesorowi Romanowi Wachowiakowi mojemu promotorowi składam serdeczne podziękowania za cenne wskazówki i pomoc okazaną przy realizacji niniejszej pracy

# Spis treści

1.	Wstęp		1						
2.	Kość jako narząd								
	2.1	Anatomia obojczyka	2						
	2.2	Rozwój kości. Rozwój obojczyka.	2						
	2.3	Histologia tkanki kostnej	3						
	2.3.1	2.3.1 Budowa histologiczna kości							
	2.3.2	6							
	2.3.3	8							
	2.4	2.4 Fizjologia kości							
	2.4.1	9							
	2.4.2	10							
	2.5	Proces identyfikacji szczątków ludzkich.	12						
	2.5.1	Ustalenie przynależności gatunkowej	12						
	2.5.2	13							
	2.5.3	Ustalenie wieku szczątków za pomocą							
		badań mikroosteometrycznych	14						
	2.5.4	Czynniki wpływające na dokładność							
		badań mikroosteometrycznych	20						
	2.6.	Zmiany w strukturze chemicznej kości							
		zachodzące z wiekiem	25						
3.	Cel prac								
4.	Materia	Iateriał							
5.	Metody								
	5.1 Poł	35							
	5.2 Prz	35							
	5.3 Prz	zygotowanie odwapnionych preparatów tkanki kostnej							
	5.4 Bad	lanie mikromorfometryczne							
	5.5 Ana	liza statystyczna							

	5.6 Anali	iza porównawcza szlifów tkanki kostnej o różnym						
	miej	iscu pobrania materiału badawczego4	0					
	5.7 Anali	iza porównawcza szlifów kości człowieka, zwierząt						
	oraz	spalonej kości człowieka	41					
	5.8 Analiza chemiczna składu badanych kości							
6.	Wyniki		.47					
	6.1	Porównanie metod przygotowania preparatów histologicznych						
	1	tkanki kostnej	47					
	6.2	Analiza porównawcza szlifów trzonu obojczyka oraz						
	:	szlifów z pogranicza trzonu i nasad w świetle spolaryzowanym						
	]	przy powiększeniu x50.	.53					
	6.3	Wyniki modeli regresji jednowymiarowej	.63					
	6.3.1	Wyniki istotne statystycznie	63					
	6.3.1a	Predyktor - liczba osteonów	.63					
	6.3.1b	Predyltor - liczba osteonów z kanałem Haversa o średnicy						
		>70µm	.69					
	6.3.1c	Predyktor - stosunek liczby osteonów z kanałem						
		Haversa o średnicy >70µm do ogólnej liczby osteonów	75					
	6.3.1d	Predyktor - średnia średnica kanałów Haversa	81					
	6.3.1e	Predyktor - średnia grubość blaszek kostnych						
		zewnętrznych	87					
	6.3.1f	Predyktor - powierzchnia zajmowana przez						
		blaszki międzysystemowe	93					
	6.3.1g	Predyktor - powierzchnia zajmowana przez osteony						
		w polu widzenia	99					
	6.3.1h	Predyktor - powierzchnia zajmowana przez						
		fragmenty - pozostałości po przebudowanych osteonach1	.05					
	6.3.2.	Wyniki nie istotne statystycznie1	11					
	6.3.2a	Predyktor - długość obojczyka1	11					
	6.3.2b	Predyktor - szerokość obojczyka1	13					
	6.3.2c	Predyktor - grubość obojczyka1	15					

6.4	Wyniki modeli regresji wielowymiarowej	117
6.4.1	Wyniki modeli regresji wielowymiarowej	
	w grupie ogólnej	117
6.4.2	Wyniki modeli regresji wielowymiarowej	
	w grupie mężczyzn	123
6.4.3	Wyniki modeli regresji wielowymiarowej	
	w grupie kobiet	129
6.5	Analiza porównawcza szlifów trzonu obojczyka człowieka	
	ze szlifami, wykonanymi ze spalonych próbek kości,	
	oraz ze szlifami kości udowych krowy i świni	135
6.6	Ocena struktury chemicznej tkanki kostnej	140
6.6.1	Zmiany struktury mineralnej obojczyka zachodzące	
	z wiekiem	141
6.6.2	Różnice gatunkowe struktur kostnych w	
	badaniach spektrofotometrycznych – IR	144
7. Dyskusja	a	145
8. Wnioski		165
9. Streszcze	enie	167
10. Summa	ıry	169
11. Piśmien	nnictwo	171
12. Spis tal	bel, rycin i zdjęć	183
13. Wykaz	skrótów	198

## 1. Wstęp

Kości, jako trwały element struktury anatomicznej organizmu człowieka budziły zainteresowanie naukowców od bardzo dawnych czasów. Już prace Hipokratesa, Arystotelesa, Galena i Awicenny zawierały względnie dokładne opisy budowy i funkcji kości. Lecz tylko Wesaliusz, twórca współczesnej anatomii w 1542r. tworząc dzieło "Budowa ludzkiego ciała", jako pierwszy opisał w nim dokładną budowę szkieletu i śmiało poprawił błędy, spotykane we wcześniejszych pracach Galena. Wesaliusz opisał niektóre cechy kości, które zmieniają się z wiekiem człowieka, wyróżnił osobnicze różnice czaszki, poza tym zaznaczył, że kobiety i mężczyźni mają jednakową ilość żeber. Leuwenhoek, po wykonaniu swojego pierwszego mikroskopu w 1677r. odkrył, że kość zbudowana jest z podjednostek w kształcie kanałów, a powierzchnia kości pokryta siecią naczyń. Od czasu stworzenia mikroskopu wiedza naukowców o budowie tkanek ciała człowieka postępowała bardzo szybko. Już w 1691r. angielski anatom Havers zaznaczył, że naczynia kości przechodzą przez warstwę korową i opisał kanały tej warstwy, które zostały nazwane jego imieniem, oraz jako pierwszy wyróżnił blaszkowaty układ kości korowej. Jednak Havers, a następnie włoski anatom i patomorfolog Morgagni w swoich pracach z początku XVIII wieku, uważali, że kanały w warstwie korowej kości są wypełnione olejem szpikowym. Dopiero Albinos w 1757r. odkrył, że przez kanały przechodzą naczynia krwionośne. Już w XIX wieku bardzo szybko poszerzała się wiedza podstawowa o mikrostrukturze tkanki kostnej oraz składzie substancji międzykomórkowej. Znaczący rozwój techniki i powstanie nowych metod badawczych w XX wieku pozwoliły poznać nie tylko dokładną strukturę komórek kostnych, lecz także ustalić ich funkcję i właściwości biochemiczne. [14, 74]

## 2. Kość jako narząd

Kość jest wysoce wyspecjalizowaną odmianą tkanki łącznej, która pełni funkcje podporowe oraz stanowi magazyn soli mineralnych uczestniczący aktywnie w podtrzymaniu homeostazy mineralnej w organizmie. Przedmiotem zainteresowania prezentowanej pracy jest obojczyk, którego dokładną budowę należy poznać i omówić szczegółowo. W strukturze kości można wyróżnić kilka poziomów organizacji - od jej budowy makroskopowej, poprzez budowę i układ beleczek, osteonów oraz tworzących je blaszek, rozmieszczenie krystalitów minerałów i składników organicznych macierzy, aż do struktury molekularnej tych składników.

#### 2.1. Anatomia obojczyka.

Przedmiotem zainteresowania obecnej pracy jest *obojczyk* (clavicula; clavis, kleis = klucz), który jest kością długą wygiętą w kształcie litery "S". Obojczyk biegnie od górnego końca mostka, w kierunku poprzecznym i nieco ku tyłowi, przed pierwszym żebrem i ponad nim, przylegając swym końcem bocznym do wyrostka barkowego łopatki. W obrębie obojczyka odróżniamy część środkową i dwa końce - przyśrodkowy, skierowany do mostka i boczny, skierowany ku łopatce. Koniec mostkowy jest zgrubiały i kończy się mniej więcej trójkątną i nieco siodełkowato zakrzywioną powierzchnią stawową mostkową pokrytą chrząstką włóknistą, która przylega do wcięcia obojczykowego mostka. Koniec barkowy jest spłaszczony w kierunku od góry do dołu i zakończony bocznie małą owalną i słabo wypukłą powierzchnią stawową pokrytą chrząstką włóknistą. Powierzchnia ta łączy się z powierzchnią stawową wyrostka barkowego łopatki. [17, 92]

#### 2.2. Rozwój kości. Rozwój obojczyka.

Rozwój kości, inaczej określany jako proces kostnienia, zachodzi na podłożu tkanki mezenchymalnej. [63] Wyróżnia się dwa typy rozwoju tkanki kostnej: na podłożu błoniastym oraz na podłożu chrzęstnym.

Tkanka kostna rozwijająca się na podłożu łącznotkankowym przyjmuje budowę błoniastą i dlatego ten typ rozwoju kości określa się jako kostnienie na podłożu błoniastym. Ten typ kostnienia daje początek kościom pokrywowym czaszki i kościom twarzoczaszki oraz części obojczyka. [63] Alternatywnie przyjmuje się też, że rozwój przebiega na podłożu tkanki chrzęstnej szklistej, z której najpierw tworzy się model przyszłej kości, a następnie zachodzi jego kostnienie. Ten typ powstania kości określa się jako kostnienie na podłożu chrzęstnym.

Obojczyk jest kością, która zaczyna swój rozwój najwcześniej w porównaniu do pozostałych kości, a koniec jego rozwoju przypada na 21-25 rok życia. Pierwszy punkt kostnienia obojczyka stwierdza się w centralnej jego części już w 5-6 tygodniu rozwoju płodowego, gdzie kostnienie odbywa się na podłożu błoniastym. Kostnienie końca barkowego obojczyka odbywa się dzięki głównemu jądru kostnienia. Nieco później tworzy się drugie, dodatkowe jądro kostnienia w okolicy końca mostkowego obojczyka. W tej okolicy kostnienie odbywa sie na podłożu chrzęstnym. Całkowite ukończenie procesu kostnienia obojczyka przypada na wiek 21-25 lat, a w niektórych przypadkach, zwłaszcza w części końca mostkowego, w wieku 30 lat. [91]

#### 2.3. Histologia tkanki kostnej

#### 2.3.1. Budowa histologiczna kości

Już makroskopowo na przekrojach kości można stwierdzić, że mają one utkanie gąbczaste w okolicy nasad i części przynasadowych kości długich oraz w okolicy zrębu kości płaskich i krótkich, a istota zbita tworzy trzony kości długich oraz cienką warstwą pokrywa tkankę gąbczastą nasad kości długich oraz innych kości.

Pod względem budowy histologicznej wyróżnia się dwa typy tkanki kostnej: pierwotną, niedojrzałą kość o budowie splotowatej, określaną jako kość grubowłóknista, i wtórną kość drobnowłóknistą o budowie blaszkowatej, która zastępuje w procesie przebudowy kość pierwotną.

Tkanka kostna grubowłóknista tworzy się w procesie powstawania kości, oraz występuje w przebiegu gojenia się złamań. Kość grubowłóknista, zawiera znacznie większą w porównaniu do tkanki drobnowłóknistej, ilość osteocytów które są duże, nieregularnego kształtu, rozmieszczone chaotycznie. Macierz kostna jest w większym stopniu nasycona związkami mineralnymi, lecz ich krystaliczność jest mniejsza niż w tkance kostnej blaszkowatej, a włókna kolagenowe tworzą grube pęczki o nieregularnym przebiegu, co powoduje, że tak wytworzona kość charakteryzuje się małą wytrzymałością mechaniczną. U dorosłych tkanka kostna grubowłóknista występuje w szwach kostnych pokrywy czaszki, w wyrostkach zębodołowych, w błędniku kostnym ucha wewnętrznego i w miejscach przyczepu ścięgien do kości. Powstaje także w przebiegu gojenia się złamań i ubytków kości, gdzie po pewnym czasie jest stopniowo zastępowana przez dojrzałą kość blaszkowatą. [36, 41, 76]

Tkanka kostna drobnowłóknista określana jest jako kość wtórna ze względu na to, że powstaje w miejscu tkanki kostnej grubowłóknistej. W budowie histologicznej przedstawia strukturę blaszkowatą. Blaszki kostne zbudowane są z równolegle układających się włókien kolagenowych, nasyconych solami wapnia. Włókna kolagenowe budujące poszczególne blaszki przebiegają pojedynczo - nie skupiają się w pęczki i dlatego ten typ kości określany jest jako kość drobnowłóknista. Mariotti prowadzac badania porównawcze przy użyciu mikroskopu polaryzacyjnego oraz skanującego i transmisyjnego mikroskopu elektronicznego stwierdził, że kość blaszkowata zbudowana jest z blaszek o gęstym i luźnym upakowaniu włókien kolagenowych. Blaszki te różnią się grubością, kierunkiem przebiegu włókien kolagenowych oraz zawartością wapnia i fosforu. [30, 76]

Tkanka kostna gąbczasta zbudowana jest z blaszek kostnych, które tworzą widoczną makroskopowo sieć rozgałęzionych beleczek, układających się w sieć podobną do "łuków gotyckich" zapewniając wysoką wytrzymałość mechaniczną nasadom i częściom przynasadowym kości długich. Ponad to kość gąbczasta stanowi zrąb kości płaskich i krótkich. Beleczki gąbczastej tkanki kostnej nie mają dokładnej osteonowej struktury, za wyjątkiem odcinków przy ich podstawie w pobliżu do kości zbitej. [84]

Tkanka kostna zbita tworzy trzony kości długich oraz cienką warstwą pokrywa tkankę gąbczastą nasad kości długich oraz innych kości. Zbudowana ona jest z czterech rodzajów blaszek:

 blaszek podstawowych zewnętrznych, które tworzą zewnętrzną warstwę kości zbitej;

- blaszek podstawowych wewnętrznych, które tworzą wewnętrzną warstwę kości zbitej;
- blaszki systemowe tworzące osteon;
- blaszki międzysystemowe, które są pozostałością po przebudowanych osteonach.

Podstawową jednostką tkanki kostnej blaszkowatej są blaszki kostne, które zbudowane są z równolegle ułożonych włókien kolagenowych impregnowanych solami wapnia. Włókna kolagenowe sąsiadujących blaszek rozmieszczone są pod kątem do siebie, co nadaje kości blaszkowatej dużą wytrzymałość. Pomiędzy blaszkami kostnymi w kostnych jamkach rozmieszczone są osteocyty. [23, 33]

Podstawową jednostką morfologiczno-czynnościową zbitej tkanki kostnej jest osteon. Przedstawia się on w postaci walca przebiegającego równolegle do długiej osi kości. W centrum osteonu znajduje się wysłany śródkostną kanał osteonu, o średnicy około 50 µm [93], w którym znajdują się naczynia krwionośne i nerwy otoczone warstwą tkanki łącznej wiotkiej. Naczynia tkwiące w kanale osteonu prezentują typ naczyń włosowatych lub żył o małej średnicy. Kanały osteonów są połączone z powierzchnią kości oraz jamą szpikową przez kanały odżywcze. Do kanałów odżywczych od strony okostnej wnikają naczynia odżywcze [88].

Kanały osteonów otacza 10-15 koncentrycznie ułożonych blaszek kostnych przyjmujących formę cylindrów znajdujących się jeden w drugim. Włókna kolagenowe w blaszkach osteonu mają przebieg równoległy, natomiast w blaszkach sąsiadujących układają się pod różnymi kątami. Cylindryczny układ blaszek, naprzemienny przebieg oraz wyprostny system włókien kolagenowych w poszczególnych blaszkach wchodzących w skład osteonu zwiększają jego wytrzymałość mechaniczną, zapewniając odpowiednią odporność na zginanie i złamanie. Pomiędzy blaszkami tworzącymi osteon znajdują się jamki kostne, w których umieszczone są osteocyty. Od jamek odchodzą kanaliki kostne zawierające wypustki osteocytów i płyn śródtkankowy. Kanaliki kostne odchodzące od poszczególnych jamek łączą ze sobą jamki kostne danego osteonu w jeden system wypełniony komórkami i płynem śródtkankowy. W blaszce ze-

wnętrznej danego osteonu kanaliki tworzą pętle, które nie łączą się z kanalikami sąsiedniego osteonu. Dzięki takiemu systemowi zespół komórek kostnych tkwiących w osteonie tworzy samodzielną jednostkę odżywianą przez naczynia krwionośne znajdujące się wewnątrz kanału osteonu. Z naczyń tych do kanalików i jamek kostnych przesącza się płyn śródtkankowy, zapewniając odżywianie osteocytów w obrębie jednego osteonu. [23, 31]

Powierzchnie kości pokrywa okostna zbudowana z dwóch warstw: leżącej na zewnątrz warstwy włóknistej i przylegającej do kości warstwy rozrodczej, zawierającej komórki osteogenne. Jamy szpikowe, kanały odżywcze i kanały osteonów oraz beleczki kości gąbczastej pokrywa śródkostna. Dzięki działaniu komórek osteogennych wewnętrznej warstwy okostnej, powstają blaszki podstawowe zewnętrzne, a od strony śródkostnej blaszki podstawowe wewnętrzne. [36, 88]

#### 2.3.2. Komórki tkanki kostnej

W tkance kostnej można wyróżnić 5 rodzajów komórek.

Pluripotencjalne komórki osteogenne są obecne zarówno w rozwijającej się, jak i dojrzałej tkance kostnej, a podstawową funkcją tych komórek jest dzielenie się i różnicowanie w dojrzałe komórki kostne. Wyróżniono dwa typy komórek macierzystych dla komórek kostnych o nazwie preosteoblast i preosteoklast. W dojrzałej tkance kostnej znajdują się formy spoczynkowe tych komórek w rozrodczej warstwie okostnej i śródkostnej, a także w zrębie szpiku. [36]

Osteoblasty zajmują miejsce na powierzchni nowo powstającej tkanki kostnej, są komórkami syntezującymi kolagen, białka niekolagenowe oraz inne składniki macierzy tkanki kostnej, ponad to są aktywnie zaangażowane w proces mineralizacji [69]. Osteoblasty, które zakończyły cykl syntezy macierzy organicznej i włókien kolagenowych, stają się osteocytami. Osteoblasty mają wypustki cytoplazmatyczne, którymi łączą się między sobą, a także z osteocytami położonymi w tkance kostnej, co zapewnia transport jonów i innych rozpuszczalnych w wodzie związków drobnocząsteczkowych pomiędzy komórkami. [36, 69] Osteocyty są głównymi komórkami całkowicie ukształtowanej kości. Znajdują się w jamkach kostnych blaszek i poprzez sieć wypustek położonych w kanalikach kostnych tworzą między sobą połączenia komunikujące typu "neksus". Owe wypustki stykają się także z wypustkami osteoblastów położonych na powierzchni kości oraz naczyniami włosowatymi. Umożliwia to przepływ związków małocząsteczkowych i jonów z naczyń krwionośnych do płynu tkankowego oraz z jednej komórki do drugiej. Osteocyty zachowują integralność substancji międzykomórkowej kości, chroniąc ją przed resorpcją przez osteoklasty. [13, 18, 70]

Osteoklasty są dużymi komórkami tkanki kostnej pochodzenia szpikowego, leżącymi na powierzchni resorbowanej kości w zatokach erozyjnych. [52, 118] Aktywne osteoklasty resorbujące kość leżą w jamkach na powierzchni kości. W zwiększonej liczbie występują w miejscach, gdzie zachodzi aktywne modelowanie i przebudowa wewnętrzna tkanki kostnej. [18, 27, 61, 118] Komórki te posiadają rąbek szczoteczkowy, który znacznie zwiększa powierzchnię kontaktu komórki z powierzchnią resorbowanej kości oraz warunkuje prawidłową funkcję resorpcyjną osteoklastów. Po zaprzestaniu resorpcji tkanki kostnej osteoklasty migrują z powierzchni kości do powierzchni przyległych do szpiku, gdzie ulegają degradacji. [13, 62, 105, 107]

Komórki powierzchni kości [13, 36] pokrywają większość powierzchni kości w dojrzałym organizmie. Komórki te służą prawdopodobnie jako jonowa bariera oddzielająca płyn śródtkankowy od substancji przenikających przez osteocyty oraz system kanalikowy i zatokowy podtrzymując mineralną homeostazę kości [71]. Przeznaczenie osteocytów powierzchni kości nie jest jeszcze w pełni wyjaśnione.

#### 2.3.3. Substancja międzykomórkowa kości

Przestrzenie międzykomórkowe tkanki kostnej wypełnione są dużą ilością zmineralizowanej substancji międzykomórkowej, która składa się z substancji organicznej zwanej macierzą, związków mineralnych oraz wody. Zasadniczym składnikiem organicznym obejmującym około 90-92% substancji międzykomórkowej jest kolagen typu I grupujący się w tropokolagen, który jest specyficznie uporządkowany we włókna. [19, 81, 83] Pozostałe 8-10% substancji międzykomórkowej przedstawione białkami są niekolagenowymi, jak osteokalcyna, osteonektyna, osteopontyna i sialoproteina, proteoglikany, fibronektyna, trombospondyna, fosfataza zasadowa, białka morfogenetyczne i inne białka oraz lipidy. [29]

Substancje mineralne stanowią od 65 do 70% wagowych suchej masy odtłuszczonej tkanki kostnej, z których ponad połowę zajmują odmiany hydroksyapatytu  $[Ca_{10}(PO_4)_6(OH^2)_2]$ . Jego kryształy mają bardzo małe wymiary, przyjmują kształt igiełek, płytek, listków i są równomiernie ułożone pomiędzy cząsteczkami tropokolagenu. [19]

**Tab. 1.**Najczęściej spotykane odmiany apatytu hydroksylowego zidentyfikowane w układzie kostnym człowieka.

Fosforan wapnia	Struktura
• apatyt hydroksylowy	$(Ca,w)_{10}(PO_4,x)_6(OH,y),$
• apatyt węglanowy -	$(Ca_{10-x}Na,x) (PO_4,x)_{6-x} (CO_3)x(OH)_2$
• hydroksyflouroapatyt	$Ca_{10}(PO_4)_6(F,OH)_2$
• fluoroapatyt	$Ca_{10} (PO_4)_6 F_2$

Żródło: Ferguson D.B. : Oral Bioscience. : University of Menchester, UK, 1999, p.41, table 2.4.

Legenda:

w – Na, Mg, K, Sr x – CO<sub>3</sub>, HPO<sub>4</sub> y – Cl, F Mineralizacja kości w okresie dojrzewania to postępujący proces krystalizacji hydroksyapatytu na podłożu biologicznym jakim są włókna białkowo - kolagenowe. [80] Proces mineralizacji odbywa się pod kontrolą wyspecjalizowanych komórek, ich organelli, takich jak mitochondria i pęcherzyki macierzy, bądź też substancji produkowanych przez te komórki. Jednak istnieją poglądy, że większy wpływ na proces mineralizacji mają białka niekolagenowe i inne składniki macierzy organicznej tkanki chrzęstnej i kostnej.

Apatyt kostny nie zawsze jest jednorodny strukturalnie. Układ kostny osób przebywających na terenach skażonych metalami ciężkimi wykazuje podwyższoną zawartość tych metali (Pb, Zn, Cd). W kościach osób zamieszkałych w rejonie hut aluminium potwierdzono wysokie stężenie jonów fluorkowych, co jest następstwem przemiany hydroksyapatytu w apatyt fluorkowy pod wpływem fluorowodoru. [28, 43, 83]

#### 2.4. Fizjologia kości

#### 2.4.1. Wzrost kości

Dzięki współistnieniu procesów osteogenezy i osteoresorpcji zachodzi wzrost kości, co powoduje modelowanie kształtu i rozmiarów kości. Proces modelowania przebiega w sposób ciągły przez całe życie we wszystkich strefach kości. [36]

Powstające na podłożu łącznotkankowym kości rosną dzięki obecności komórek osteogennych okostnej oraz w obszarze tkanki błoniastej oddzielającej zawiązki poszczególnych kości. Liczne komórki osteogenne różnicują się w osteoblasty, które syntezują pierwotną tkankę kostną. [7]

Wzrost kości powstających na podłożu chrzęstnym odbywa się głównie dzięki wewnętrznemu wzrostowi chrząstki, która jest systematycznie zastępowana przez pierwotną tkankę kostną. [40, 41]

#### 2.4.2. Modelowanie strukturalne

Wynikiem skoordynowanej działalności komórek kostnych jest modelowanie strukturalne i wewnętrzna przebudowa tkanki kostnej, która składa się z procesu resorpcji na skutek działalności osteoklastów i regeneracji za pomocą osteoblastów. Przewaga jednego z wyżej wymienionych procesów zależy od wielu czynników wewnętrznych i zewnętrznych, działających ogólnie i miejscowo, co wpierw doprowadza do obumarcia konkretnego osteonu, a następnie w miejscu obumarłego powstaje nowy, jako rezultat procesu modelowania i przebudowy wewnętrznej tkanki kostnej. Procesy te z różnym nasileniem trwają przez całe życie człowieka zarówno w kości gąbczastej, jak i zbitej.

Modelowanie strukturalne doprowadza do wzrostu kości na długość i grubość. Zachodzi zasadniczo w okresie wzrostu i rozwoju organizmu. [38]

Modelowanie strukturalne ma na celu przystosowanie struktury kości do przeciwdziałania sile grawitacji oraz pełnienia określonych funkcji mechanicznych, co tłumaczy duży wpływ na modelowanie oddziaływanie sił mechanicznych, jakie występują w czasie aktywności fizycznej. Jednak należy zwrócić uwagą, że sposób przebudowy i jej intensywność są uwarunkowane genetycznie, a duży wpływ na utrzymanie homeostazy tkanki kostnej ma oddziaływanie hormonów oraz witamin.

Kość w dojrzałym organizmie nie jest tą samą tkanką, która występowała w okresie młodzieńczym, a jednak modelowanie występuje również u osób dorosłych, jako odpowiedź tkanki kostnej na działające bodźce, np. zwiększone obciążenia, do których odpowiednio dostosowuje się struktura kości. [1, 64]

Proces modelowania strukturalnego kości odbywa się w kilka etapów, w każdym z których wiodącą rolę przyjmują określone komórki kostne. Wpierw odcinek kości, w którym rozpoczyna się proces modelowania, "zaznacza się osteocytami" za pomocą specyficznych cytokinów - faza aktywacji. Na tym etapie niszczy się protekcyjna warstwa kostnej macierzy, a do tego obszaru migrują preosteoklasty, które następnie się aktywują w osteoklasty. Aktywacja osteoklastów do procesu osteoresorpcji [166] jest uzależniona od: komórek i ich lokalizacji, mineralizacji kolagenu oraz poziomu jonów wapnia, modulacji hormonalnej przez osteoblasty (PTH, cytokiny, prostaglandyny), retrakcji komórek wyścielających powierzchnię kości. Po fazie aktywacji następuje faza resorpcji. W tym czasie osteoklasty resorbując macierz powodują demineralizuje macierzy kostnej oraz powstanie zatok erozyjnych. W wyniku aktywnego działania osteoklastów dochodzi do wypłukania jonów wapnia, degradacji macierzy tkanki kostnej oraz uwolnienia odpowiednich polipeptydowych czynników wzrostu. Za pomocą obecnych w obszarze resorpcji makrofagów, odbywa się destrukcja organicznych elementów tkanki międzykomórkowej oraz przygotowanie powierzchni resorbowanej kości do adhezji osteoblastów - faza rewersji. Do modelowanego obszaru tkanki kostnej migrują pre-osteoblasty, które zasiedlają zatoki erozyjne i rozpoczynają fazę osteogenezy. Aktywne osteoblasty syntezują i mineralizują nową macierz, która podlega procesowi dojrzewania (tworzenie wewnątrz- i międzycząsteczkowych wiązań między włóknami kolagenowymi), a następnie mineralizacji. Dochodzi więc do powstania osteonów, które w wyniku pojawienia się kolejnych jednostek przebudowy zastępują osteony pierwotne i tworzą osteony następnych generacji. [6, 8, 12, 21, 39]





#### 2.5. Proces identyfikacji szczątków ludzkich.

Identyfikacja szczątków ludzkich jest złożonym procesem, który często się wiąże z takimi trudnościami jak brak możliwości pobrania tkanek miękkich do badań genetycznych, obecność jedynie pojedynczych mało informatywnych kości bądź ich fragmentów dla badań antropologicznych. [96, 104] Powyższe zmusza biegłego do wykorzystania każdego możliwego badania i oceny wszystkich cech, które mogą być przydatne w identyfikacji i ustaleniu przynależności gatunkowej szczątków, wieku, płci i wzrostu osoby, do której należały.[56, 68]

Jeśli W danym przypadku możliwe jest przeprowadzenie badań genetycznych, ważne jest ustalenie przynależności gatunkowej oraz cech grupowych jeszcze przed rozpoczęciem tych badań, co spowoduje dużą przypadku badania fragmentów szczątków oszczędność w zwierzat. Przeprowadzenie alternatywnych badań w przypadku badania szczątków ludzkich pozwoli nam zmniejszyć ilość grupy wśród poszukiwanych osób, a tym samym skróci czas niezbędny do wykonania badań, co ma wyjątkowe znaczenie szczatków masywnych katastrof konfliktów podczas badania badź wojennych.[35, 87, 96]

Jednym z podstawowych pytań antropologii sądowej jest ustalenie przynależności gatunkowej szczątków oraz szacunkowe ustalenie wieku człowieka na podstawie szkieletu.

#### 2.5.1. Ustalenie przynależności gatunkowej.

W 1965 roku Gladyshev Y. M. porównał szlify kostne kości ludzkich ze zwierzęcymi. Zostały zbadane szlify kości długich osób obu płci w różnym wieku, od 6 miesięcy do 86 lat, oraz szlify kostne wykonane z kości udowych zwierząt: świnki morskiej, szczura, królika, małpy, owcy, niedźwiedzia. Powyższe badanie wykazało, że tylko dla kości zbitych ludzkich charakterystyczne jest przebudowa większości osteonów wtórnych oraz wielokrotna (co najmniej czterokrotna) przebudowa części z tych osteonów. Takie cechy, jak obecność pierwotnych zatok tuż przy kanale kości długiej, rozmieszczenie osteonów pierwotnych w kształcie sieci, rozmieszczenie pierwotnych i wtórnych osteonów równolegle do powierzchni i prostopadle do długiej osi kości nie są typowe dla człowieka, tylko dla ssaków innych gatunków. [51, 63, 79, 119]

#### 2.5.2. Działanie wysokie temperatury na tkankę kostną.

Thompson w 2005 roku badał wpływ wysokiej temperatury na kości długie owiec. Do badań zostały zabezpieczone 60 kości, które były macerowane w ciepłej wodzie, a po usunięciu miękkich tkanek i po wysuszeniu każda z badanych kości była zmierzona. W badaniu temperatura sięgała 900°C, a czas ekspozycji trwał od 15 do 45 minut. Celem badania było stwierdzenie pochodzenia zachodzących zmian tkanki kostnej pod wpływem temperatury, jakie mikroskopowe zmiany występują w tkance kostnej, oraz wskazanie wpływu rejestrowanych zmian na wyniki badań antropologicznych. W wyniku przeprowadzonych badań stwierdzono, iż pod wpływem temperatury zmienia się kształt oraz zmniejsza się masa i objętość kości, zmniejsza się gęstość tkanki przez powstanie wolnych przestrzeni w tkance kostnej od widocznych makroskopowo szczelin do wolnych mikroobszarów. Zmiany te są głównie spowodowane utratą wody oraz substancji organicznej tkanki kostnej. Badania wykazały, że zmiany w wymiarach kości mogą sięgać 37% od pierwotnych wymiarów, co powoduje duży w błąd w badaniach makroi mikrometrycznych kośćca. [22, 113, 119]

W 1980 roku Gołubowicz L. L. zbadał spalone ludzkie oraz zwierzęce szczątki kostne. Metoda była przygotowana w ten sposób, iż zabezpieczone do badania fragmenty kości były umieszczone w piecu w temperaturze 400°C do czasu, aż kolor całości zabezpieczonych fragmentów był jasno-szary. Część z zabezpieczonych fragmentów pod wpływem wysokiej temperatury były rozkruszone, jednak nie były wyeliminowane z grupy badawczej. Wynikiem powyższego badania było to, iż w badaniu histologicznym można było wykazać cechy gatunkowe charakterystyczne wyłącznie dla człowieka bądź zwierząt bez

względu na rozfragmentowanie niektórych z zabezpieczonych preparatów. Ponad to została określona jeszcze jedna z cech odróżniająca kość zwierzęcą - obecność znacznej ilości kości o utkaniu grubwłóknistym w przestrzeniach pomiędzy osteonami oraz odcinkami kości o utkaniu drobnowłóknistym. Podobne wyniki były uzyskane i przez innych badaczy. [22, 86, 119]

#### 2.5.3. Ustalenie wieku szczątków za pomocą badań mikroosteometrycznych.

Jedną z najbardziej istotnych w identyfikacji cech jest wiek osoby, do której należały szczątki. W utkaniu kostnym pozostają ślady wtórnej przebudowy i modelowania strukturalnego kości, które trwają przez całe życie człowieka, a stopień zaawansowania tego modelowania strukturalnego zależy od ilości cyklów przebudowy osteonów, które zdążyły się odbyć w danym obszarze anatomicznym w czasie życia tej osoby. [53]

W histologii sądowo-medycznej podstawową metodą ilościowej oceny obrazu mikroskopowego jest morfometria. Metoda ustalenia wieku, która polega na obliczeniu ilości elementów obrazu mikroskopowego tkanki kostnej była wprowadzona przez Kerley E.P. w 1965r. [54] Metoda Kerley E.P. polegała na zbadaniu kości udowych, piszczelowych i strzałkowych zabezpieczonych od 126 osób obojga płci w wieku od urodzenia do 95 lat. Preparaty w postaci szlifów kostnych wykonano z przekrojów poprzecznych przez środkową część trzonu. Badania histomorfometryczne przeprowadzono w obrębie czterech okrągłych pól o średnicy równej średnicy pola widzenia mikroskopu (1,62 mm). Badane pola znajdowały się w przeciwległych biegunach osi strzałkowej i osi poprzecznej przekroju kości, stycznie do jego zewnętrznej krawędzi. Zostały obliczone liczby osteonów, liczby fragmentów zresorbowanych osteonów, całkowitych powierzchnie międzysystemowych blaszek kostnych oraz liczby kanałów niehaversowskich. Na podstawie wartości sumy cech z wszystkich pól wyznaczono równania regresji, w których wiek jest zmienną zależną a liczba cech zmienną niezależną. Autor badał liczebność 4 cech w preparatach z trzech typów kości i przedstawił 12 równań regresji. [54, 55]

Badania Pfeiffera i wsp. [85] zwróciły uwagę na to, iż proces przebudowy kości udowej wzdłuż osi mechanicznych wykazuje znacznie mniejszą zmienność regionalną niż wzdłuż osi anatomicznych. Autorzy proponowali zmienić umiejscowienie pól, w których zlicza się osteony w powyższej metodzie, by uniknąć błędnego obliczenia obszarów kości, na którą było wywierane znaczne działanie mechaniczne.

W 1965r rosyjski naukowiec Gladyshev Y.M. wprowadził klasyfikację osteonów wtórnych i systemów osteonowych dla histologicznych metod określenia wieku [74] co było wykorzystywane także przez innych naukowców dla opracowania kryteriów oceny wieku badanych zwłok czy oceny wieku szczątków na podstawie badań struktury kości ramiennej, udowej i piszczelowej. Niedawno przeprowadzone badania w tej dziedzinie wykazały, że oryginalne wykresy zaproponowane przez Kerley E.P. wskazują bardziej dokładne wyniki. przeprowadzeniu [14, 101] Po analizy porównawczej kilku metod morfometrycznych zauważono, że metody Kerley'a oraz jej modyfikacje, a tym bardziej metoda Gladysheva posiadają znaczne wady, a trudności wynikają głównie podczas różnicowania elementów i form osteonów czy innych badanych elementów, co prowadzi do niepewności w obliczeniu oraz zafałszowania wyników badań. [34, 74, 79] Powyższe procedury badawcze wykorzystane do histomorfometrycznej oceny wieku różnych kości znacznie komplikują metodę, nie zwiększając przy tym jej dokładności. W związku z powyższym Ahlqvist i Damsten [3] zaproponowali modyfikację metod poprzedników, zmniejszając ilość badanego materiału do zabezpieczenia jedynie określonego elementu z trzonu kości udowej, a podstawą analizy wieku była ocena tylko jednego parametru - procentowy udział całkowitej powierzchni przebudowywanej w powierzchni czterech badanych powierzchnię łącznej pól. Poprzez przebudowywaną należy w tym wypadku rozumieć sumę powierzchni pełnych osteonów i fragmentów osteonów. Poza tym został zmieniony kształt badanego pola z kulistego na kwadratowe, co ułatwiło analizę struktur zlokalizowanych na jego krawędziach oraz lokalizację badanych pól. Ahlqvist i Damsten zauważyli, iż zaproponowane przez Kerleya umiejscowienie jednego z pól w bezpośrednim sąsiedztwie kresy chropawej może w opinii autorów prowadzić do błędnych wyników z powodu włączenia do analizy zmian nie związanych z wiekiem, powstałych w wyniku reakcji kości na czynniki mechaniczne w miejscu przyczepu mięśniowego. Dlatego też badane przez nich pola zostały przesunięte pod kątem 45 stopni w stosunku do pól badanych przez Kerleya. Na podstawie analizy preparatów mikroskopowych z materiału pobranego od 20 osób autorzy wyprowadzili równanie regresji dla oceny wieku. Jednak metoda ta bez względu na dużą łatwość w jej przeprowadzeniu w porównaniu do poprzednich metod posiadała również pewne wady, a mianowicie większy błąd estymacji w porównaniu do metody Kerleya, co powoduje mniejszą dokładność, związaną między innymi z wykorzystaniem materiału pochodzącego jedynie od 20 osób, z których większość przekroczyła 45 rok życia. [3, 16, 54]

Singh i Gunberg [93] dla swoich badań pobierali materiał z trzonów kości udowych i piszczelowych oraz z ramion żuchwy. Powyższe próbki pochodziły ze zwłok 52 mężczyzn w wieku od 39 do 87 lat. Preparat obejmował jedynie fragment przekroju poprzecznego o szerokości ok. 1 cm, a długość stanowiła odległość pomiędzy zewnętrzną i wewnętrzną krawędzią kości. W 19 przypadkach z kości ramion żuchwy zostały wykonane szlify kostne, w 40 przypadkach dokonano odwapnienia kości przy pomocy mieszaniny roztworów formaliny i kwasu mrówkowego. Badania morfometryczne obejmowały określenie całkowitej liczby osteonów w badanych polach, średnią liczbę blaszek kostnych przypadających na osteon oraz średnią najmniejszą średnicę kanału Haversa w obrębie dwóch losowo wybranych pól widzenia mikroskopu, o średnicy 2mm. Badania wykazały występowanie silnych korelacji badanych cech z wiekiem zwłaszcza w przypadku całkowitej liczby osteonów oraz średniej liczby blaszek przypadających na jeden osteon, jednak w przypadku średnicy kanału Haversa nie stwierdzono zależności zachodzących z wiekiem. Wyprowadzone do obliczeń równania regresji wielokrotnej z uwzględnieniem kombinacji wyżej wymienionych cech jako zmiennych niezależnych sprawiły, że wartości standardowego błędu estymacji były mniejsze w porównaniu z metodą Kerleya, co wskazuje na możliwość dokładniejszej oceny wieku. Poważna wada tej metody były ograniczenia dotyczące wykorzystania materiału pochodzącego jedynie od mężczyzn w wieku starszym niż 39 lat, co może spowodować uzyskanie fałszywych wyników przy zastosowaniu tej metody w przypadku oceny wieku kobiet, bądź osób obojga płci w wieku poniżej 40 lat.

Wykorzystując materiał pochodzący od 13 osób w wieku powyżej 12 lat Stout i Gehlert [101] dokonali pewnej modyfikacji wyżej opisanej metody. Badacze zaproponowali wykorzystać preparaty o grubości około 10 µm, wykonane z kości odwapnionej, co powoduje dziesięciokrotnie mniejszą grubość preparatu w porównaniu do poprzedników. Uzyskane wyniki badań wykazały pewne błędy w ocenie wieku w zakresie od 12 do 49 lat, a sami autorzy tłumaczą zaobserwowane rozbieżności występującymi różnicami metodycznymi.

Thompson [111] w swojej metodzie wziął pod uwagę ograniczone możliwości w niektórych przypadkach pobrań do badań histologicznych wystarczająco dużych wycinków tkanki kostnej. Autor opracował metodę z wykorzystaniem próbek o średnicy około 4mm zabezpieczanych z przedniej powierzchni środkowej części trzonów kości udowych, z przyśrodkowych powierzchni środkowej części trzonów kości piszczelowych i ramiennych oraz z bocznej powierzchni dystalnego końca kości łokciowej. Autor analizował kompleksowo: grubość, masę i gęstość istoty zbitej, gęstość kości, wskaźnik mineralizacji kości, odsetek powierzchni zajmowanej przez blaszki kostne osteonów, odsetek powierzchni zajmowanej przez kanały Haversa, łączny procentowy udział osteonów i kanałów Haversa w polu widzenia mikroskopu, liczbę osteonów wtórnych, liczbę kanałów Haversa, stosunek powierzchni osteonów do ich liczby, stosunek powierzchni kanałów Haversa do ich liczby, łączną średnicę osteonów, łączną średnicę kanałów Haversa. Jednak ze względu na to, iż do badania zabezpiecza się tylko jeden bardzo mały obszar, mogą powstać znaczne błędy w trakcie pobrania materiału oraz podczas przygotowania preparatów histologicznych, co prowadzi do uzyskania fałszywych wyników, jak zaznaczył Stout analizując tę metodę [102].

Nainis także był zainteresowany określeniem wieku szczątków na podstawie badania histologicznego oraz mikrorentgenologicznego szlifów kostnych oraz badał preparaty kości odwapnionych. Zostały zbadane powyżej 800 mikro zdjęć rentgenowskich oraz około 4000 preparatów histologicznych. W wyniku tych badań największą uwagę naukowca zwróciły na siebie takie cechy histologiczne, jak rozwój oraz grubość blaszek podstawowych zewnętrznej oraz wewnętrznej, wielkość i rodzaj osteonów oraz kanałów Haversa, wielkość zatok resorpcyjnych. [74]

Antropolodzy sądowi często pracują ze szczątkami, w których brakuje dość znaczna część kości. Powoduje to brak możliwości wykorzystania pewnych metod dla określenia wieku. Biorąc to pod uwagę Stout i Paine [103] zaproponowali wykorzystanie żeber i obojczyka. Materiał był pobrany podczas sekcji 40 osób obojga płci w wieku 13-62 lata i stanowił trzecie i czwarte lewe żebra oraz lewy obojczyk. Preparaty zostały wykonane z przekrojów poprzecznych środkowej części trzonu każdego żebra i obojczyka. Analizowano wielkość powierzchni istoty zbitej, gęstość całkowitych osteonów, gęstość fragmentów osteonów oraz całkowitą widoczną gęstość osteonów. W wyniku badania uzyskano dużą korelację pomiędzy zmianą wieku a charakterystyką wyżej wymienionych cech i parametrów pomiarowych. Wiek oszacowany na podstawie wyprowadzonych równań regresji nie różnił się istotnie od rzeczywistego wieku badanych osób.

Zviagin zauważył, iż w wielu przypadkach ocena wieku nie jest możliwa z powodu wykorzystania metod ograniczonych do określonego typu materiału, zwłaszcza gdy niezbędne do badania kości nie zachowały się, gdy są dotknięte zmianami patologicznymi lub gdy są w znacznym stopniu uszkodzone. [119] Ponadto w piśmiennictwie naukowym zwraca się uwagę na istotny wpływ czynników mechanicznych na mikrostrukturę kości kończyn dolnych, co z kolei wpływa na dokładność oceny wieku. [26, 103] W celu zwiększenia ilości możliwych metod oceny wieku szczątków w 1988 roku autor ten opracował metodę określenia wieku na podstawie badania histologicznego kości czaszki. Grupę badawczą stanowiły osoby obojga płci w wieku od 1 do 85 lat. Autor zabezpieczał wycinki sklepienia czaszki, a mianowicie lewej części kości czołowej, o grubości do 5mm, z okolicy środkowej części szwu strzałkowego, ze

szczytu guza czołowego oraz szczytu zatoki czołowej. Z zabezpieczonych wycinków były wykonane szlify o grubości nie więcej niż 100µm. Wykonano grubości kości czołowej, grubości blaszki zewnętrznej oraz pomiary wewnętrznej. Obliczeniu ilościowemu poddano jedynie osteony wtórne według ich klasyfikacji zaproponowanej przez Gladysheva. Oprócz tego w metodzie tej opracowano badanie stopnia mineralizacji, na podstawie badania mikro zdjęć rentgenowskich. W oparciu o wyniki badań wyprowadzono równania regresji wielokrotnej dla oznaczenia wieku dla każdej z badanych cech, jako zmiennych niezależnych. Powyższa metoda pozwala na ustalenie wieku z dokładnością  $\pm 1/6-1/8$  od średniej wartości wieku stwierdzonego według metody. Należy jednak zwrócić uwagę na pewne trudności techniczne w wykonaniu tej metody, oraz możliwość popełnienia błędu na etapie odpowiedniego zakwalifikowania cech histologicznych. Ponad to w metodzie tej z cech histologicznych były wzięte pod uwagę jedynie modyfikacje osteonów wtórnych, a inne elementy, jak powierzchnia blaszek kostnych międzysystemowych były pozostawione bez odpowiedniego wykorzystania. [10, 75, 78]

W 1995 roku Simon zaproponował wykorzystanie histologicznej metody określenia wieku na podstawie badania preparatów kości potylicznej. Materiał został zabezpieczony ze zwłok 17 mężczyzn w wieku od 20 do 70 lat. Do badań były pobierane próbki kości potylicznej jej lewej części w pobliżu punktu *lambda* (trójniak), z których następnie wykonano preparaty histologiczne kości nieodwapnionej o grubości do 80µm. W metodzie zostały uwzględnione takie cechy jak osteony pierwotne, osteony wtórne, procentowy udział powierzchni zajętej przez fragmenty osteonów wtórnych oraz powierzchni zajętej blaszkami międzysystemowymi. Został obliczony współczynnik dla każdej z cech Va=Pa/Pt, gdzie Va - indeks określonej cechy, Pa - ilość analizowanych punktów danej cechy, Pt - ogólna liczba analizowanych punktów. W każdym z badanych preparatów zostały przeanalizowane trzy pola widzenia na każdej (zewnętrznej i wewnętrznej) blaszce kostnej. Wyprowadzono równanie linijnej regresji dla parametrów pomiarowych z wykorzystaniem blaszki kostnej zewnętrznej i wewnętrznej z osobna. Równocześnie wykazano, iż liczba osteonów

pierwotnych z czasem maleje, przy czym w próbkach zabezpieczonych od osób po 40 roku życia pierwotnych osteonów nie obserwowano. W obu blaszkach kostnych zarówno w strukturze wewnętrznej jak i zewnętrznej nie stwierdzono znacznych statystycznie zmian zachodzących z wiekiem w ilości osteonów wtórnych oraz fragmentów osteonów wtórnych. Niepowodzenie i niedoskonałość powyższej metody można wytłumaczyć bardzo małą liczebnością badanej grupy. [72, 78]

#### 2.5.4. Czynniki wpływające na dokładność badań mikroosteometrycznych

Prowadzone są próby poszukiwania bardziej dokładnych metod dla ustalenia wieku szczątków na podstawie prostszej klasyfikacji mikroskopowych elementów tkanki kostnej. Trzeba bowiem wziąć pod uwagę zawsze szereg czynników, które mają wpływ na precyzję oceny wieku. [73, 77, 101]

Badania wykazały, iż na dokładność wyników ma wpływ zarówno rodzaj, jak i ilość wybranych elementów. Ocena wielu procedur wskazuje, że niewystarczająco dokładne wyniki były uzyskane najczęściej podczas badania mikroosteometrycznego trzonów kości długich pod kątem ustalenia wieku. [66, 67, 110] Błędem było przyjęcie niewystarczających ilości badanych elementów, jak np. w metodzie Kerleya dotyczyła wykorzystania tylko czterech elementów liczba całkowitych osteonów, liczby fragmentów zresorbowanych osteonów, obwodowych powierzchnia blaszek kostnych oraz liczby kanałów niehaversowskich, podobnie jak w badaniach Simona, który poddał analizie jedynie trzy elementy mikroobrazu kości.

Aktualnie, dla uzyskania pewnych i wiarygodnych wyników kompleksowych badań pod kątem wieku szczątków ludzkich, niezbędne jest wykorzystanie najbardziej nowoczesnych metod obliczeń statystycznych z możliwością użycia nowoczesnych programów komputerowych. [2, 42, 112] Wybranie odpowiednich elementów i parametrów pomiarowych, przydatnych dla ustalenia wieku szczątków w znacznej mierze zależy od technicznych możliwości ich ustalenia oraz wyboru metody obliczeń korelacyjno-statystycznych. [75] Jedną z podstawowych możliwości morfometrii jest nie tylko obliczenie ilościowe wybranych elementów, a także zmierzenie ich ilości i ich wykorzystanie z zastosowaniem programów komputerowych dla analizy obrazu mikroskopowego. [9, 75, 88] Przed komputeryzacją, dla przeprowadzenia takich ocen, były wykorzystywane siatki kalibracyjne, jednak uzyskane wyniki obliczeń nie zapewniały niezbędnej dokładności, bowiem możliwe były w tym przypadku obliczenia jedynie niewielu elementów. [11] Biorąc pod uwagę powyższe, należy zwrócić uwagę, że przy wykorzystaniu analizy ilościowej wybranych parametrów o wiele łatwiej jest opracować je statystycznie i przedstawić jako wynik końcowy przeprowadzonych badań. [2, 88, 112]

Obecnie uważa sie. że najbardziej zbadane pod względem mikroosteometrycznym jest tkanka zbita trzonów długich kości [82, 112], co oczywiście jest związane z najdłuższym czasem zachowania tej części kości w warunkach biologicznej degradacji. Ponad to należy jednak zawsze pamiętać o możliwości wystąpienia materiału znacznie wyróżniającego się z grupy średniej należącej do tego samego wieku, co dotyczy według Königsberga L.W. [59] tkanki kostnej zabezpieczonej od osoby z patologia kości badź złym stanem zdrowia [59, 60, 65, 75, 108]. Uwzględniając występowanie zmian struktury tkanki kostnej pod wpływem chorób i zaburzeń metabolicznych, podczas opracowania metody ustalenia wieku, do badań należy wykorzystać wyłącznie te kości, na których nie stwierdzono żadnych zmian patologicznych. W praktyce jednak niejednokrotnie ma się do czynienia ze szczątkami osób, które mogły doświadczyć opisanych zaburzeń, a badaczom nie jest to wiadome. Istnieje szereg ogólnoustrojowych, a także lokalnych czynników chorobowych, oddziaływających na przebieg procesu przebudowy kości. Zmiany te mogą w znacznym stopniu zmienić korelację pomiędzy wiekiem a liczbą składników tkanki kostnej. Wpływ tych czynników na stan tkanki kostnej jest widoczny dopiero po ich długotrwałym działaniu, nawet wtedy, jeśli jest ono bardzo intensywne. Zgodnie z dokonywanymi obserwacjami Stout [97, 100] wskazuje na metaboliczne zaburzenia związane z przemianą wapnia, osteoporozą, chorobą Pegeta, a nawet cukrzycą, w których notowano mniejszą liczbę osteonów w stosunku do typowej w danym wieku. [97]

Podczas opracowania metodyki badawczej ważnym jest uwzględnienie obszaru, z którego jest pobierana próbka kości zbitej, co związane jest z różną dynamiką zmian zachodzących z wiekiem w różnych kościach, oraz w różnych częściach tej samej kości. [79, 82] Zwrócono uwagę, że mikroobraz tkanki kostnej, który w znacznym stopniu zależy od mechanicznego działania na konkretny obszar kości, co tłumaczy asymetrię obrazu mikroskopowego prawych i lewych kości pochodzących z tego samego ciała, [85] oraz odchylenia od typowego modelu przebudowy tkanki kostnej w przypadki paraliżu lub niedowładu kończyn. Badania Stouta [98] wykazały, że kości kończyn pozbawionych aktywności w wyniku paraliżu charakteryzują się mniejszą całkowitą liczbą osteonów. Spostrzeżenie to potwierdzają wyniki badań wpływu obciążeń mechanicznych lub ich braku na tempo procesu przebudowy kości [26, 85].

Według Chan i wsp. [26], którzy badali kości udowe, istotne różnice tempa procesu przebudowy, stwierdzone w różnych miejscach tych samych kości, są konsekwencją odmiennych obciążeń mechanicznych; a zatem stan istoty kości zbitej jest odzwierciedleniem jej reakcji na długotrwałe naciski i naprężenia. Jeżeli dana kość lub jej część nie doświadcza takich obciążeń, wówczas całkowita liczba osteonów jest mniejsza w porównaniu do części stawiających większy opór czynnikom mechanicznym. [4, 46, 47]

Powyższe pozwala stwierdzić, iż wyniki badań mikroosteometrycznych w znacznym stopniu zależą od miejsca pobrania materiału.

Lokalna osobnicza zmienność liczby osteonów, widoczna zarówno w aspekcie całego szkieletu jak i w obrębie pojedynczych kości, stanowi kolejny problem związany z rzetelnością oceny wieku na podstawie cech tkanki kostnej. Badania histologiczne [85, 108] wykazały, że gęstość mikrostruktur tkanki kostnej jest zróżnicowana nie tylko pomiędzy różnymi częściami tej samej kości, ale również pomiędzy różnymi polami w obrębie jednego przekroju poprzecznego. W związku z tym opracowując metodykę badań należy również zwrócić uwagę na optymalny rozmiar próbki kostnej poddawanej analizie pod mikroskopem, bądź minimalny rozmiar próbki, jednak niezbędny dla uzyskania wystarczająco dokładnych wyników badań. [50, 86] Po przeanalizowaniu obszernego piśmiennictwa stwierdzono, że zakres wielkości waha się w dość dużych granicach od 1,5mm do 50mm. [95, 109] Optymalny układ badawczy powinien uwzględnić ten fakt, iż zbadanie niewielkiej powierzchni kości może być niemiarodajne, a z drugiej strony badanie dość dużej powierzchni kości jest bardzo czasochłonne. W dostępnym piśmiennictwie są spotykane poglądy, iż wymiary analizowanej powierzchni mają wpływ na dokładność wyników z powodu różnicy przestrzennej orientacji i rozmieszczenia analizowanych elementów histologicznych. Na przykład dla badania warstwy zbitej kości udowej według jednych danych ten wymiar nie może być mniejszy niż 2.06 mm [95], a według innych około 4mm. [72] Ważnym jest jednak to, że rozmiar analizowanego fragmentu niewątpliwie powinien zależeć od jego lokalizacji.

Istotne znaczenie w kompleksowej interpretacji wyników badania ma także kwestia właściwego wykonania preparatów mikroskopowych. W celu zminimalizowania uszkodzeń badanego materiału oraz utraty części istotnych cech, rekomendowane jest wykorzystanie kości nieodwapnionych.

Dyskusyjnym pozostaje pytanie o wpływie rasy, zmienności międzypopulacyjnej, różnic płciowych na badany materiał, oraz możliwości ich interpretacji na parametry pomiarowe, skutkujące zmniejszoną dokładnością uzyskiwanych wyników. [114]

Zdecydowana większość badaczy uważa, iż różnice mikroobrazu tkanki kostnej spowodowane przynależnością osób do innych grup rasowych są nieznaczne i mogą być wytłumaczone różnicami w diecie oraz trybie życia osobników. [89, 90] Jednak inni uważają, że występujące pomiędzy populacjami różnice genetyczne oraz dotyczące środowiska i trybu życia, mają odzwierciedlenie w modelu przebudowy istoty kostnej zbitej. [97] W związku z tym proponowane równania regresji dla oznaczania wieku, wyprowadzone na podstawie badań określonej populacji, mogą być nieadekwatne do stanu biologicznego innej populacji, z której pochodzi identyfikowana osoba.

Należy zwrócić uwagę, że zdania naukowców są podzielone, co do niezbędności uwzględnienia płci osoby, do której należały badane szczątki,

i stworzenia równań regresji dla oceny wieku dla każdej płci wydaje się również uzasadnione. Propozycje i poglądy w tym zakresie zależą od badanych cech osobniczych oraz anatomicznej lokalizacji badanych fragmentów. [37, 57] Związane to jest z tym, że proces przebudowy kości u kobiet i mężczyzn ma nieco odmienny charakter [86, 97] zwłaszcza w starszym wieku, co niektórzy tłumaczą wpływem zmian hormonalnych u kobiet w okresie pomenopauzalnym. Z drugiej jednak strony opublikowano szereg doniesień naukowych, których autorzy twierdzą iż nie stwierdzili wyraźnych różnic związanych z płcią lub wyrażają pogląd, że różnice te są statystycznie nieistotne i nie mają wpływu na ocenę wieku. [32, 54, 93, 103]

Biorąc pod uwagę powyższe, podczas opracowania metody ustalenia wieku na podstawie obrazu histologicznego kości należy pamiętać, że jest określona granica dokładności badania, dla osiągnięcia którego niezbędnym jest przede wszystkim określenie optymalnego zestawu cech badawczych dla układu badania morfometrycznego, a struktury histologiczne powinny być dokładnie określone oraz proste do stwierdzenia przez specjalistę histologa.

#### 2.6. Zmiany składu chemicznego kości zachodzące z wiekiem

Liczne badania procesu "starzenia się kości" wskazują, że z wiekiem obserwowane jest zjawisko demineralizacji, które prowadzi do niszczenia struktury kości tj. zmiany proporcji pomiędzy związkami organicznymi a nieorganicznym apatytem kostnym. W procesie tym ubywa komórek kostnych i innych elementów organicznych, a przybywa minerałów - apatytu. [5, 24] Komórki (osteoblasty, osteoklasty, osteocyty) funkcionujace W tak maja znacznie bardziej zmineralizowanej kości utrudnione warunki funkcjonowania, w tym głównie kontakty z utrzymującym je przy życiu systemem krwionośnym. To utrudnione funkcjonowanie komórek kostnych jest związane z wydłużeniem średniej drogi transportu między wspomnianymi komórkami a układem krwionośnym. Utrudnienie to wynika stąd, że kość budując się w okresie dojrzewania organizmu doprowadza do takiego zjawiska, że komórki kostne tkwią sztywno w dojrzałej kości w masie kolagenowo apatytowej. Mineralizacja i dorastanie kości powoduje proces, który można nazwać "samozamurowywaniem" się komórek. Oczywiście mają one kontakt z układem krwionośnym, jest on jednak dużo trudniejszy niż w przypadku kości młodych. [19, 23, 31]

Wspomniane zjawisko powoduje trudniejsze docieranie z naczyń krwionośnych do komórek kostnych substancji odżywczych, m.in. mikroelementów i związków z grupy mukopolisacharydów. Wpływa to na gorsze odżywianie komórek kostnych. Z drugiej strony znacznie gorsze jest odprowadzenie produktów przemian i aktywności życiowej komórek. Produkty te to głównie  $CO_2$  i  $H_2O$  powstające z utleniania wielocukrów, jako substancje odpadowe muszą zostać odprowadzone do krwi żylnej. [49, 58, 117]

Oba zjawiska tzn. doprowadzenie do komórek kostnych substancji odżywczych i odprowadzenie produktów przemian metabolicznych odbywają się mikrokanalikami kostnymi na zasadzie gradientu stężeń. Oznacza to, że stężenie wielocukrów jest największe w pobliżu transportującej krew tętniczki i zmniejsza się w kierunku komórek kostnych. Produkty powstałe po spaleniu wielocukrów, a więc  $CO_2$  i  $H_2O$  mają z kolei największe stężenie w najbliższym otoczeniu komórek kostnych. Ich koncentracja zmniejsza się w stronę naczyń żylnych. To właśnie gradient stężeń odpowiada za przepływ wspomnianych substancji do i z komórek kostnych.

Warunki fizyko chemiczne W rejonie niemal całkowicie "samozamurowanych" komórek kostnych są szczególne. W związku z trudnościami w odprowadzeniu z tego rejonu CO<sub>2</sub> i H<sub>2</sub>O tworzy się podwyższona ilość zdysocjowanego kwasu węglowego sprzyjająca tworzeniu się węglowego o podwyższonej rozpuszczalności w porównaniu apatytu z hydroksyapatytem. To zjawisko powoduje lokalne zakwaszenie środowiska i spadek wartości pH płynów pozakomórkowych najprawdopodobniej poniżej pH=6.6. Przy takim spadku pH, które dla krwi tętniczej wynosi około 7.2 wykrystalizowany na włóknach kolagenowych apatyt jest niestabilny i zaczyna się rozpuszczać. Powoduje to niszczenie wiązań kolagen-apatyt. Skutkiem tego zjawiska jest nie tylko niszczenie apatytu, lecz także niszczenie włókiem kolagenowych, a więc cienienie, a następnie zanik beleczek kostnych. Opisane zjawisko jest groźne dla kości nie tylko poprzez osłabienie jej struktury wewnętrznej. W trwającym wiele lat procesie demineralizacji starzejącej się kości wyprowadzane są z niej poważne ilości wapnia i fosforu, które mogą w skrajnych przypadkach dochodzić nawet do jego ubytku w zakresie 1 kg w przeliczeniu na czyste pierwiastki. [58, 81, 115]

W 2004 roku Nakoskin po zbadaniu próbek kostnych zabezpieczonych z kości udowej zwłok 50 osób obojga płci w wieku od 17 do 84 roku stwierdził, iż zawartość kolagenu u mężczyzn i kobiet od wieku 22 lat stopniowo spada, jednak ten proces u kobiet postępuje nieco szybciej i w wieku 55 lat odnotowano u nich ponowny wzrost zawartości kolagenu, u mężczyzn wzrost poziomu kolagenu obserwuje się od 74 roku życia. Inni naukowcy twierdzą, iż pomiędzy zawartością kolagenu, a wiekiem nie ma istotnej statystycznie korelacji, i ten faktor nie można brać pod uwagę, jako znaczący przy ustaleniu wieku biologicznego. [44, 45] Zwrócono uwagę również na zmniejszenie zawartości kwasów nukleinowych oraz podwyższenie poziomu anionów. Najbardziej znaczące zmiany z wiekiem stwierdzono w ilości substancji nieorganicznych, w

26

tym wapnia (Ca<sup>+2</sup>), jonów fosforanów (PO<sub>4</sub><sup>-3</sup>), jonów węglanowych (CO<sub>3</sub><sup>-2</sup>; HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>). [25, 28, 29, 116]

## 3. Cel pracy

Założeniem pracy było wykazanie, czy za pomocą metod histologicznych oraz spektrofotometrii w podczerwieni można ustalić wiek zeszkieletowanych szczątków ludzkich, oraz określić przynależność gatunkową szczątków kostnych poddanych działaniu wysokiej temperatury - spaleniu.

Problem interdyscyplinarnego ustalenia tożsamości zeszkieletowanych szczątków ludzkich, najczęściej ofiar działań przestępczych, czy też wojennych ma zawsze wyjątkowe znaczenie w badaniach współczesnej kryminalistyki i medycyny sądowej. Szeroki aspekt praktyczny prowadzonych badań wynika ze skutków licznych zdarzeń, których następstwami są ofiary kataklizmów, katastrof lotniczych, zamachów terrorystycznych, pożarów, czy zwłoki ekshumowane z masowych grobów pochodzących z czasów wojennych.

Cele szczegółowe pracy dotyczą:

- porównanie metod przygotowania histologicznych preparatów tkanki kostnej, a mianowicie szlifów kostnych z odwapnionymi preparatami kości;
- porównania obrazu histologicznego preparatów tkanki kostnej pobranej z różnych odcinków jednej kości – obojczyka; określenie optymalnego miejsca pobrania materiału dla badań histologicznych;
- określenia elementów histologicznych zbitej tkanki kostnej wykazujących istotne statystycznie zmiany zachodzące z wiekiem;
- określenie metod statystycznych przydatnych dla estymacji wieku szczątków kostnych;
- wskazanie optymalnej metody pod względem precyzji oraz ilości uwzględnianych parametrów histologicznych dla ustalenia wieku zeszkieletowanych szczątków ludzkich;
- określenie wpływu czynnika termicznego (spalenia) na histologiczny obraz tkanki kostnej zwłaszcza pod względem ustalenia jej przynależności gatunkowej
- zastosowanie metody spektrofotometrii w podczerwieni (IR Furiera technika fazy stałej) w zakresie liczby falowej 400-4000cm<sup>-1</sup> dla celów

szybkiej identyfikacji szczątków kostnych człowieka, oraz wykazanie różnic podczas procesu starzenia organizmu, a także międzygatunkowych porównań struktury chemicznej kości człowieka, świni, krowy oraz kury.

Realizacja powyższych celów pracy może stanowić inspirację dla nowych interdyscyplinarnych programów badawczych współczesnej medycyny sądowej i kryminalistyki.

### 4. Materiał

Materiał do badań stanowią obojczyki lewe, które były pobrane podczas sekcji zwłok, wykonanych w latach 2005-2007 w Katedrze i Zakładzie Medycyny Sądowej Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu, oraz fragment kości udowej świni, krowy oraz kury. W badaniu nie uwzględniano obojczyków, które podczas wykonywania sekcji wykazywały zmiany urazowe. Do badań histologicznych zakwalifikowano 64 obojczyki lewe ze zwłok osób obojga płci w wieku od 22 do 91 lat, oraz fragment kości udowej świni i kości udowej krowy. Jeden z fragmentów obojczyka człowieka został poddany działaniu wysokiej temperatury - spaleniu.

Przeanalizowano 87 szlifów kostnych przygotowanych w Katedrze i Zakładzie Medycyny Sądowej, z których 64 stanowiły preparaty trzonów obojczyka, 10 preparatów – szlify części kości z pogranicza końca bliższego i trzonu obojczyka, 10 preparatów - szlify części kości z pogranicza końca dalszego i trzonu obojczyka, 1 – szlif części trzonu spalonego obojczyka do szarego spopielenia (spalenia), 1 - szlif fragmentu kości udowej świni, 1 - szlif fragmentu kości udowej krowy.

Po przeprowadzeniu badania morfometrycznego oraz mikromorfometrycznego uzyskano wyniki, które przedstawiono w tabeli nr 2.

Nr	Nr S.Z.	płeć, 0-	wiek,	DO, cm	SO, cm	GO, cm	IOs,	KH >70,	śr Ø KH,	PBM, %	POs, %	PFOs, %	śr GBZ,	KH >70,
		M, 1-K	lata				ilość	ilość	μm				μm	%
1	297/05	1	60	14,3	1,04	0,9	148	30	59	4,1	30,4	65,5	77,8	20,2
2	298/05	0	40	14,8	1,08	0,98	104	5	38,1	22,1	24,6	53,3	160	4,8
3	300/05	0	40	15	1,1	1	116	8	44,8	20	32,3	47,7	112	6,9
4	301/05	0	47	16,1	1,2	1	92	8	42,5	8,2	20,3	71,8	98,8	8,6
5	309/05	0	46	14,6	1,1	0,9	120	16	46,8	12,3	26,7	61	88	13,3
6	310/05	0	40	15,1	1,2	0,92	106	5	37,9	24,3	27,1	48,6	138	4,7
7	312/05	1	66	13,3	1	0,88	148	32	60,2	3,1	28	68,9	72,2	21,6
8	314/05	0	33	14,2	1,03	0,9	112	12	44,5	18,6	35,1	46,3	104	10,7
9	315/05	1	73	14,8	1,02	0,9	128	30	70,1	4,8	30,6	64,6	76,2	23,4
10	316/05	1	25	14,4	1	0,8	104	6	32,8	21	39,3	39,7	116	5,7
11	317/05	0	54	14	1,2	0,92	130	22	54,5	4,8	18,7	76,5	71,6	16,9
12	318/05	0	44	14,6	1,1	0,77	118	5	44,6	9,4	30,2	60,4	102	4,2
13	319/05	1	39	13,6	1,02	0,98	112	8	36,8	14,7	30,5	54,8	98	7,1
14	320/05	1	42	14	1,04	1,01	118	20	51,9	6,4	34,6	59	104	16,9
15	324/05	0	32	14,2	1,1	0,9	104	3	32,6	23,5	38,6	37,9	128,6	2,8
16	334/05	0	23	13,1	1,03	0,88	90	2	32,2	14,6	36,8	48,6	122	2,2
17	335/05	0	48	14,4	1,11	0,86	121	16	47,2	5,3	28	66,7	84,6	13,2
18	336/05	1	76	15	1,1	0,92	122	32	70,8	3,4	23,5	73,1	37,7	26,2
19	337/05	1	78	13,7	1,01	0,92	148	38	76,6	1,4	27,6	70	40,2	25,6
20	339/05	0	44	15,2	1,03	0,98	154	24	41,8	12,1	32,1	55,8	112	15,6
21	341/05	0	40	14,4	1,15	0,82	97	4	42,5	21	29,3	49,7	120	9,2

Tab. 2. Dane ilościowe i procentowe uzyskane w badaniu morfometrycznym szlifów trzonów obojczyków.
22	342/05	0	62	14,6	1,02	0,9	128	30	68,4	6,2	26,8	67	82,7	23,4
23	344/05	1	56	13,8	1,1	0,92	146	30	56,6	4,9	31,2	63,9	102	20,5
24	345/05	0	35	15,2	1,3	0,98	97	4	38,1	22,8	38,8	38,4	110	4,1
25	346/05	1	48	14	1,02	0,92	130	25	52,9	5,2	30,5	64,3	114	19,2
26	347/05	0	49	14,2	1,1	1	134	18	54,5	9,8	20,8	69,4	73,8	13,4
27	351/05	1	22	13,4	1,2	0,88	98	4	34,8	20,8	45,8	35,4	142	4,1
28	354/05	0	69	15,2	1,24	1,2	116	23	64	9,7	13,4	76,9	111	19,8
29	355/05	0	22	14,6	1,2	0,98	105	5	36,2	23,8	21,3	54,9	217	4,7
30	358/05	0	58	14,6	1,4	1,01	126	23	61,3	5,8	24,8	69,4	102	18,2
31	360/05	0	47	14,2	1,1	0,9	109	6	38,6	7,7	14	78,3	71,5	5,5
32	361/05	0	52	15,1	1,3	0,98	111	8	47,2	8,5	18,3	73,2	80,2	7,2
33	362/05	0	58	14,4	1,11	0,86	135	6	37,4	7	15,8	77,2	113	4,4
34	363/05	1	24	15	1,1	0,92	106	4	36,6	23	48	29	126	3,7
35	368/05	0	40	15,7	1,42	1	124	6	39,6	18,9	31,6	49,5	104	4,8
36	373/05	0	50	15	1,64	1,06	140	14	56,2	7,2	26,6	66,2	84,8	10
37	377/05	0	81	15,1	1,42	1,01	142	48	77,5	2,8	18,3	78,9	68,8	33,8
38	378/05	1	61	13,2	1,4	0,9	145	36	78,2	2,6	27,5	69,9	94,75	24,8
39	018/06	0	76	14,2	1,4	1,05	108	33	64,7	3,4	18,2	78,4	48,3	30,5
40	020/06	0	70	15	1,26	1,2	142	35	68,2	2,6	20,1	77,3	92,2	24,6
41	021/06	1	91	14,6	1,1	0,9	114	30	71,1	1,3	18,8	79,9	23,6	26,3
42	022/06	0	22	14	1,03	0,89	98	2	28,8	29,6	37,2	33,2	160	2
43	023/06	0	23	13,9	1,02	0,91	88	2	34,4	26,8	40,3	32,9	140,6	2,2
44	073/06	1	59	13,5	1,15	0,8	152	22	55,2	7,2	32,1	60,7	102	14,4
45	080/06	1	53	13,7	1,1	0,9	110	28	66	12,6	25,8	61,6	120	25,4
46	081/06	1	64	13,3	1,06	0,85	124	38	73,1	2,8	29,1	68,1	59,8	30,6
47	083/06	1	73	13,8	1,12	0,91	112	36	76,3	2,3	26,4	71,3	52,2	32,1
48	086/06	1	25	12,4	1,2	0,8	98	4	33,6	22,8	33,6	43,6	102	4,1

49	180/06	0	29	14	1,1	0,9	102	4	33,3	26,2	29	44,8	162	3,9
50	182/06	0	29	14,3	1,25	0,9	78	2	32,2	28,3	26,2	45,5	146,2	2,5
51	183/06	1	38	13,6	1,12	0,88	122	20	42,8	12,8	34,8	52,4	136	16,3
52	184/06	0	28	14,5	1,2	0,92	96	4	35,4	20,1	42,8	37,1	158	4,1
53	230/06	0	41	15,2	1,38	0,9	138	8	46,6	20,8	34,7	45,5	98	5,7
54	270/06	1	61	13,5	1,2	0,97	132	24	66,2	3,6	30,4	66	75,5	17,9
55	315/06	1	22	14,4	1,02	0,88	90	3	32,2	25,5	42,7	31,8	118	3,3
56	317/06	0	29	14,4	1,28	0,92	90	3	35,4	25,9	32,8	41,3	151	3,3
57	332/06	1	22	13,8	1,3	0,88	98	3	34	26	38,9	35,1	110	3
58	120/07	0	30	14,9	1,45	0,92	84	4	36,8	25	26	49	160	4,7
59	143/07	0	56	14,5	1,4	0,9	138	32	69,4	3,2	20,6	76,2	64,8	23,2
60	147/07	1	53	13	1,4	0,97	112	24	49,5	3,6	30,4	66	75,5	21,4
61	148/07	0	54	14,4	1,42	0,9	152	12	61,3	4,3	22,8	72,9	82,2	7,8
62	149/07	0	69	17	1,45	0,96	156	28	63,7	3,8	22,9	73,3	102	17,9
63	150/07	1	86	16,3	1,54	0,84	94	38	68,4	3	26,1	70,9	54,2	40,8
64	154/07	0	35	15,4	1,33	1,1	94	6	37,7	25,8	14,9	59,3	132,3	6,3

### Legenda:

- Nr S.Z. numer sekcji zwłok
- płeć 0 mężczyzna, 1 kobieta
- DO długość obojczyka,
- SO szerokość obojczyka,
- GO grubość obojczyka,
- IOs liczba osteonów,
- KH >70μm liczba osteonów z kanałem Haversa o średnicy >70μm,

- śr Ø KH średnia średnica kanałów Haversa, µm,
- PBM powierzchnia zajmowana przez blaszki międzysystemowe, (%)
- POs powierzchnia zajmowana przez osteony, (%)
- PFOs powierzchnia zajmowana przez fragmenty pozostałości po przebudowanych osteonach, (%)
- śr GBZ średnia grubość blaszek kostnych zewnętrznych, µm,
- KH >70μm, % stosunek liczby osteonów z kanałem Haversa o średnicy >70μm do ogólnej ilości osteonów (%).

Badaniom poddano również 15 preparatów histologicznych wykonanych z trzonów 5 obojczyków pochodzących ze zwłok osób obojga płci w wieku od 23 do 78 lat. Z każdego z pięciu obojczyków zabezpieczono po trzy fragmenty z okolicy trzonu, które zostały odwapnione trzema różnymi metodami.

Analizie z wykorzystaniem spektrofotometrii w podczerwieni poddano 20 próbek, które zostały przygotowane z fragmentów trzonu obojczyka osób obojga płci w wieku od 2 lat do 95 lat. Dla celów porównawczych, przeanalizowano próbki pochodzące z fragmentów kości kury, krowy i świni.

### 5. Metody

#### 5.1 Pobranie materiału badawczego

Podczas pobierania obojczyków ze zwłok uwzględniono fakt, że większość osób populacji naszego społeczeństwa jest praworęczna, co znaczy, że lewa kończyna górna i obręcz barkowa posiada mniej zmian spowodowanych przeciążeniami fizycznymi.

Pobierane kości były utrwalone w 10% roztworze formaliny na czas co najmniej 72 godzin, po czym były poddane maceracji w 10% roztworze kwaśnego węglanu sodu (NaHCO<sub>3</sub>) i oczyszczone z tkanek miękkich. Po wysuszeniu każda wymacerowna kość została dokładnie zmierzona z uwzględnieniem następujących parametrów pomiarowych (cm):

- długość obojczyka stanowiąca odległośc pomiędzy najdalej od siebie położonymi punktami na końcach mostkowym i łopatkowym,
- szerokość obojczyka odległość między przednią a tylną powierzchnią obojczyka mierzona w połowie jego długości,
- grubość obojczyka wymiar pomiędzy górną i dolną powierzchnią obojczyka mierzony w połowie jego długości.

#### 5.2 Przygotowanie szlifów kostnych.

Po oczyszczeniu kości z tkanek miękkich za pomocą piły sekcyjnej pobierano poprzeczny wycinek w kształcie pierścienia o grubości około 5mm. Pobrany wycinek odtłuszczano w 70% roztworze alkoholu etylowego ( $C_2H_5OH$ ). Jeden z pobranych wycinków został poddany działaniu wysokiej temperatury w otwartym ogniu.

Po wypłukaniu i wysuszeniu każdy z pobranych fragmentów był zatapiany i przyklejany szkłem wodnym - roztworem wodnym krzemianu sodu ( $Na_2SiO_3$ ) do szklanego podłoża o wymiarach 10 x 6 x 0,6 cm . Wykorzystanie szkła wodnego pozwalało na bardzo mocne przymocowanie kości do szklanego podłoża podczas szlifowania. Po 1 dobie od przyklejena materiał szlifowano ręcznie do uzyskania grubości preparatu 80-110µm. Do szlifowania wykorzystywano papier ścierny o grubości ziaren od numeru 80 do 320. Podczas szlifowania fragmentu kości jego grubość była okresowo mierzona za pomocą suwmiarki. Możliwośc rozpuszczenia szkła wodnego w wodzie, wykorzystywanego dla zatapiania fragmentu kości, nie pozwala na szlifowanie kości pod wodą z wykorzystaniem wodoodpornego papieru ściernego, który ma nieco mniejszą ziarnistość. Możliwość bardzo łatwego usunięcia szkła wodnego po ukończeniu procedury szlifowania jest decydująca podczas wyboru surowca dla zatapiania i przyklejania.

Po uzyskaniu odpowiedniej grubości 80-110 $\mu$ m preparat odklejono za pomocą wody od szklanego podłoża, ponownie odtłuszczono w 70% roztworze alkoholu etylowego (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH), a następnie prześwietlono stosując ksylen 70%, 90% i 100%. W dalszej kolejności materiał był przyklejany do szkiełka podstawowego za pomocą balsamu kanadyjskiego (ekstrakt z żywicy jodły balsamicznej), charakteryzującym się współczynnikiem załamania światła identycznym lub bardzo zbliżonym do wielu gatunków szkła optycznego. Ostatecznie, po nałożeniu szkiełka nakrywkowego, preparat był gotowy do badań. Procedura przygotowania preparatu szlifu kostnego zajmuje około 7-8 dni.

### 5.3 Przygotowanie odwapnionych preparatów tkanki kostnej.

Z obojczyków pochodzących od osób w wieku 23, 42, 56, 66 oraz 78 lat, za pomocą piły sekcyjnej zostały pobrane po trzy poprzeczne wycinki o grubości około 5mm. Pobrane wycinki utrwalono w 10% roztworze formaliny, a następnie po wypłukaniu wodą przeprowadzono przez wzrastający i malejący szereg alkoholi (wodne roztwory 70% - 96%  $C_2H_5OH$ ).

Po jednym fragmencie z każdego obojczyka umieszczono w uprzednio przygotowanych roztworach odwapniających: wodny roztwór wersenianu sodu 10% ( $C_{10}H_{14}N_2O_8Na_2*2H_2O$ ), roztwór 10% wersenianu sodu w formalinie 10%, oraz roztwór równych części stężonego kwasu mrówkowego i alkoholu 70%. Po zakończeniu odwapniania resztki roztworów odwapniających usunieto intensywnym płukaniem woda. a następnie odwodniono preparaty przeprowadzając je przez szereg alkoholi (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH, 70% - 80% - 96%) i je prześwietlono w ksylenie. Po prześwietleniu preparaty zatopiono w parafinie, skrojono mikrotomem do grubości 10µm, ponownie przeprowadzono przez malejący i wzrastający szeregi alkoholi i ksylenu oraz zabarwiono hematoksyliną i eozyną. Proces przygotowania preparatów odwapnionych kości wymagał przedziału czasowego od 35 do 50 dni.

### 5.4. Badanie mikromorfometryczne.

W badaniu wykorzystano mikroskop Carl Zeiss Axiovert SAF 451210. Analizę przeprowadzono w świetle przechodzącym i spolaryzowanym przy powiększeniu x20, x50, x100. Wykonano zdjęcia kamerą Pixelink Megapixel Firewire przy użyciu oprogramowania Pixelink Cuptura. Parametry wykonanych zdjęć: rozszerzenie - bitmap image, rozdzielczość - 1280x1024 pikseli, ekspozycja i balans bieli - ustawiane automatycznie. Dla badań morfometrycznych wykorzystano zdjęcia przeparatów o powiększeniu x50, wymiarach 3019µm x 2415µm, powierzchnia pola widzenia 7,29mm<sup>2</sup>. Zdjęcia wykonane w powiększeniu x20 oraz x100 były wykorzystane jako pomocnicze dla weryfikacji niektórych z określanych elementów kości.

Dla badania mikromorfometrycznego wybrano cztery pola widzenia preparatu o powiększeniu x50, wymiarach 3019µm x 2415µm, powierzchni pola widzenia 7,29mm<sup>2</sup>. Zbadane pola widzenia rozmieszczone na przeciwległych biegunach poprzecznego przekroju kości: przedni, tylny, górny i dolny; tuż przy brzegu zewnętrznym kości obejmujące warstwy blaszek zewnętrznych kości oraz warstwę osteonową kości zbitej. Badanie morfometryczne przeprowadzone przy zastosowaniu programów komputerowych ImageJ 1.39u i PhotoM 1.31.

W badaniu mikromorfometrycznym zostały uwzględnione następujące parametry pomiarowe obliczane na powierzchni czterech pól widzenia o łącznej powierzchni 29,16 mm<sup>2</sup>:

- liczba osteonów,
- liczba osteonów z kanałem Haversa o średnicy >70µm,
- średnia średnica kanałów Haversa (μm),
- średnia grubość blaszek kostnych zewnętrznych (μm),

- powierzchnia zajmowana przez blaszki międzysystemowe (%),
- powierzchnia zajmowana przez osteony (%),
- powierzchnia zajmowana przez fragmenty pozostałości po przebudowanych osteonach (%).

#### 5.5 Analiza statystyczna.

Statystyczną ocenę uzyskanych wyników badań przeprowadzono w ramach współpracy z Katedrą i Zakłądem Informatyki i Statystyki Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu. Badaniom statystycznym, poza wyżej wymienionymi parametrami mikroromorfometrycznymi, również został poddany stosunek liczby osteonów z kanałem Haversa o średnicy >70µm do ogólnej liczby osteonów (%).

Na podstawie wykresów wieku z każdym z analizowanych parametrów zdecydowano o wyborze zależności liniowej. Każdy z uzyskanych parametrów przeanalizowano pod względem istotności statystycznej, po czym zostały wybrane jedynie te z nich, które były statystycznie istotne i poddane analizie zmienności zachodzącej z wiekiem przy użyciu funkcji regresji liniowej jednowymiarowej oraz wielokrotnej.

Funkcja regresji liniowej:  $Y = \beta_0 + \beta_1 X + \epsilon$ 

Funkcja regresji wielokrotnej:  $Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + ... + \beta_i X_i + \epsilon$ 

gdzie:

Y - wartość poszukiwana – wiek, (lata)

 $X_1, X_2, \dots, X_i$  – predyktory,

X<sub>1</sub> - IOs - liczba osteonów,

**X<sub>2</sub> - KH >70\mum - liczba osteonów z kanałem Haversa o średnicy** >70 $\mu$ m,

 $X_3$  - śr Ø KH - średnia średnica kanałów Haversa,  $\mu$ m,

X<sub>4</sub> - PBM - powierzchnia zajmowana przez blaszki międzysystemowe (%),

X<sub>5</sub> - POs - powierzchnia zajmowana przez osteony (%),

 $X_6$  - **PFOs** - powierzchnia zajmowana przez fragmenty - pozostałości po przebudowanych osteonach (%),

 $X_7$  - śr GBZ - średnia grubość blaszek kostnych zewnętrznych,  $\mu$ m,

**X<sub>8</sub> - KH >70μm, %** - stosunek liczby osteonów z kanałem Haversa o średnicy >70μm do ogólnej ilości osteonów (%).

 $\beta_0$ ,  $\beta_1$ ,  $\beta_2$ ,..., $\beta_8$  - parametry liniowej funkcji regresji oszacowane na podstawie 64-elementowej próby, składającej się z par obserwacji (x<sub>i</sub>, y<sub>i</sub>);

i - ilość badanych cech wykazujących istotność statystyczną;

 $\epsilon$  - błąd standardowy estymacji;

 $\mathbf{R}^2$  – współczynnik determinacji – mówi on o procencie wyjaśnionej zmienności wieku przez daną cechę w próbie;

R<sup>2</sup> skorygowane – korekcja współczynnika determinacji na całą populację.
W modelu regresji wielokrotnej wykonano obliczenie równania liniowego trzema metodami:

- metodą standardową tj. uwzględniającą wszystkie predyktory
- metodę krokową postępującą, która dołącza do modelu te predyktory mające największy wpływ na wiek, ale są najsłabiej skorelowane między sobą
- metodę krokową wsteczną, która usuwa z modelu zbudowanego ze wszystkich predyktorów w kolejnych krokach, które mają najmniejszy wpływ na wiek.

Wszystkie zweryfikowane modele regresji liniowej jednowymiarowej oraz wielokrotnej zostały przeanalizowane pod kątem wykorzystania ich do predykcji zmiennej zależnej, a mianowicie wieku. Po weryfikacji i estymacji modeli regresji liniowej jednowymiarowej i wielokrotnej dla każdego z nich zostały uzyskane i przeanalizowane wartości resztowe względem wartości przewidywanych, a w arkuszu wyników zostały ujęte:

- wartości obserwowanej zmiennej niezależnej,
- wartości przewidywane wyliczone z równania regresji,
- wartości reszt, czyli różnica pomiędzy wartościami obserwowanymi a przewidywanymi,
- standaryzowane wartości przewidywane,
- standaryzowane wartości resztowe,
- błędy standardowe niestandaryzowanej wartości przewidywanej,

- odległości Mahalanobisa, która jest odległością danego punktu pomiarowego (danej obserwacji) od centrum w przestrzeni wielowymiarowej zdefiniowanej przez skorelowane zmienne niezależne. Pomiar ten może stanowić wskaźnik pozwalający ustalić czy dana obserwacja może być zaliczona do odstających,
- usunięte wartości resztowe,
- odległość Cooka, która jest miarą wpływu danego przypadku na równanie regresji. Wykazuje ona różnicę między wyznaczonymi wartościami parametrów współczynników równania, a wartościami obliczonymi przy wyłączeniu danego przypadku z obliczeń. Wszystkie odległości powinny być tego samego rzędu. Jeśli nie są, to można przypuszczać, że dany przypadek (przypadki) miał istotny wpływ na obciążenie współczynników równania regresji.

Dla każdej z obliczonych zależności statystycznych zostały obliczone wartość minimalna, maksymalna, średnia i mediana.

# 5.6 Analiza porównawcza szlifów tkanki kostnej o różnym miejscu pobrania materiału badawczego.

Analizę porównawczą szlifów uzyskanych z trzonu obojczyka oraz szlifów wykonanych z wycinków pobranych z pogranicza trzonu i końców obojczyka przeprowadzono w świetle przechodzącym mikroskopu oraz w świetle spolaryzowanym przy powiększeniu x50 i x100. Do badania wykorzystano pola widzenia rozmieszczone na przeciwległych biegunach poprzecznego przekroju kości: przedni, tylny, górny i dolny. Podczas badania w polu widzenia zwrócono uwagę na takie elementy mikrostruktury kości, jak:

- liczba osteonów,
- powierzchnię zajętą osteonami,
- powierzchnię zajętą fragmentami przebudowanych osteonów,
- powierzchnię zajętą blaszkami kostnymi międzysystemowymi.

# 5.7 Analiza porównawcza szlifów kości człowieka, zwierząt oraz spalonej kości człowieka.

Badania porównawcze zastosowano również w przypadku oceny preparatów wykonanych z trzonu obojczyka człowieka z preparatami kości udowych krowy i świni, oraz z preparatami kości człowieka po poddaniu jej działaniu wysokiej temperatury - spalenie do szarego spopielenia. Analizę przeprowadzono w świetle przechodzącym mikroskopu oraz w świetle spolaryzowanym przy powiększeniu x50 i x100. W badaniu uwzględniono takie cechy jak:

- obecność tkanki kostnej grubowłóknistej w polu widzenia,
- obecność oraz stosunek wielokrotnie przebudowanych osteonów wtórnych do nieprzebudowanych osteonów wtórnych,
- przebieg kanałów osteonów w stosunku do długiej osi kości,
- obecność kanałów Folkmana oraz ich usytuowanie,
- obecność blaszek międzysystemowych.

### 5.8 Analiza chemiczna składu badanych kości.

Badania wykonano metodą spektrofotometrii w podczerwieni IR Furiera w zakresie liczby falowej V = 400 - 4000 cm<sup>-1</sup> (zakres długości fali  $\lambda$  = 25 - 2,5µm), podstawą których była ocena porównawcza uzyskanych widm. Analizę jakościową wykonano w fazie stałej, którą stanowiła tabletka zawierająca stały stosunek struktury mineralnej kości i bromku potasu (1.8 mg / 200 mg ). Widmo wykreślono automatycznie na spektrofotometrze IR Brucker IFS 113 ( Ettinger, Niemcy).

Przygotowanie materiału do badań metodą spektrofotometrii w podczerwieni IR Furiera uwzględniało:

- zabezpieczenia kości podczas sekcji zwłok. Dodatkowo analizie IR poddano próbki kości udowych kury, świni i krowy;
- mechaniczne oczyszczenie kości od tkanek miękkich;
- rozcięcie kości w połowie trzonu, zabezpieczenie fragmentu o grubości 5mm;

- przemycie wodą (do negatywnej reakcji z odczynnikiem Schiff 'a na obecność formaldehydu);
- suszenie 24 godziny w temperaturze pokojowej;
- ścieranie mechaniczne części zbitej trzonu obojczyka z użyciem pulweryzatora do otrzymania struktury proszku;
- masa kości (0.2 g) została poddana suszeniu w temperaturze 150° C ( 24 godziny do stałej masy usunięcie wody niekrystalicznej);
- tabletkę do badań spektrofotometrycznych (1.8 mg + 200 mg KBr ) przygotowano po uprzedniej integracji mechanicznej w młynku udarowym i prasowaniu (tabletkowanie ) w odpowiedniej matrycy Ø 8 mm i przy ciśnieniu 100 atmosfer.

Podczas badań dokonano analizy najbardziej intensywnych pasm absorpcji widma apatytu hydroksylowego oraz charakterystycznych obszarów absorpcyjnych dla struktur organicznych typowych dla układu struktury białkowej, głównie wiązania peptydowego (-CO-NH-).

Układem odniesienia było typowe widmo naturalnej struktury hydroksyapatytu osadzonego w strukturze żelu białkowego, którego zapis przedstawia rys. 2 (zakres 400 - 4000 cm<sup>-1</sup>) a jego rozszerzoną wersję ze wskazaniem liczbowych wartości liczb falowych przedstawiono na rys. 3 (zakres 600-1800 cm<sup>-1</sup>) i rys. 4 (zakres 2000-4000 cm<sup>-1</sup>).

**Ryc. 2.** Widmo naturalnej struktury hydroxyapatytu w podczerwieni w zakresie 400- $4000 \text{ cm}^{-1}$ 



**Ryc. 3.** Widmo naturalnej struktury hydroxyapatytu w podczerwieni, wersja rozszerzona, zakres 400-2000cm<sup>-1</sup>





**Ryc. 4.** Widmo naturalnej struktury hydroxyapatytu w podczerwieni wersja rozszerzona, zakres 2000-4000cm<sup>-1</sup>

Z piśmiennictwa wynika, że dla poszczególnych pasm absorpcji, typowych dla hydroksyapatytu i struktury białkowej kości, można przypisać następujące zakresy liczb falowych (v, cm<sup>-1</sup>), co przedstawia Tabela 3.

Tab. 3	Charakterystyczne	pasma	absorpcji	w podcz	erwieni	typowe dla
	hydroksyapatytu	w żelo	wej strukti	ırze biał	kowej k	ości.

Charakterystyczne pasma absorpcji	Zakres absorpcji piku (V cm <sup>-1</sup> )
$P0_{4}^{-3}$	562 - 564
$P0_{4}^{-3}$	603 - 604
$P0_{4}^{-3}$	960
$P0_{4}^{-3}$	1031 - 1035 (bardzo intensywny)
CO3 <sup>-2</sup>	872
$C0_{3}^{-2}$	1415-1450
Amid II	1650-1670
OH	3318 (bardzo intensywny)

Źródło: A. Antunes, W. de Rossi, D.M. Zezell -Spectroscopic alterations on enamel and dentin after nanosecond Nd: YAG laser irradiation", table str. 1144

W realizowanym programie badań różnicujących strukturę mineralną kości w odniesieniu do płci, wieku, czasu zgonu oraz przynależności gatunkowej, ocena porównawcza dotyczyła powyżej ustalonych zakresów pasm absorpcyjnych typowych dla jonu fosforanowego ( $PO_4^{-3}$ ), węglanowego ( $CO_3^{-2}$ ), hydroksylowego ( $OH^-$ ), oraz amidowego ugrupowania polipeptydowego.

W ocenie zmian składu mineralnego kości metodą IR, badano intensywność wybranych pasm analitycznych odpowiadających specyficznym grupom funkcyjnym hydroksyapatytu z udziałem jonu fosforanowego i węglowego (zakres jonu PO<sub>4</sub><sup>-3</sup> 1000-1200cm<sup>-1</sup>, 560-605cm<sup>-1</sup>, jonu CO<sub>3</sub><sup>-2</sup> 860-880cm<sup>-1</sup>, 1410-1450cm<sup>-1</sup>) oraz peptydowego ugrupowania amidowego (-CO-NH-zakres 1650-1670cm<sup>-1</sup>). Po dokonanym wyborze pasma analitycznego wartość absorpcji przy określonej długości fali odpowiadającej liczbie falowej (cm<sup>-1</sup>) określono metodą linii podstawowej. Podstawą obliczenia były dane liczbowe graficznego postępowania metodą linii podstawowej wybranego pasma analitycznego zgodnie z ryciną 5.

**Ryc. 5.** Graficzne przedstawienie obliczeń parametrów absorpcji metodą linii podstawowej.



Wartość absorpcji pasma odpowiedniego jonu jest odwrotnie proporcjonalna do przepuszczalności - transmisja (T), zgodnie z zależnością minimum przepuszczalności odpowiada maksimum absorpcji przy danej wartości  $\lambda$ ,  $\mu$ m czy v, cm<sup>-1</sup>. Absorpcja substancji badanej określana intensywnością pobudzenia jonów tworzących cząsteczkę ustalono zgodnie z wzorem: A=log100/T\_S - log 100/T\_0= log T\_0/T\_S

Ustalanie wartości absorpcji w zakresie charakterystycznych wybranych jonów, były podstawą oceny zmiany mineralnego składu obojczyka, które podano w odpowiednich tabelach zbiorczych.

### 6. WYNIKI

# 6.1. Porównanie metod przygotowania preparatów histologicznych tkanki kostnej

Preparaty histologiczne zostały przygotowane z trzonów obojczyków pochodzących od osób w wieku 23, 42, 56, 66 oraz 78 lat. Z każdego obojczyka został wykonany szlif kostny oraz trzy preparaty z kości odwapnionych różnymi metodami: roztwór równych części stężonego kwasu mrówkowego i alkoholu 70%, wodny roztwór wersenianu sodu 10% oraz roztwór 10% wersenianu sodu w formalinie 10%. Po zakończeniu odwapniania preparaty zabarwiono hematoksyliną i eozyną. Uzyskane wyniki przedstawiono na kolejnych zdjęciach (Fot. 1-5, A-D).



Fot. 1. Preparat histologiczny obojczyka kobiety w wieku 66 lat, przygotowany czteroma różnymi

- A) szlif obojczyka;B) odwapnianie roztworem kwasu mrówkowego i alkoholu
- C) odwapnianie roztworem wersenianu sodu 10% w formalinie 10%;
- D) odwapnianie wodnym roztworem wersenianu sodu 10%.

В

D







**Fot. 4.** Preparat histologiczny obojczyka kobiety w wieku 78 lat, przygotowany czteroma różnymi metodami:

- B) odwapnianie roztworem kwasu mrówkowego
- C) odwapnianie roztworem wersenianu sodu 10% w formalinie 10%;
- D) odwapnianie wodnym roztworem wersenianu



- 6.2. Analiza porównawcza szlifów trzonu obojczyka oraz szlifów z okolicy końców przyśrodkowego i bocznego przeprowadzona pod mikroskopem w świetle spolaryzowanym przy powiększeniu x50, (Fot. 6-33, A-D).
- **Fot. 6.**(A-D) Analizowane pola widzenia **szlifu trzonu** obojczyka kobiety w wieku 60 lat. (przypadek nr 297/05)



**Fot. 7.** (A-D) Analizowane pola widzenia **szlifu końca przyśrodkowego** obojczyka kobiety w wieku 60 lat. (przypadek nr 297/05)



**Fot. 8.** (A-D) Analizowane pola widzenia **szlifu końca bocznego** obojczyka kobiety w wieku 60 lat. (przypadek nr 297/05)



**Fot. 9.** (A-D) Analizowane pola widzenia **szlifu trzonu** obojczyka mężczyzny w wieku 40 lat. (przypadek nr 298/05)



**Fot. 10.** (A-D) Analizowane pola widzenia s**zlifu końca przyśrodkowego** obojczyka mężczyzny w wieku 40 lat. (przypadek nr 298/05)



**Fot. 11.** (A-D) Analizowane pola widzenia **szlifu końca bocznego** obojczyka mężczyzny w wieku 40 lat. (przypadek nr 298/05)



B)

C)

**Fot. 12.** (A-D) Analizowane pola widzenia **szlifu trzonu** obojczyka mężczyzny w wieku 40 lat. (przypadek nr 300/05)



**Fot. 13.** (A-D) Analizowane pola widzenia s**zlifu końca przyśrodkowego** obojczyka mężczyzny w wieku 40 lat. (przypadek nr 300/05)



Fot. 14. (A-D) Analizowane pola widzenia szlifu końca bocznego obojczyka mężczyzny w wieku 40 lat. (przypadek nr 300/05)



Fot. 15. (A-D) Analizowane pola widzenia szlifu trzonu obojczyka mężczyzny w wieku 47 lat. (przypadek nr 301/05)



Fot. 16. (A-D) Analizowane pola widzenia szlifu końca przyśrodkowego obojczyka mężczyzny w wieku 47 lat. (przypadek nr 301/05)



Fot. 17. (A-D) Analizowane pola widzenia szlifu końca bocznego obojczyka mężczyzny w wieku 47 lat. (przypadek nr 301/05)



A)

B)

C)

Fot. 18. (A-D) Analizowane pola widzenia szlifu trzonu obojczyka mężczyzny w wieku 46 lat. (przypadek nr 309/05)



Fot. 19. (A-D) Analizowane pola widzenia szlifu końca przyśrodkowego obojczyka mężczyzny w wieku 46 lat. (przypadek nr 309/05)



Fot. 20. (A-D) Analizowane pola widzenia szlifu końca bocznego obojczyka mężczyzny w wieku 46 lat. (przypadek nr 309/05)



A)

Fot. 21. (A-D) Analizowane pola widzenia szlifu trzonu obojczyka mężczyzny w wieku 33 lata. (przypadek nr 314/05)



Fot. 22. (A-D) Analizowane pola widzenia szlifu końca przyśrodkowego obojczyka mężczyzny w wieku 33 lata. (przypadek nr 314/05)



Fot. 23. (A-D) Analizowane pola widzenia szlifu końca bocznego obojczyka mężczyzny w wieku 33 lata. (przypadek nr 314/05)



B)

C)

**Fot. 24.** (A-D) Analizowane pola widzenia **szlifu trzonu** obojczyka mężczyzny w wieku 54 lata. (przypadek nr 317/05)



**Fot. 25.** (A-D) Analizowane pola widzenia s**zlifu końca przyśrodkowego** obojczyka mężczyzny w wieku 54 lata. (przypadek nr 317/05)



**Fot. 26.** (A-D) Analizowane pola widzenia **szlifu końca bocznego** obojczyka mężczyzny w wieku 54 lata. (przypadek nr 317/05)



**Fot. 27.** (A-D) Analizowane pola widzenia **szlifu trzonu** obojczyka mężczyzny w wieku 23 lata. (przypadek nr 334/05)



**Fot. 28.** (A-D) Analizowane pola widzenia **szlifu końca przyśrodkowego** obojczyka mężczyzny w wieku 23 lata. (przypadek nr 334/05)



Fot. 29. (A-D) Analizowane pola widzenia szlifu końca bocznego obojczyka mężczyzny w wieku 23 lata. (przypadek nr 334/05)



**Fot. 30.** (A-D) Analizowane pola widzenia **szlifu trzonu** obojczyka kobiety w wieku 78 lat. (przypadek nr 337/05)



**Fot. 31.** (A-D) Analizowane pola widzenia s**zlifu końca przyśrodkowego** obojczyka kobiety w wieku 78 lat. (przypadek nr 337/05)



**Fot. 32.** (A-D) Analizowane pola widzenia **szlifu końca bocznego** obojczyka kobiety w wieku 78 lat. (przypadek nr 337/05)



**Fot. 33.** (A-D) Analizowane pola widzenia **szlifu trzonu** obojczyka mężczyzny w wieku 62 lata. (przypadek nr 342/05)



**Fot. 34.** (A-D) Analizowane pola widzenia **szlifu końca przyśrodkowego** obojczyka mężczyzny w wieku 62 lata. (przypadek nr 342/05)



**Fot. 35.** (A-D) Analizowane pola widzenia **szlifu końca bocznego** obojczyka mężczyzny w wieku 62 lata. (przypadek nr 342/05)



## 6.3. Wyniki modeli regresji jednowymiarowej

6.3.1.Wyniki istotne statystycznie

**6.3.1a** Predyktor - liczba osteonów (liczba - szt.) dla grupy ogólnej - oznaczenie w tabelach i rycinach jako IOs

Ryc. 6. Wykres rozrzutu parametru IOs i wieku dla grupy ogólnej



**Tab. 4.** Wyniki modelu regresji jednowymiarowej badającej zależność IOs i wieku dla grupy ogólnej

	Wartość
R wielorakie	0,5854
Wielorakie R <sup>2</sup>	0,3427
Skorygowane R <sup>2</sup>	0,3321
р	0,0000037
Błąd std. estymacji	14,86

model istotny statystycznie p<0,00001

N=64	Standaryzowany współczynnik	Błąd standardowy	Współczynnik regresji β	Błąd standardowy	Statystyka t(62)	р
	regresji b	b	8 51	β		
W. wolny			-14,0366	11,04034	-1,27139	0,208339
IOs	0,585436	0,102961	0,5276	0,09279	5,68598	0,0000001

**wiek = -14,04 +0,5276 \* X ± 14,9** R= 0,5854; R<sup>2</sup> = 34,3%; R<sup>2</sup> skorygowany = 33,2%

	Wartość	Wartość	Reszta	Standaryzowana	Standaryzowana	Błąd	Odległość	Odległość
	obserwowana	przewidywana.		wartość	reszta	standardowy	Mahalnobisa	Cooka
				przewidywana		wartości		
						przewidywanej		
Minimum	22,0	27,1	-23,2	-1,94703	-1,56247	1,858	0,00126	0,00001
Maksim.	91,0	68,3	50,4	1,91915	3,39447	4,091	3,79090	0,22826
Średnia	47,8	47,8	0,0	-0,00000	-0,00000	2,550	0,98437	0,01445
Mediana	47,0	46,6	-2,5	-0,11307	-0,16550	2,378	0,63021	0,00548

Tab. 5. Wartości przewidywane i reszty badania zależności IOs i wieku dla grupy ogólnej

**Ryc. 7.** Wykres rozrzutu wartości wieku obserwowanego i przewidywanego na podstawie modelu regresji liniowej jednowymiarowej dla grupy ogólnej, predyktor IOs



Predyktor - liczba osteonów a wiek dla grupy mężczyzn.



Ryc. 8. Wykres rozrzutu parametru IOs i wieku dla grupy mężczyzn.

Tab. 6. Wyniki modelu regresji jednowymiarowej badającej zależność IOs i wieku dla grupy mężczyzn

	Wartość
R wielorakie	0,6783
Wielorakie R <sup>2</sup>	0,4601
Skorygowane R <sup>2</sup>	0,4455
р	0,000002
Błąd std. estymacji	11,468

model istotny statystycznie p<0,00001

N=39	Standaryzowany	Błąd	Współczynnik	Błąd	Statystyka	р
	współczynnik	standardowy	regresji β	standardowy	t(62)	
	regresji b	b		β		
W. wolny			-13,1854	10,47797	-1,25839	0,216133
IOs	0,678326	0,120794	0,5026	0,08950	5,61556	0,000002

wiek = -13,19 +0,5026 \* X ± 11,5 R = 0,6783;  $R^{2} = 46,01\%;$   $R^{2} \text{ skorygowany} = 44,55\%$ 

	Wartość	Wartość	Reszta	Standaryzowana	Standaryzowa	Błąd	Odległość	Odległość
	obserwowa	przewidywana.		wartość	na reszta	standardowy	Mahalnobi	Cooka
	na			przewidywana		wartości	sa	
						przewidywanej		
Minimum	22,0	26,02	-20,21	-1,792	-1,762	1,837	0,0012	0,000001
Maksim.	81,0	65,22	34,90	1,960	3,043	4,082	3,8423	0,2333
Średnia	44,7	44,74	0,0	0,00	0,0	2,521	0,9743	0,0265
Mediana	44,0	43,11	-0,17	-0,156	-0,015	2,458	0,7714	0,0090

**Tab. 7.** Wartości przewidywane i reszty badania zależności IOs i wieku dla grupymężczyzn.

**Ryc. 9.** Wykres rozrzutu wartości wieku obserwowanego i przewidywanego na podstawie modelu regresji liniowej jednowymiarowej predyktor IOs dla grupy mężczyzn.



Predyktor - liczba osteonów a wiek dla grupy kobiet.



Ryc. 10. Wykres rozrzutu parametru IOs a wieku dla grupy kobiet

**Tab. 8.** Wyniki modelu regresji jednowymiarowej badającej zależność IOs i wieku dla grupy kobiet

	Wartość
R wielorakie	0,4754
Wielorakie R <sup>2</sup>	0,2261
Skorygowane R <sup>2</sup>	0,1924
р	0,01629
Błąd std. estymacji	19,112

model istotny statystycznie p<0,05

N=25	Standaryzowany	Błąd	Współczynnik	Błąd	Statystyka	р
	współczynnik	standardowy	regresji β	standardowy	t(62)	
	regresji b	b		β		
W. wolny			-10,8657	24,81159	-0,437928	0,665523
IOs	0,475479	0,183436	0,5276	0,20355	2,592074	0,016296

wiek = -10,87 +0,5276 \* X ± 19,1

R = 0, 4755;  $R^{2} = 22,61\%;$  $R^{2} \text{ skorygowany} = 19,24\%$
	Wartość	Wartość	Reszta	Standaryzowana	Standaryzo	Błąd	Odległość	Odległość
	obserwowan	przewidywana.		wartość	wana reszta	standardowy	Mahalnobisa	Cooka
	а			przewidywana		wartości		
						przewidywanej		
Minimum	22,0	36,6	-21,06	-1,588	-1,102	3,835	0,00662	0,00033
Maksim.	91,0	69,3	47,27	1,646	2,473	7,475	2,71147	0,47042
Średnia	52,68	52,68	0,0	0,0	0,0	5,262	0,96000	0,04470
Mediana	56,0	51,39	-7,22	-0,127	-0,377	4,822	0,56763	0,02056

Tab. 9. Wartości przewidywane i reszty badania zależności IOs i wieku dla grupy kobiet.

**Ryc. 11.** Wykres rozrzutu wartości wieku obserwowanego i przewidywanego na podstawie modelu regresji liniowej jednowymiarowej dla grupy kobiet, predyktor IOs.



**6.3.1b** Predyktor - liczba osteonów z kanałem Haversa o średnicy >70μm, (liczba - szt.) dla grupy ogólnej - oznaczenie w tabelach i rycinach jako KH >70μm



**Ryc.** 12. Wykres rozrzutu parametru KH >70µm i wieku dla grupy ogólnej

**Tab. 10.** Wyniki modelu regresji jednowymiarowej badającej zależność KH >70μm i wieku dla grupy ogólnej

	Wartość
R wielorakie	0,8753
Wielorakie R <sup>2</sup>	0,7662
Skorygowane R <sup>2</sup>	0,7624
р	3,098E-21
Błąd std. estymacji	8,86

model istotny statystycznie p<0,00001

N=64	Standaryzowany	Błąd	Współczynnik	Błąd	Statystyka	р
	współczynnik	standardowy	regresji β	standardowy	t(62)	
	regresji b	b		β		
W. wolny			27,27891	1,818751	14,99870	0,0000001
KH	0,875356	0,061402	1,24048	0,087014	14,25618	0,0000001
>70µm						

wiek = 27,28 + 1,2405 \* X ± 8,9 R=0,8754 R<sup>2</sup>=76,62% Skoryg. R<sup>2</sup>=76,25%

**Tab. 11.** Wartości przewidywane i reszty badania zależności KH >70µm i wieku dla grupy ogólnej

	Wartość	Wartość	Reszta	Standaryzowana	Standaryzowana	Błąd	Odległość	Odległość
	obserwowana	przewidywana.		wartość	reszta	standardowy	Mahalnobisa	Cooka
				przewidywana		wartości		
						przewidywanej		
Minimum	22,0	29,7	-	-1,136	-1,589	1,108836	0,00203	0,0004
			14,08					
Maksim.	91,0	86,8	26,51	2,448	2,991	2,949991	5,99733	0,1548
Średnia	47,8	47,8	0,0	0,0	0,0	1,534575	0,98437	0,0127
Mediana	47,0	43,4	-0,16	-0,278	-0,073	1,527253	0,88764	0,0103

**Ryc. 13.** Wykres rozrzutu wartości wieku obserwowanego i przewidywanego na podstawie modelu regresji liniowej jednowymiarowej dla grupy ogólnej, predyktor KH >70µm





Predyktor - liczba osteonów z kanałem Haversa o średnicy >70μm dla grupy mężczyznRyc. 14. Wykres rozrzutu parametru KH >70μm i wieku dla grupy mężczyzn

**Tab. 12.** Wyniki modelu regresji jednowymiarowej badającej zależność KH  ${>}70\mu m$ i wieku dla grupy mężczyzn

	Wartość
R wielorakie	0,8590
Wielorakie R <sup>2</sup>	0,7379
Skorygowane R <sup>2</sup>	0,7308
р	0,00000000002
Błąd std. estymacji	7,9894

model istotny statystycznie p<0,00001

N=39	Standaryzowany współczynnik regresij b	Błąd standardowy b	Współczynnik regresji β	Błąd standardowy β	Statystyka t(62)	р
W. wolny	regresji e		30,17615	1,916539	15,74513	0,000001
KH >70µm	0,859054	0,084153	1,14542	0,112206	10,20820	0,000001

wiek = 30,18+1,1454\*X  $\pm$  8,0 R = 0,8591 R<sup>2</sup> = 73,78% Skoryg. R<sup>2</sup> = 73,09%

	Wartość	Wartość	Reszta	Standaryzowana	Standaryzowana	Błąd	Odległość	Odległość
	obserwowana	przewidywana.		wartość	reszta	standardowy	Mahalnobisa	Cooka
				przewidywana		wartości		
						przewidywanej		
Minimum	22,0	32,5	-13,90	-0,9279	-1,74021	1,281869	0,003863	0,000020
Maksim.	81,0	85,2	20,95	3,0545	2,62237	4,160448	9,330224	0,127424
Średnia	44,7	44,7	0,0	0,0	-0,00000	1,729979	0,974359	0,024856
Mediana	44,0	39,3	-	-0,4084	-0,06295	1,610463	0,569657	0,009503
			0,5029					

**Tab. 13.** Wartości przewidywane i reszty badania zależności KH >70µm i wieku dla grupy mężczyzn

**Ryc. 15.** Wykres rozrzutu wartości wieku obserwowanego i przewidywanego na podstawie modelu regresji liniowej jednowymiarowej dla grupy mężczyzn, predyktor KH >70µm.



Predyktor - liczba osteonów z kanałem Haversa o średnicy >70µm dla grupy kobiet



Ryc. 16. Wykres rozrzutu parametru KH >70µm i wieku dla grupy kobiet

**Tab.14** Wyniki modelu regresji jednowymiarowej badającej zależność KH >70µm i wieku dla grupy kobiet

	Wartość
R wielorakie	0,9113
Wielorakie R <sup>2</sup>	0,8304
Skorygowane R <sup>2</sup>	0,8231
р	0,000000002
Błąd std. estymacji	8,9447

model istotny statystycznie p<0,00001

N=25	Standaryzowany	Błąd	Współczynnik	Błąd	Statystyka	р
	współczynnik	standardowy	regresji β	standardowy	t(62)	
	regresji b	b		β		
W. wolny			17,93383	3,730259	4,80766	0,000075
KH >70µm	0,911308	0,085851	1,53744	0,144836	10,61502	0,000000

wiek = 17,93+1,5374\*X  $\pm$  8,9 R = 0,9113 R<sup>2</sup> = 83,05% Skoryg. R<sup>2</sup> = 82,31%

	Wartość	Wartość	Reszta	Standaryzowana	Standaryzowana	Błąd	Odległość	Odległość
	obserwowana	przewidywana.		wartość	reszta	standardowy	Mahalnobisa	Cooka
				przewidywana		wartości		
						przewidywanej		
Minimum	22,0	22,5	-12,3	-1,554	-1,381	1,79105	0,0022	0,0000
Maksim.	91,0	76,3	26,9	1,221	3,012	3,35545	2,417	0,2757
Średnia	52,68	52,6	0,0	0,0	0,0	2,46787	0,960	0,0338
Mediana	56,0	56,3	-0,54	0,190	-0,061	2,24809	0,556	0,0126

**Tab. 15.** Wartości przewidywane i reszty badania zależności KH >70µm i wieku dla grupy kobiet

**Ryc. 17.** Wykres rozrzutu wartości wieku obserwowanego i przewidywanego na podstawie modelu regresji liniowej jednowymiarowej dla grupy kobiet, predyktor KH >70µm.



**6.3.1c** Predyktor - stosunek liczby osteonów z kanałem Haversa o średnicy >70μm do ogólnej liczby osteonów (%) dla grupy ogólnej - oznaczenie w tabelach i rycinach jako %KH >70μm



**Ryc.** 18. Wykres rozrzutu parametru % KH >70µm i wieku dla grupy ogólnej

**Tab. 16.** Wyniki modelu regresji jednowymiarowej badającej zależność % KH >70μm i wieku dla grupy ogólnej

	Wartość
R wielorakie	0,87643
Wielorakie R <sup>2</sup>	0,7681
Skorygowane R <sup>2</sup>	0,7644
р	2,4041E-21
Błąd std. estymacji	8,822

Model istotny statystycznie p<0,00001

N=64	Standaryzowany współczynnik regresii b	Błąd standardowy b	Współczynnik regresji β	Błąd standardowy β	Statystyka t(62)	р
W. wolny			26,22919	1,868548	14,03720	0,0000001
% KH $>70\mu m$	0,876439	0,061152	1,61661	0,112797	14,33207	0,0000001

wiek =  $26,23 + 1,6166 * X \pm 8,8$ R=0,8764 R<sup>2</sup>=76,81% Skoryg. R<sup>2</sup>=76,44%

	Wartość	Wartość	Reszta	Standaryzowana	Standaryzowana	Błąd	Odległość	Odległość
	obserwowana	przewidywana.		wartość	reszta	standardowy	Mahalnobisa	Cooka
				przewidywana		wartości		
						przewidywanej		
Minimum	22,0	29,4	-	-1,153	-1,652	1,103197	0,000009	0,000011
			14,57					
Maksim.	91,0	92,2	24,6	2,782	2,793	3,284769	7,742696	0,149008
Średnia	47,8	47,8	0,0	0,0	-0,00000	1,515455	0,984375	0,015888
Mediana	47,0	42,9	-0,48	-0,306	-0,05510	1,474272	0,773606	0,008338

**Tab. 17.** Wartości przewidywane i reszty badania zależności % KH >70µm i wieku dla grupy ogólnej

Ryc. 19. Wykres rozrzutu wartości wieku obserwowanego i przewidywanego na podstawie modelu regresji liniowej jednowymiarowej dla grupy ogólnej, predyktor % KH >70μm.



Predyktor - stosunek liczby osteonów z kanałem Haversa o średnicy >70µm do ogólnej liczby osteonów dla grupy mężczyzn





**Tab. 18.** Wyniki modelu regresji jednowymiarowej badającej zależność % KH >70μm i wieku dla grupy mężczyzn

	Wartość
R wielorakie	0,8609
Wielorakie R <sup>2</sup>	0,7412
Skorygowane R <sup>2</sup>	0,7342
р	2,064E-12
Błąd std. estymacji	7,93

Model istotny statystycznie p<0,00001

	Standaryzowany współczynnik	Błąd standardowy	Współczynnik regresji β	Błąd standardowy	Statystyka t(62)	р
N=39	regresji b	b	0 .	β		
W. wolny			28,30291	2,041193	13,86587	0,0000001
$\%~KH~>70\mu m$	0,860954	0,083627	1,59857	0,155274	10,29518	0,0000001

**wiek = 28,30 + 1,5986 \* X ± 7,9** R=0,8610 R<sup>2</sup>=74,12% Skoryg. R<sup>2</sup>=73,42%

	Wartość	Wartość	Reszta	Standaryzowana	Standaryzowana	Błąd	Odległość	Odległość
	obserwowana	przewidywana.		wartość	reszta	standardowy	Mahalnobisa	Cooka
				przewidywana		wartości		
						przewidywanej		
Minimum	22,0	31,5	-13,8	-0,9987	-1,740	1,272	0,00117	0,00001
Maksim.	81,0	82,3	22,6	2,8349	2,854	3,866	8,03712	0,17150
Średnia	44,7	44,7	0,0	0,0	0,0	1,716	0,97435	0,02146
Mediana	44,0	39,3	-	-0,408	-0,133	1,565	0,50330	0,00699
			1,059					

**Tab. 19.** Wartości przewidywane i reszty badania zależności % KH >70μm i wieku dla grupy mężczyzn

Ryc. 21. Wykres rozrzutu wartości wieku obserwowanego i przewidywanego na podstawie modelu regresji liniowej jednowymiarowej dla grupy mężczyzn, predyktor % KH >70μm.



Predyktor - stosunek liczby osteonów z kanałem Haversa o średnicy >70µm do ogólnej liczby osteonów dla grupy kobiet



**Ryc. 22.** Wykres rozrzutu parametru % KH >70µm i wieku dla grupy kobiet

**Tab. 20.** Wyniki modelu regresji jednowymiarowej badającej zależność % KH >70μm i wieku dla grupy kobiet

	Wartość
R wielorakie	0,9039
Wielorakie R <sup>2</sup>	0,8171
Skorygowane R <sup>2</sup>	0,8092
р	0,0000001
Błąd std. estymacji	9,2909

model istotny statystycznie p<0,00001

	Standaryzowany	Błąd	Współczynnik	Błąd	Statystyka	р
	współczynnik	standardowy	regresji β	standardowy	t(62)	
N=25	regresji b	b		β		
W. wolny			18,81110	3,823116	4,92036	0,000057
$\% KH > 70 \mu m$	0,903939	0,089173	1,86257	0,183742	10,13686	0,000001

**wiek = 18,81 + 1,8626 \* X ± 9,3** R=0,9039 R<sup>2</sup>=81,71% Skoryg. R<sup>2</sup>=80,92%

	Wartość	Wartość	Reszta	Standaryzowana	Standaryzowana	Błąd	Odległość	Odległość
	obserwowana	przewidywana.		wartość	reszta	standardowy	Mahalnobisa	Cooka
				przewidywana		wartości		
						przewidywanej		
Minimum	22,0	24,3	-13,1	-1,471	-1,412	1,8589	0,0007	0,0002
Maksim.	91,0	94,8	23,20	2,191	2,497	4,5520	4,8010	0,2349
Średnia	52,6	52,6	0,0	0,0	0,0	2,5391	0,9600	0,0392
Mediana	56,0	56,4	-2,39	0,195	-0,258	2,3042	0,5162	0,0175

**Tab. 21.** Wartości przewidywane i reszty badania zależności % KH >70µm i wieku dla grupy kobiet

**Ryc. 23.** Wykres rozrzutu wartości wieku obserwowanego i przewidywanego na podstawie modelu regresji liniowej jednowymiarowej, predyktor % KH >70µm dla grupy kobiet.



**6.3.1d** Predyktor - średnia średnica kanałów Haversa, (µm) dla grupy ogólnej - oznaczenie w tabelach i rycinach jako śr $\emptyset$  KH



Ryc. 24. Wykres rozrzutu parametru śr Ø KH i wieku dla grupy ogólnej

**Tab. 22.** Wyniki modelu regresji jednowymiarowej badającej zależność śr Ø KH i wieku dla grupy ogólnej

	Wartość
R wielorakie	0,9073
Wielorakie R <sup>2</sup>	0,8232
Skorygowane R <sup>2</sup>	0,8204
р	5,1397E-25
Błąd std. estymacji	7,71

model istotny statystycznie p<0,00001

N=64	Standaryzowany	Błąd	Współczynnik	Błąd	Statystyka	р
	współczynnik	standardowy	regresji β	standardowy	t(62)	
	regresji b	b		β		
W. wolny			-8,29161	3,440612	-2,40992	0,018937
śr Ø KH	0,907346	0,053389	1,12180	0,066007	16,99498	0,000001

wiek = -8,29 + 1,1218 \* X ± 7,7 R=0,9073 R<sup>2</sup>=82,33% Skoryg. R<sup>2</sup>=82,04%

**Tab. 23.** Wartości przewidywane i reszty badania zależności śr Ø KH i wieku dla grupy ogólnej

	Wartość	Wartość	Reszta	Standaryzowana	Standaryzowana	Błąd	Odległość	Odległość
	obserwowana	przewidywana.		wartość	reszta	standardowy	Mahalnobisa	Cooka
				przewidywana		wartości		
						przewidywanej		
Minimum	22,0	24,0	-18,43	-1,44428	-2,39228	0,9638	0,0013	0,000001
Maksim.	91,0	79,4	24,33	1,91472	3,15847	2,0934	3,6661	0,2462
Średnia	47,8	47,8	0,0	0,00000	0,00000	1,3323	0,9843	0,0195
Mediana	47,0	44,1	0,4566	-0,22715	0,05926	1,3050	0,8228	0,0057

**Ryc. 25.** Wykres rozrzutu wartości wieku obserwowanego i przewidywanego na podstawie modelu regresji liniowej jednowymiarowej dla grupy ogólnej, predyktor śr Ø KH.



Predyktor - średnia średnica kanałów Haversa dla grupy mężczyzn.



Ryc. 26. Wykres rozrzutu parametru śr Ø KH i wieku dla grupy mężczyzn



0 1	
	Wartość
R wielorakie	0,8959
Wielorakie R <sup>2</sup>	0,8026
Skorygowane R <sup>2</sup>	0,7973
р	1,31971E-14
Błąd std. estymacji	6,93

model istotny statystycznie p<0,00001

N=39	Standaryzowany współczynnik	Błąd standardowy	Współczynnik regresji β	Błąd standardowy	Statystyka t(62)	р
	regresji b	b		β		
W. wolny			-5,32865	4,229677	-1,25983	0,215621
śr Ø KH	0,895926	0,073027	1,07481	0,087607	12,26846	0,000000

wiek = -5,32 + 1,0748 \* X ± 6,9 R=0,8959 R<sup>2</sup>=80,27% Skoryg. R<sup>2</sup>=79,73%

	Wartość	Wartość	Reszta	Standaryzowana	Standaryzowana	Błąd	Odległość	Odległość
	obserwowana	przewidywana.		wartość	reszta	standardowy	Mahalnobisa	Cooka
				przewidywana		wartości		
						przewidywanej		
Minimum	22,0	25,6	-	-1,385	-1,913	1,1101	0,000001	0,00002
			13,26					
Maksim.	81,0	77,9	23,13	2,407	3,336	2,9269	5,7981	0,2504
Średnia	44,7	44,7	0,0	0,0	0,0	1,5193	0,9743	0,0288
Mediana	44,0	40,3	-0,28	-0,318	-0,040	1,3934	0,5606	0,0082

**Tab. 25.** Wartości przewidywane i reszty badania zależności śr Ø KH i wieku dla grupy mężczyzn

**Ryc. 27.** Wykres rozrzutu wartości wieku obserwowanego i przewidywanego na podstawie modelu regresji liniowej jednowymiarowej, predyktor śr Ø KH dla grupy mężczyzn



Predyktor - średnia średnica kanałów Haversa dla grupy kobiet.



Ryc. 28. Wykres rozrzutu parametru śr Ø KH i wieku dla grupy kobiet



	Wartość
R wielorakie	0,9145
Wielorakie R <sup>2</sup>	0,8362
Skorygowane R <sup>2</sup>	0,8291
р	0,000000001
Błąd std. estymacji	8,79

model istotny statystycznie p<0,00001

N=25	Standaryzowany współczynnik	Błąd standardowy	Współczynnik regresji β	Błąd standardowy	Statystyka t(62)	р
	regresji b	b		β		
W. wolny			-14,5375	6,446902	-2,25496	0,033958
śr Ø KH	0,914459	0,084381	1,2127	0,111902	10,83719	0,000000

**wiek = -14,54 + 1,2127 \* X ± 8,8** R=0,9145 R<sup>2</sup>=83,62% Skoryg. R<sup>2</sup>=82,91%

	Wartość	Wartość	Reszta	Standaryzowana	Standaryzowana	Błąd	Odległość	Odległość
	obserwowana	przewidywana.		wartość	reszta	standardowy	Mahalnobisa	Cooka
				przewidywana		wartości		
						przewidywanej		
Minimum	22,0	24,5	-	-1,448	-2,194	1,7585	0,0002	0,00006
			19,29					
Maksim.	91,0	80,3	19,31	1,419	2,196	3,1381	2,0978	0,3892
Średnia	52,6	52,7	0,0	0,0	0,0	2,4381	0,9600	0,0467
Mediana	56,0	54,1	-0,35	0,073	-0,040	2,4598	0,9187	0,0130

**Tab. 27.** Wartości przewidywane i reszty badania zależności śr Ø KH i wieku dla grupy kobiet

**Ryc. 29.** Wykres rozrzutu wartości wieku obserwowanego i przewidywanego na podstawie modelu regresji liniowej jednowymiarowej dla grupy kobiet, predyktor śr Ø KH.



**6.3.1e** Predyktor - średnia grubość blaszek kostnych zewnętrznych, ( $\mu$ m), dla grupy ogólnej - oznaczenie w tabelach i rycinach jako śr GBZ



Ryc. 30. Wykres rozrzutu parametru śr GBZ i wieku dla grupy ogólnej

**Tab. 28.** Wyniki modelu regresji jednowymiarowej badającej zależność śr GBZ i wieku dla grupy ogólnej

	Wartość
R wielorakie	0,7916
Wielorakie R <sup>2</sup>	0,6266
Skorygowane R <sup>2</sup>	0,6206
р	0,0000001
Błąd std. estymacji	11,2000

model istotny statystycznie p<0,00001

	Standaryzowany	Błąd	Współczynnik	Błąd	Statystyka	р
	współczynnik	standardowy	regresji β	standardowy	t(62)	
N=64	regresji b	b		β		
W. wolny			89,75627	4,340950	20,6766	0,000001
śr GBZ	-0,791583	0,077605	-0,40719	0,039920	-10,2002	0,000001

wiek = 89,76 - 0,4072 \* X ± 11,2 R=0,7916 R<sup>2</sup>=62,66% Skoryg. R<sup>2</sup>=62,06%

	Wartość	Wartość	Reszta	Standaryzowana	Standaryzowana	Błąd	Odległość	Odległość
	obserwowana	przewidywana.		wartość	reszta	standardowy	Mahalnobisa	Cooka
				przewidywana		wartości		
						przewidywanej		
Minimum	22,0	1,39	-23,2	-3,227	-2,073	1,400	0,0007	0,000002
Maksim.	91,0	80,1	24,4	2,244	2,182	4,763	10,413	0,4562
Średnia	47,8	47,8	0,0	0,0	0,0	1,885	0,984	0,0188
Mediana	47,0	48,2	-0,88	0,026	-0,079	1,672	0,419	0,0058

**Tab. 29.** Wartości przewidywane i reszty badania zależności śr GBZ i wieku dla grupy ogólnej

**Ryc. 31.** Wykres rozrzutu wartości wieku obserwowanego i przewidywanego na podstawie modelu regresji liniowej jednowymiarowej dla grupy ogólnej, predyktor śr GBZ.





Ryc. 32. Wykres rozrzutu parametru śr GBZ i wieku dla grupy mężczyzn

Predyktor - średnia grubość blaszek kostnych zewnętrznych dla grupy mężczyzn



Siupy	męzezyzn
	Wartość
R wielorakie	0,7440
Wielorakie R <sup>2</sup>	0,5536
Skorygowane R <sup>2</sup>	0,5415
F(1,37)	45,8830
р	0,00000001
Błąd std. estymacji	10,4283

model istotny statystycznie p<0,00001

	Standaryzowany	Błąd	Współczynnik	Błąd	Statystyka	р
	współczynnik	standardowy	regresji β	standardowy	t(62)	
N=39	regresji b	b		β		
W. wolny			81,35173	5,656549	14,38187	0,0000001
śr GBZ	-0,744035	0,109842	-0,32761	0,048365	-6,77370	0,0000001

**wiek = 81,35 - 0,32761 \* X ± 10,4** R=0,7440 R<sup>2</sup>=55,36% Skoryg. R<sup>2</sup>=54,15%

	Wartość	Wartość	Reszta	Standaryzowana	Standaryzowana	Błąd	Odległość	Odległość
	obserwowana	przewidywana.		wartość	reszta	standardowy	Mahalnobisa	Cooka
				przewidywana		wartości		
						przewidywanej		
Minimum	22,0	10,2	-	-3,00924	-1,76285	1,669906	0,000054	0,000040
			18,3835					
Maksim.	81,0	65,5	24,0128	1,81383	2,30266	5,357582	9,055534	0,308689
Średnia	44,7	44,7	-0,0000	-0,00000	-0,00000	2,259081	0,974359	0,028503
Mediana	44,0	47,2	-3,0091	0,22139	-0,28856	2,118149	0,593373	0,007978

**Tab. 31.** Wartości przewidywane i reszty badania zależności śr GBZ i wieku dla grupy mężczyzn

**Ryc. 33.** Wykres rozrzutu wartości wieku obserwowanego i przewidywanego na podstawie modelu regresji liniowej jednowymiarowej dla grupy mężczyzn, predyktor śr GBZ



Predyktor - średnia grubość blaszek kostnych zewnętrznych dla grupy kobiet



Ryc. 34. Wykres rozrzutu parametru śr GBZ i wieku w grupie kobiet

**Tab. 32.** Wyniki modelu regresji jednowymiarowej badającej zależność śr GBZ i wieku dla grupy kobiet

	Wartość
R wielorakie	0,8647
Wielorakie R <sup>2</sup>	0,7477
Skorygowane R <sup>2</sup>	0,7367
р	0,0000001
Błąd std. estymacji	10,9124

model istotny statystycznie p<0,00001

N-25	Standaryzowany współczynnik	Błąd standardowy	Współczynnik regresji β	Błąd standardowy	Statystyka t(62)	р
N=23	regresji b	U		p		
W. wolny			104,0414	6,592834	15,78098	0,000001
śr GBZ	-0,86469	0,104736	-0,5759	0,069754	-8,25597	0,000001

wiek = 104,04 - 0,576 \* X ± 10,9 R=0,8647

R<sup>2</sup>=74,77% Skoryg. R<sup>2</sup>=73,67%

	Wartość	Wartość	Reszta	Standaryzowana	Standaryzowana	Błąd	Odległość	Odległość
	obserwowana	przewidywana.		wartość	reszta	standardowy	Mahalnobisa	Cooka
				przewidywana		wartości		
						przewidywanej		
Minimum	22,0	22,2	-20,3	-1,65389	-1,86032	2,2167	0,03035	0,00004
Maksim.	91,0	90,4	18,06	2,05385	1,65551	5,0688	4,21831	0,12724
Średnia	52,7	52,7	0,0	0,0	0,0	2,9908	0,96000	0,03553
Mediana	56,0	47,6	-0,26	-0,27601	-0,02428	2,7855	0,60382	0,02503

**Tab. 33.** Wartości przewidywane i reszty badania zależności śr GBZ i wieku dla grupy kobiet

**Ryc. 35.** Wykres rozrzutu wartości wieku obserwowanego i przewidywanego na podstawie modelu regresji liniowej jednowymiarowej dla grupy kobiet, predyktor śr GBZ.



**6.3.1f** Predyktor - powierzchnia zajmowana przez blaszki międzysystemowe (%), dla grupy ogólnej - oznaczenie w tabelach i rycinach jako PBM



Ryc. 36. Wykres rozrzutu parametru PBM i wieku dla grupy ogólnej

**Tab. 34.** Wyniki modelu regresji jednowymiarowej badającej zależność PBM i wieku dla grupy ogólnej

	Wartość
R wielorakie	0,8679
Wielorakie R <sup>2</sup>	0,7533
Skorygowane R <sup>2</sup>	0,7493
р	1,66E-20
Błąd std. estymacji	9,10

model istotny statystycznie p<0,00001

N=64	Standaryzowany współczynnik regresji b	Błąd standardowy b	Współczynnik regresji β	Błąd standardowy β	Statystyka t(62)	р
W. wolny			69,87002	1,964144	35,5728	0,0000001
PBM	-0,867921	0,063081	-1,73799	0,126318	-13,7588	0,0000001

wiek = 69,87 - 1,7378 \* X ± 9,1 R=0,8679 R<sup>2</sup>=75,33% Skoryg. R<sup>2</sup>=74,93%

	Wartość	Wartość	Reszta	Standaryzowana	Standaryzowana	Błąd	Odległość	Odległość
	obserwowana	przewidywana.		wartość	reszta	standardowy	Mahalnobisa	Cooka
				przewidywana		wartości		
						przewidywanej		
Minimum	22,0	18,4	-21,5	-1,864	-2,361	1,1380	0,00006	0,00001
Maksim.	91,0	67,6	23,38	1,252	2,569	2,4221	3,4749	0,1452
Średnia	47,8	47,8	0,0	0,0	0,0	1,5834	0,9843	0,0155
Mediana	47,0	53,3	-1,39	0,343	0,153	1,5622	0,8709	0,0077

Tab. 35. Wartości przewidywane i reszty badania zależności PBM i wieku dla grupy ogólnej

**Ryc. 37.** Wykres rozrzutu wartości wieku obserwowanego i przewidywanego na podstawie modelu regresji liniowej jednowymiarowej dla grupy ogólnej, predyktor PBM.



•

Predyktor - powierzchnia zajmowana przez blaszki międzysystemowe dla grupy mężczyzn



Ryc. 38. Wykres rozrzutu parametru PBM i wieku dla grupy mężczyzn

**Tab.. 36.** Wyniki modelu regresji jednowymiarowej badającej zależność PBM i wieku dla grupy mężczyzn

	Wartość
R wielorakie	0,8552
Wielorakie R <sup>2</sup>	0,7313
Skorygowane R <sup>2</sup>	0,7241
р	0,0000000001
Błąd std. estymacji	8,09

model istotny statystycznie p<0,00001

	Standaryzowany	Błąd	Współczynnik	Błąd	Statystyka	р
	współczynnik	standardowy	regresji β	standardowy	t(62)	
N=39	regresji b	b		β		
W. wolny			66,39208	2,516209	26,3858	0,0000001
PBM	-0,855182	0,085213	-1,47552	0,147025	-10,0359	0,0000001

**wiek = 66,39 - 1,4755 \* X ± 8,1** R=0,8552 R<sup>2</sup>=73,13% Skoryg. R<sup>2</sup>=72,40%

	Wartość	Wartość	Reszta	Standaryzowana	Standaryzowana	Błąd	Odległość	Odległość
	obserwowana	przewidywana.		wartość	reszta	standardowy	Mahalnobisa	Cooka
				przewidywana		wartości		
						przewidywanej		
Minimum	22,0	22,7	-21,85	-1,67240	-2,70080	1,295482	0,000065	0,000012
Maksim.	81,0	62,6	18,7394	1,35240	2,31636	2,548601	2,796922	0,224980
Średnia	44,7	44,7	0,0000	0,00000	0,00000	1,806259	0,974359	0,025735
Mediana	44,0	48,2	0,2826	0,26571	0,03493	1,797105	0,900774	0,012262

**Tab. 37.** Wartości przewidywane i reszty badania zależności PBM i wieku dla grupy mężczyzn

**Ryc. 39.** Wykres rozrzutu wartości wieku obserwowanego i przewidywanego na podstawie modelu regresji liniowej jednowymiarowej dla grupy mężczyzn, predyktor PBM.



Predyktor - powierzchnia zajmowana przez blaszki międzysystemowe dla grupy kobiet



Ryc. 40. Wykres rozrzutu parametru PMB i wieku dla grupy kobiet

**Tab. 38.** Wyniki modelu regresji jednowymiarowej badającej zależność PBM i wieku dla grupy kobiet

	Wartość
R wielorakie	0,8997
Wielorakie R <sup>2</sup>	0,8095
Skorygowane R <sup>2</sup>	0,8012
р	0,000000009
Błąd std. estymacji	9,48

model istotny statystycznie p<0,00001

	Standaryzowany	Błąd	Współczynnik	Błąd	Statystyka	р
	współczynnik	standardowy	regresji β	standardowy	t(62)	
N=25	regresji b	b		β		
W. wolny			73,98615	2,870240	25,77699	0,0000001
PBM	-0,899755	0,090995	-2,22961	0,225486	-9,88800	0,0000001

wiek = 73,99 - 2,2296 \* X ± 9,5 R=0,8998 R<sup>2</sup>=80,96% Skoryg. R<sup>2</sup>=80,13%

	Wartość	Wartość	Reszta	Standaryzowana	Standaryzowana	Błąd	Odległość	Odległość
	obserwowana	przewidywana.		wartość	reszta	standardowy	Mahalnobisa	Cooka
				przewidywana		wartości		
						przewidywanej		
Minimum	22,0	16,0	-	-1,915	-1,868	1,9691	0,0753	0,0003
			17,71					
Maksim.	91,0	71,1	19,91	0,961	2,100	4,1645	3,6710	0,2040
Średnia	52,7	52,7	0,0	0,0	0,0	2,6082	0,9600	0,0354
Mediana	56,0	63,1	-1,07	0,542	-0,113	2,3905	0,5658	0,0161

Tab. 39. Wartości przewidywane i reszty badania zależności PBM i wieku dla grupy kobiet

**Ryc. 41.** Wykres rozrzutu wartości wieku obserwowanego i przewidywanego na podstawie modelu regresji liniowej jednowymiarowej dla grupy kobiet, predyktor PBM.



**6.3.1g** Predyktor - powierzchnia zajmowana przez osteony w polu widzenia (%), dla grupy ogólnej - oznaczenie w tabelach i rycinach jako POs



Ryc. 42. Wykres rozrzutu parametru POs i wieku dla grupy ogólnej

**Tab. 40.** Wyniki modelu regresji jednowymiarowej badającej zależność POs i wieku dla grupy ogólnej

	Wartość
R wielorakie	0,5995
Wielorakie R <sup>2</sup>	0,3594
Skorygowane R <sup>2</sup>	0,3491
р	1,656E-07
Błąd std. estymacji	14,67

model istotny statystycznie p<0,00001

	Standaryzowany	Błąd	Współczynnik	Błąd	Statystyka	р
	współczynnik	standardowy	regresji β	standardowy	t(62)	
N=64	regresji b	b		β		
W. wolny			87,83582	7,024465	12,50427	0,0000001
POs	-0,599496	0,101648	-1,39451	0,236448	-5,89776	0,0000001

wiek = 87,84 - 1,3945 \* X ± 14,7 R=0,5995 R<sup>2</sup>=35,94% Skoryg. R<sup>2</sup>=34,90%

	Wartość obserwowana	Wartość przewidywana.	Reszta	Standaryzowa na wartość przewidywana	Standaryzowana reszta	Błąd standardowy wartości	Odległość Mahalnobisa	Odległość Cooka
Minimum	22.0	20.9	-36.13	-2.471	-2.463	1 8353	0.0016	0.000004
Maksim.	91,0	69,1	34,56	1,954	2,355	4,9228	6,1102	0,1773
Średnia	47,8	47,8	0,0	0,0	0,0	2,4867	0,9843	0,0152
Mediana	47,0	48,1	-1,51	0,022	-0,103	2,1883	0,4176	0,0074

	Tab.	41.	Wartości	przewidy	wane i resz	ty badania	zależności	POs i	i wieku	dla grupy	ogólnej
--	------	-----	----------	----------	-------------	------------	------------	-------	---------	-----------	---------

**Ryc. 43.** Wykres rozrzutu wartości wieku obserwowanego i przewidywanego na podstawie modelu regresji liniowej jednowymiarowej dla grupy ogólnej, predyktor POs.



Predyktor - powierzchnia zajmowana przez osteony w polu widzenia dla grupy mężczyzn **Ryc. 44.** Wykres rozrzutu parametru POs i wieku dla grupy mężczyzn



**Tab. 42.** Wyniki modelu regresji jednowymiarowej badającej zależność POs i wieku dla grupy mężczyzn

	Wartość
R wielorakie	0,6516
Wielorakie R <sup>2</sup>	0,4246
Skorygowane R <sup>2</sup>	0,4091
р	7,012E-06
Błąd std. estymacji	11,84

model istotny statystycznie p<0,00001

	Standaryzowany	Błąd	Współczynnik	Błąd	Statystyka	р
	współczynnik	standardowy	regresji β	standardowy	t(62)	
N=39	regresji b	b		β		
W. wolny			78,92256	6,809848	11,58947	0,0000001
POs	-0,651641	0,124701	-1,28319	0,245558	-5,22562	0,000007

**wiek = 78,92 - 1,2832 \* X ± 11,8** R=0,6516 R<sup>2</sup>=42,46% Skoryg. R<sup>2</sup>=40,90%

	Wartość	Wartość	Reszta	Standaryzowana	Standaryzowana	Błąd	Odległość	Odległość
	obserwowana	przewidywana.		wartość	reszta	standardowy	Mahalnobisa	Cooka
				przewidywana		wartości		
						przewidywanej		
Minimum	22,0	24,0	-29,6	-2,066	-2,499	1,8957	0,00002	0,0001
Maksim.	81,0	61,79	25,5	1,692	2,158	4,3987	4,2713	0,2224
Średnia	44,7	44,79	0,0	0,0	-0,0	2,5976	0,9743	0,0265
Mediana	44,0	44,8	1,33	0,004	0,113	2,4063	0,5955	0,0083

Tab. 43. Wartości przewidywane i reszty badania zależności POs i wieku dla grupy mężczyzn

**Ryc. 45.** Wykres rozrzutu wartości wieku obserwowanego i przewidywanego na podstawie modelu regresji liniowej jednowymiarowej dla grupy mężczyzn, predyktor POs.



Predyktor - powierzchnia zajmowana przez osteony w polu widzenia dla grupy kobiet **Ryc. 46.** Wykres rozrzutu parametru POs i wieku dla grupy kobiet



**Tab. 44.** Wyniki modelu regresji jednowymiarowej badającej zależność POs i wieku dla grupy kobiet

v	
	Wartość
R wielorakie	0,8698
Wielorakie R <sup>2</sup>	0,7566
Skorygowane R <sup>2</sup>	0,7460
р	1,636E-08
Błąd std. estymacji	10,72

model istotny statystycznie p<0,00001

	Standaryzowany	Błąd	Współczynnik	Błąd	Statystyka	р
	współczynnik	standardowy	regresji β	standardowy	t(62)	
N=25	regresji b	b		β		
W. wolny			139,4173	10,47931	13,30405	0,0000001
POs	-0,869836	0,102869	-2,7221	0,32192	-8,45579	0,0000001

wiek = 139,42 - 2,7221 \* X ± 10,7 R=0,8698 R<sup>2</sup>=75,66% Skoryg. R<sup>2</sup>=74,60%
	Wartość	Wartość	Reszta	Standaryzowana	Standaryzowana	Błąd	Odległość	Odległość
	obserwowana	przewidywana.		wartość	reszta	standardowy	Mahalnobisa	Cooka
				przewidywana		wartości		
						przewidywanej		
Minimum	22,0	8,756	-22,9	-2,374	-2,141	2,144912	0,001206	0,00017
Maksim.	91,0	88,241	17,62	1,922	1,644	5,6194	5,6375	0,5288
Średnia	52,7	52,680	0,0	0,0	0,0	2,8764	0,9600	0,0499
Mediana	56,0	56,392	1,51	0,201	0,141	2,4783	0,3232	0,0099

Tab.	45.	Wartości	przewidy	wane i resz	ty badania	zależności	POs i	wieku d	la grupy	kobiet
					2					

**Ryc. 47.** Wykres rozrzutu wartości wieku obserwowanego i przewidywanego na podstawie modelu regresji liniowej jednowymiarowej dla grupy kobiet, predyktor POs.



**6.3.1h** Predyktor - powierzchnia zajmowana przez fragmenty - pozostałości po przebudowanych osteonach (%),dla grupy ogólnej - oznaczenie w tabelach i rycinach jako PFOs



Ryc. 48. Wykres rozrzutu parametru PFOs i wieku dla grupy ogólnej

**Tab. 46.** Wyniki modelu regresji jednowymiarowej badającej zależność PFOs i wieku dla grupy ogólnej

	Wartość
R wielorakie	0,8587
Wielorakie R <sup>2</sup>	0,7374
Skorygowane R <sup>2</sup>	0,7332
р	1,163E-19
Błąd std. estymacji	9,39

model istotny statystycznie p<0,00001

	Standaryzowany	Błąd	Współczynnik	Błąd	Statystyka	р
	współczynnik	standardowy	regresji β	standardowy	t(62)	
N=64	regresji b	b		β		
W. wolny			-15,157	4,916909	-3,08278	0,003059
PFOs	0,858723	0,06508	1,0736	0,081362	13,19490	0,0000001

wiek = -15,16 + 1,0736 \* X ± 9,4 R=0,8587 R<sup>2</sup>=73,74% Skoryg. R<sup>2</sup>=73,32%

	Wartość	Wartość	Reszta	Standaryzowana	Standaryzowana	Błąd	Odległość	Odległość
	obserwowana	przewidywana.		wartość	reszta	standardowy	Mahalnobisa	Cooka
				przewidywana		wartości		
						przewidywanej		
Minimum	22,0	15,9	-21,9	-2,041	-2,331	1,1743	0,0004	0,000008
Maksim.	91,0	70,6	25,0	1,458	2,666	2,6854	4,1657	0,1325
Średnia	47,8	47,8	0,0	0,0	0,0	1,6182	0,9843	0,0159
Mediana	47,0	50,6	0,46	0,179	0,049	1,5151	0,6553	0,0039

Tab. 47. Wartości przewidywane i reszty badania zależności PFOs i wieku dla grupy ogólnej

**Ryc. 49.** Wykres rozrzutu wartości wieku obserwowanego i przewidywanego na podstawie modelu regresji liniowej jednowymiarowej dla grupy ogólnej, predyktor PFOs.



Predyktor - powierzchnia zajmowana przez fragmenty - pozostałości po przebudowanych osteonach dla grupy mężczyzn



Ryc. 50. Wykres rozrzutu parametru PFOs i wieku dla grupy mężczyzn

**Tab. 48.** Wyniki modelu regresji jednowymiarowej badającej zależność PFOs i wieku dla grupy mężczyzn

	Wartość
R wielorakie	0,8606
Wielorakie R <sup>2</sup>	0,7406
Skorygowane R <sup>2</sup>	0,7336
р	2,162E-12
Błąd std. estymacji	7,95

model istotny statystycznie p<0,00001

	Standaryzowany	Błąd	Współczynnik	Błąd	Statystyka	р
	współczynnik	standardowy	regresji β	standardowy	t(62)	
N=39	regresji b	b		β		
W. wolny			-7,89538	5,277435	-1,49606	0,143119
PFOs	0,860577	0,083732	0,89635	0,087213	10,27780	0,0000001

**wiek = -7,9 + 0,8964 \* X ± 7,9** R=0,8606 R<sup>2</sup>=74,06% Skoryg. R<sup>2</sup>=73,36%

	Wartość	Wartość	Reszta	Standaryzowana	Standaryzowana	Błąd	Odległość	Odległość
	obserwowana	przewidywana.		wartość	reszta	stanadardowy	Mahalnobisa	Cooka
				przewidywan		wartości		
						przewidywanej		
Minimum	22,0	21,6	-19,3	-1,746	-2,429	1,2739	0,0015	0,000004
Maksim.	81,0	62,8	18,2	1,364	2,286	2,5871	3,0505	0,2277
Średnia	44,7	44,7	0,0	0,0	0,0	1,7658	0,9743	0,0283
Mediana	44,0	45,2	-0,12	0,038	-0,015	1,7177	0,8000	0,0091

 Tab. 49. Wartości przewidywane i reszty badania zależności PFOs i wieku dla grupy mężczyzn

**Ryc. 51.** Wykres rozrzutu wartości wieku obserwowanego i przewidywanego na podstawie modelu regresji liniowej jednowymiarowej dla grupy mężczyzn, predyktor PFOs.



Predyktor - powierzchnia zajmowana przez fragmenty - pozostałości po przebudowanych osteonach dla grupy kobiet



Ryc. 52. Wykres rozrzutu parametru PFOs i wieku dla grupy kobiet

**Tab. 50**. Wyniki modelu regresji jednowymiarowej badającej zależność PFOs i wieku dla grupy kobiet

	Wartość
R wielorakie	0,9311
Wielorakie R <sup>2</sup>	0,8670
Skorygowane R <sup>2</sup>	0,8612
р	1,473E-11
Błąd std. estymacji	7,92

model istotny statystycznie p<0,00001

	Standaryzowany	Błąd	Współczynnik	Błąd	Statystyka	р
	współczynnik	standardowy	regresji β	standardowy	t(62)	
N=25	regresji b	b		β		
W. wolny			-27,6040	6,744818	-4,09263	0,000447
PFOs	0,931139	0,076038	1,3696	0,111840	12,24576	0,0000001

**wiek = -27,60 + 1,3696 \* X ± 7,9** R=0,9311 R<sup>2</sup>=86,70% Skoryg. R<sup>2</sup>=86,12%

	Wartość	Wartość	Reszta	Standaryzowana	Standaryzowana	Błąd	Odległość	Odległość
	obserwowana	przewidywana.		wartość	reszta	standardowy	Mahalnobisa	Cooka
				przewidywana		wartości		
						przewidywanej		
Minimum	22,0	12,11	-	-2,048	-1,572	1,5850	0,0006	0,000318
			12,45					
Maksim.	91,0	81,8	16,50	1,471	2,082	3,6721	4,1963	0,392285
Średnia	52,68	52,68	0,0	0,0	0,0	2,1611	0,9600	0,047602
Mediana	56,0	60,46	-1,66	0,392	-0,209	1,9576	0,5054	0,015910

Tab. 51. Wartości przewidywane i reszty badania zależności PFOs i wieku dla grupy kobiet

**Ryc. 53.** Wykres rozrzutu wartości wieku obserwowanego i przewidywanego na podstawie modelu regresji liniowej jednowymiarowej, predyktor POs dla grupy kobiet.



#### 6.3.2. Wyniki nie istotne statystycznie.

6.3.2a Predyktor - długość obojczyka, cm. Analiza grupy składającej się z osób obojga płci.



Ryc. 54. Wykres rozrzutu parametru długość obojczyka i wieku.

**Tab. 52.** Wyniki modelu regresji jednowymiarowej badającej zależność długości obojczyka i wieku

	Wartość
R wielorakie	0,1901
Wielorakie R <sup>2</sup>	0,0361
Skorygowane R <sup>2</sup>	0,0206
р	0,1324
Błąd std. estymacji	17,99

Model nie jest istotny statystycznie p> 0,05.

	Standaryzowany współczynnik	Błąd standardowy	Współczynnik regresji β	Błąd standardowy	Statystyka t(62)	р
N=64	regresji b	b		β		
W. wolny			-13,5993	40,36346	-0,336921	0,737314
DŁUGOŚĆ OBOJCZYKA	0,190095	0,124684	4,2664	2,79836	1,524614	0,132441





6.3.2b Predyktor - szerokość obojczyka, cm. Analiza grupy składającej się z osób obojga płci.Ryc. 56. Wykres rozrzutu parametru szerokość obojczyka i wieku.



**Tab. 53.** Wyniki modelu regresji jednowymiarowej badającej zależność szerokości obojczyka i wieku

	Wartość
R wielorakie	0,1831
Wielorakie R <sup>2</sup>	0,0335
Skorygowane R <sup>2</sup>	0,0180
р	2,1518
Błąd std. estymacji	0,1475

Model nie jest istotny statystycznie p> 0,05.

Standaryzowany współczynnik	Błąd standardowy	Współczynnik regresji β	Błąd standardowy	Statystyka t(62)	р
regresji b	b	0 91	β		
		22,45129	17,45617	1,286152	0,203172
0,183146	0,124852	21,38031	14,57514	1,466903	0,147457
	Standaryzowany współczynnik regresji b 0,183146	Standaryzowany współczynnik regresji bBłąd standardowy b0,1831460,124852	Standaryzowany współczynnik regresji bBłąd standardowy bWspółczynnik regresji β22,451290,1831460,12485221,38031	Standaryzowany współczynnikBłądWspółczynnik regresji βBłądregresji bbβ22,451290,1831460,12485221,3803114,57514	Standaryzowany współczynnik regresji bBłądStatystyka standardowyBłądStatystyka t(62)regresji bbβ22,4512917,456171,2861520,1831460,12485221,3803114,575141,466903



**Ryc. 57.** Wykres rozrzutu wartości wieku obserwowanego i przewidywanego na podstawie modelu regresji liniowej jednowymiarowej, predyktor - szerokość obojczyka.

6.3.2c Predyktor - grubość obojczyka, cm. Analiza grupy składającej się z osób obojga płci.



Ryc. 58. Wykres rozrzutu parametru grubość obojczyka i wieku.



	Wartość
R wielorakie	0,2020
Wielorakie R <sup>2</sup>	0,0408
Skorygowane R <sup>2</sup>	0,0253
р	0,1095
Błąd std. estymacji	17,95

Model nie jest istotny statystycznie p> 0,05.

N=64	Standaryzowany	Błąd	Współczynnik	Błąd	Statystyka	р
	współczynnik	standardowy	regresji β	standardowy	t(62)	
	regresji b	b		β		
W. wolny			5,44081	26,21213	0,207568	0,836246
GRUBOŚĆ	0,201954	0,124383	45,60222	28,08634	1,623644	0,109526
OBOJCZYKA						



**Ryc. 59.** Wykres rozrzutu wartości wieku obserwowanego i przewidywanego na podstawie modelu regresji liniowej jednowymiarowej, predyktor - grubość obojczyka.

### 6.4. Wyniki modeli regresji wielowymiarowej

6.4.1 Wyniki modeli regresji wielowymiarowej dla grupy ogólnej

**Tab. 55.** Wyniki modelu standardowej regresji wielowymiarowej badającej zależność wszystkich parametrów i wieku dla grupy ogólnej.

	Wartość
R wielorakie	0,95773
Wielorakie R2	0,91724
Skorygowane R2	0,90520
р	0,000001
Błąd std. estymacji	5,59829

N=64	Standaryzowa	Błąd	Współczynni	Błąd	Statystyk	р
	ny	standardow	k regresji β	standardow	а	
	współczynnik	У		У	t(62)	
	regresji b	b		β		
W. wolny			138,6162	241,6943	0,57352	0,56863
						1
X1 - LICZBA OSTEONÓW	0,134508	0,089274	0,1212	0,0805	1,50668	0,13761
						4
X2 - LICZBA OSTEONÓW	-0,398152	0,295937	-0,5642	0,4194	-1,34540	0,18401
$O \text{ ŚREDNICY } > 70 \mu m$						8
X3 - ŚREDNIA ŚREDNICA	0,316338	0,120791	0,3911	0,1493	2,61888	0,01137
KANAŁÓW HAVERSA						7
X4 - % POWIERZCHNI	-0,601040	1,224408	-1,2036	2,4518	-0,49088	0,62546
BLASZEK						3
MIĘDZYSYSTEMOWYCH						
X5 - % POWIERZCHNI	-0,662448	1,035547	-1,5410	2,4088	-0,63971	0,52501
OSTEONÓW BEZ						8
PRZEBUDOWY						
X6 - % POWIERZCHNI	-0,835811	1,944053	-1,0449	2,4304	-0,42993	0,66892
FRAGMENTÓW PO						5
PRZEBUDOWANYCH						
OSTEONACH						
X7 - ŚREDNIA GRUBOŚC	-0,187562	0,068384	-0,0965	0,0352	-2,74277	0,00820
BLASZEK KOSTNYCH						7
ZEWNĘTRZNYCH						
X8 - % OSTEONÓW O	0,628066	0,267301	1,1585	0,4930	2,34966	0,02240
$\dot{S}$ REDNICY > 70 $\mu$ m						8

wiek = 138,61 + 0,1212 \* X<sub>1</sub> - 0,5642\*X<sub>2</sub> + 0,3911\*X<sub>3</sub> - 1,2036\*X<sub>4</sub> - 1,5410\*X<sub>5</sub> - 1,0449\*X<sub>6</sub> - 0,0965\*X<sub>7</sub> + 1,1585\*X<sub>8</sub>  $\pm$  5,6 R=0,95773 R<sup>2</sup>=91,72% Skoryg. R<sup>2</sup>=90,52%

**Tab. 56.** Wartości przewidywane i reszty badania zależności wszystkich predyktorów i wieku dla grupy ogólnej

	Wartość	Wartość	Reszta	Standaryzowana	Standaryzo	Błąd	Odległość	Odległość
	obserwo	przewidy		wartość	wana reszta	standardo	Mahalno	Cooka
	wana	wana.		przewidywana		wy	bisa	
						wartości		
						przewidy		
						wanej		
Minimum	22,0	19,87	-13,83	-1,606	-2,472	1,1227	1,549	0,000003
Maksim.	91,0	79,44	13,51	1,814	2,414	4,6841	43,120	0,287469
Średnia	47,8	47,84	0,0	0,0	0,0	1,9946	7,875	0,021601
Mediana	47,0	49,23	0,567	0,0801	0,101	1,7738	5,340	0,006988

**Ryc. 60.** Wykres rozrzutu wartości wieku obserwowanego i przewidywanego na podstawie modelu regresji liniowej wielowymiarowej standardowej dla grupy ogólnej



# **Tab. 57.** Wyniki modelu postępującej regresji wielowymiarowej badającej zależnośćwybranych parametrów i wieku dla grupy ogólnej.

	Wartość
R wielorakie	0,9557
Wielorakie R2	0,9135
Skorygowane R2	0,9060
р	0,00001
Błąd std. estymacji	5,5750

N=64	Standaryzowany	Błąd	Współczynnik	Błąd	Statystyka	р
	współczynnik	standardowy	regresji β	standardowy	t(62)	
	regresji b	b		β		
W. wolny			24,82576	16,70102	1,48648	0,142568
X <sub>3</sub> - ŚREDNIA	0,317494	0,107090	0,39253	0,13240	2,96473	0,004391
ŚREDNICA						
KANAŁÓW HAVERSA						
X <sub>6</sub> - % POWIERZCHNI	0,199493	0,135450	0,24940	0,16934	1,47282	0,146206
FRAGMENTÓW PO						
PRZEBUDOWANYCH						
OSTEONACH						
X <sub>7</sub> - ŚREDNIA	-0,194750	0,065175	-0,10018	0,03353	-2,98813	0,004110
GRUBOŚC BLASZEK						
KOSTNYCH						
ZEWNĘTRZNYCH						
X <sub>8</sub> - % OSTEONÓW O	0,265351	0,094702	0,48945	0,17468	2,80197	0,006893
$SREDNICY > 70\mu m$						
X <sub>5</sub> - % POWIERZCHNI	-0,112326	0,094066	-0,26129	0,21881	-1,19411	0,237295
OSTEONÓW BEZ						
PRZEBUDOWY						

wiek = 24,83 + 0,39253 \* X<sub>3</sub> - 0,26129 \* X<sub>5</sub> + 0,24940 \* X<sub>6</sub> - 0,10018 \* X<sub>7</sub> + 0,48945 \* X<sub>8</sub>  $\pm$  5,6 R=0,9557 R<sup>2</sup>=91,35% Skoryg. R<sup>2</sup>=90,60%

 Tab. 58.
 Wartości przewidywane i reszty badania zależności wybranych predyktorów modelu postępującej regresji wielowymiarowej i wieku dla grupy ogólnej

	Wartość	Wartość	Reszta	Standaryzo	Standaryzo	Błąd	Odległość	Odległość
	obserwow	przewidywana		wana	wana	standardow	Mahalnob	Cooka
	ana			wartość	reszta	У	isa	
				przewidyw		wartości		
				ana		przewidyw		
						anej		
Minimum	22,0	19,64	-14,55	-1,6228	-2,610	1,0172	1,112	0,000000
Maksim.	91,0	79,79	12,74	1,8385	2,285	3,0910	18,382	0,262841
Średnia	47,8	47,84	0,0	0,0	0,0	1,6530	4,921	0,022657
Mediana	47,0	48,92	0,414	0,0623	0,0742	1,5774	4,059	0,004703

**Ryc. 61.** Wykres rozrzutu wartości wieku obserwowanego i przewidywanego na podstawie modelu regresji liniowej wielowymiarowej postępującej dla grupy ogólnej



# **Tab. 59.** Wyniki modelu wstecznej regresji wielowymiarowej badającej zależnośćwybranych parametrów i wieku dla grupy ogólnej.

	Wartość
R wielorakie	0,9470
Wielorakie R2	0,8968
Skorygowane R2	0,8916
р	0,00001
Błąd std. estymacji	5,9851

N=64	Standaryzowany	Błąd	Współczynnik	Błąd	Statystyka	р
	współczynnik	standardowy	regresji β	standardowy	t(62)	
	regresji b	b		β		
W. wolny			38,78574	7,859324	4,93500	0,000007
X <sub>3</sub> - ŚREDNIA	0,612638	0,064555	0,75743	0,079813	9,49013	0,000000
ŚREDNICA						
KANAŁÓW						
HAVERSA						
X5 - %	-0,226978	0,046660	-0,52798	0,108538	-4,86450	0,000009
POWIERZCHNI						
OSTEONÓW BEZ						
PRZEBUDOWY						
X <sub>7</sub> - ŚREDNIA	-0,258801	0,061444	-0,13313	0,031606	-4,21201	0,000086
GRUBOŚC						
BLASZEK						
KOSTNYCH						
ZEWNETRZNYCH						

wiek = 38,78574 + 0,75743 \* X<sub>3</sub> - 0,52798\* X<sub>5</sub> - 0,13313\* X<sub>7</sub> ± 6,0 R=0,9470 R<sup>2</sup>=89,68% Skoryg. R<sup>2</sup>=89,16%

**Tab. 60.** Wartości przewidywane i reszty badania zależności wybranych predyktorów modeluwstecznej regresji wielowymiarowej i wieku dla grupy ogólnej

	Wartość	Wartość	Reszta	Standaryzo	Standaryzo	Błąd	Odległość	Odległość
	obserwow	przewidywana		wana	wana	standardow	Mahalnob	Cooka
	ana			wartość	reszta	У	isa	
				przewidyw		wartości		
				ana		przewidyw		
						anej		
Minimum	22,0	19,65	-15,84	-1,636	-2,648	0,8348	0,241	0,000003
Maksim.	91,0	79,57	16,40	1,842	2,740	3,2621	17,730	0,206599
Średnia	47,8	47,84	0,0	0,0	0,0	1,4314	2,953	0,019242
Mediana	47,0	47,34	-0,082	-0,0292	-0,0137	1,3863	2,397	0,004054

**Ryc. 62.** Wykres rozrzutu wartości wieku obserwowanego i przewidywanego na podstawie modelu regresji liniowej wielowymiarowej wstecznej dla grupy ogólnej



#### 6.4.2 Wyniki modeli regresji wielowymiarowej dla grupy mężczyzn

Tab. 61. Wyniki modelu standardowej regresji wielowymiarowej badającej zależność wszystkich parametrów i wieku dla grupy mężczyzn.

	Wartość
R wielorakie	0,95030
Wielorakie R2	0,90307
Skorygowane R2	0,87722
р	0,000001
Błąd std. estymacji	5,39645

N=39	Standaryzowa	Błąd	Współczynni	Błąd	Statystyk	р
	ny	standardow	k regresji β	standardow	а	
	współczynnik	У		У	t(62)	
	regresji b	b		β		
W. wolny			-116,734	572,7594	-	0,83987
					0,203809	9
X1 - LICZBA OSTEONÓW	0,139740	0,122661	0,104	0,0909	1,139232	0,26362
						2
X2 - LICZBA OSTEONÓW	-0,278356	0,430366	-0,371	0,5738	-	0,52268
$O \text{ ŚREDNICY } > 70 \mu m$					0,646788	7
X3 - ŚREDNIA ŚREDNICA	0,251057	0,171134	0,301	0,2053	1,467021	0,15277
KANAŁÓW HAVERSA						6
X4 - % POWIERZCHNI	0,706503	3,301942	1,219	5,6971	0,213966	0,83202
BLASZEK						1
MIĘDZYSYSTEMOWYCH						
X5 - % POWIERZCHNI	0,543753	2,920725	1,071	5,7514	0,186170	0,85356
OSTEONÓW BEZ						4
PRZEBUDOWY						
X6 - % POWIERZCHNI	1,446825	5,524929	1,507	5,7546	0,261872	0,79521
FRAGMENTÓW PO						0
PRZEBUDOWANYCH						
OSTEONACH						
X7 - ŚREDNIA GRUBOŚC	-0,099791	0,105633	-0,044	0,0465	-	0,35236
BLASZEK KOSTNYCH					0,944693	3
ZEWNĘTRZNYCH						
X8 - % OSTEONÓW O	0,536202	0,414088	0,996	0,7689	1,294901	0,20523
$SREDNICY > 70\mu m$						2
wiek = $-116,734 + 0.104$	* X <sub>1</sub> -0,371 *	$X_2 + 0.301$	$*X_3 + 1,219$	$X_4 + 1.07$	$1 * X_5 + 1$	,507 *
X <sub>6</sub> - 0,044 * X <sub>7</sub> + 0,996 *	$X_8 \pm 5,4$	_ ,	<i>c</i> ,	. ,	5	,

R=0,95030

 $R^2 = 90,31\%$ 

Skoryg. R<sup>2</sup>=87,72%

**Tab. 62.** Wartości przewidywane i reszty badania zależności wszystkich predyktorów i wieku dla grupy mężczyzn

	Wartość	Wartość	Reszta	Standaryzo	Standaryzo	Błąd	Odległo	Odległość
	obserwow	przewidywana		wana	wana	standardowy	ść	Cooka
	ana			wartość	reszta	wartości	Mahaln	
				przewidyw		przewidywan	obisa	
				ana		ej		
Minimum	22,0	22,25	-11,62	-1,536	-2,153	1,4995	1,960	0,000004
Maksim.	81,0	76,03	10,51	2,137	1,948	5,2419	34,881	0,808550
Średnia	44,7	44,74	0,0	0,0	0,0	2,4582	7,794	0,050253
Mediana	44,0	41,57	-0,085	-0,216	-0,015	2,1187	4,883	0,007703

**Ryc. 63.** Wykres rozrzutu wartości wieku obserwowanego i przewidywanego na podstawie modelu regresji liniowej wielowymiarowej standardowej dla grupy mężczyzn



**Tab. 63.** Wyniki modelu postępującej regresji wielowymiarowej badającej zależność wszystkich parametrów i wieku dla grupy mężczyzn.

	Wartość
R wielorakie	0,94759
Wielorakie R2	0,89792
Skorygowane R2	0,88591
р	0,000001
Błąd std. estymacji	5,20201

N=39	Standaryzowany	Błąd	Współczynnik	Błąd	Statystyka	р
	współczynnik	standardowy	regresji β	standardowy	t(62)	•
	regresji b	b		β		
W. wolny			4,441096	9,557114	0,46469	0,645116
X <sub>3</sub> - ŚREDNIA	0,308335	0,147392	0,369897	0,176820	2,09194	0,043985
ŚREDNICA						
KANAŁÓW HAVERSA						
X <sub>6</sub> - % POWIERZCHNI	0,384219	0,088903	0,400192	0,092599	4,32177	0,000128
FRAGMENTÓW PO						
PRZEBUDOWANYCH						
OSTEONACH						
X <sub>8</sub> - % OSTEONÓW O	0,247453	0,130869	0,459456	0,242989	1,89085	0,067191
ŚREDNICY > 70μm						
X <sub>7</sub> - ŚREDNIA	-0,104809	0,081813	-0,046149	0,036024	-1,28108	0,208836
GRUBOŚC BLASZEK						
KOSTNYCH						
ZEWNĘTRZNYCH						

wiek = 4,441096 + 0,369897 \* X<sub>3</sub> + 0,400192 \* X<sub>6</sub> - 0,046149\* X<sub>7</sub> + 0,459456 \* X<sub>8</sub> ± 5,2 R=0,94759 R<sup>2</sup>=89,79% Skoryg. R<sup>2</sup>=88,59%

**Tab. 64.** Wartości przewidywane i reszty badania zależności wybranych predyktorów modelu<br/>postępującej regresji wielowymiarowej i wieku dla grupy mężczyzn

	Wartość	Wartość	Reszta	Standaryzo	Standaryzo	Błąd	Odległo	Odległość
	obserwow	przewidywana		wana	wana	standardowy	ść	Cooka
	ana	•		wartość	reszta	wartości	Mahaln	
				przewidyw		przewidywan	obisa	
				ana		ej		
Minimum	22,0	21,9	-12,27	-1,564	-2,359	1,0631	0,612	0,000000
Maksim.	81,0	77,03	12,02	2,212	2,311	3,4496	15,736	1,024511
Średnia	44,7	44,7	0,0	0,0	0,0	1,7827	3,897	0,056630
Mediana	44,0	42,3	0,037	-0,165	0,0072	1,6082	2,657	0,007837

**Ryc. 64.** Wykres rozrzutu wartości wieku obserwowanego i przewidywanego na podstawie modelu regresji liniowej wielowymiarowej postępującej dla grupy mężczyzn



**Tab. 65.** Wyniki modelu wstecznej regresji wielowymiarowej badającej zależność wybranych parametrów i wieku dla grupy mężczyzn.

	Wartość
R wielorakie	0,9393
Wielorakie R2	0,8823
Skorygowane R2	0,8757
р	0,00001
Błąd std. estymacji	5,4290

N=39	Standaryzowany	Błąd	Współczynnik	Błąd	Statystyka	р
	współczynnik	standardowy	regresji β	standardowy	t(62)	
	regresji b	b		β		
W. wolny			-13,5053	3,703616	-3,64650	0,000834
X3 - ŚREDNIA ŚREDNICA KANAŁÓW HAVERSA	0,572557	0,086983	0,6869	0,104351	6,58237	0,000000
X <sub>6</sub> - % POWIERZCHNI FRAGMENTÓW PO PRZEBUDOWANYCH OSTEONACH	0,429141	0,086983	0,4470	0,090600	4,93360	0,000018

wiek = -13,5053 + 0,6869 \* X<sub>3</sub> + 0,4470 \* X<sub>6</sub>  $\pm$  5,4 R=0,9393 R<sup>2</sup>=88,23% Skoryg. R<sup>2</sup>=87,57%

**Tab. 66.** Wartości przewidywane i reszty badania zależności wybranych predyktorów modeluwstecznej regresji wielowymiarowej i wieku dla grupy mężczyzn

	Wartość	Wartość	Reszta	Standaryzo	Standarvzo	Bład	Odległość	Odległość
	obserwow	przewidywana		wana	wana	standardowy	Mahalnob	Cooka
	ana			wartość	reszta	wartości	isa	
				przewidyw		przewidywan		
				ana		ej		
Minimum	22,0	21,1	-13,89	-1,633	-2,560	0,8898	0,0464	0,000002
Maksim.	81,0	74,99	11,30	2,091	2,083	2,6257	7,9144	0,576500
Średnia	44,7	44,7	0,0	0,0	0,0	1,4477	1,9487	0,038792
Mediana	44,0	40,1	0,0502	-0,317	0,009	1,3455	1,3598	0,006226

**Ryc. 65.** Wykres rozrzutu wartości wieku obserwowanego i przewidywanego na podstawie modelu regresji liniowej wielowymiarowej wstecznej dla grupy mężczyzn



#### 6.4.3 Wyniki modeli regresji wielowymiarowej dla grupy kobiet

**Tab. 67.** Wyniki modelu standardowej regresji wielowymiarowej badającej zależność wszystkich parametrów i wieku dla grupy kobiet.

	Wartość
R wielorakie	0,98492
Wielorakie R2	0,97006
Skorygowane R2	0,95509
р	0,000001
Błąd std. estymacji	4,50685

N=25	Standaryzowany	Błąd	Współczynnik	Błąd	Statystyka	р
	współczynnik	standardowy	regresji β	standardowy	t(62)	
	regresji b	b		β		
W. wolny			-376,336	264,9104	-1,42061	0,174623
X <sub>1</sub> - LICZBA OSTEONÓW	0,64499	0,189149	0,716	0,2099	3,40995	0,003584
X2 - LICZBA OSTEONÓW	-1,62812	0,538883	-2,747	0,9091	-3,02129	0,008111
$O SREDNICY > 70 \mu m$						
X <sub>3</sub> - ŚREDNIA ŚREDNICA	0,32690	0,152310	0,434	0,2020	2,14631	0,047528
KANAŁÓW HAVERSA						
X <sub>4</sub> - % POWIERZCHNI	1,53452	1,125586	3,803	2,7892	1,36331	0,191663
BLASZEK						
MIĘDZYSYSTEMOWYCH						
X <sub>5</sub> - % POWIERZCHNI	1,03078	0,816841	3,226	2,5563	1,26191	0,225066
OSTEONÓW BEZ						
PRZEBUDOWY						
X <sub>6</sub> - % POWIERZCHNI	2,39812	1,764483	3,527	2,5953	1,35910	0,192964
FRAGMENTÓW PO					ļ	
PRZEBUDOWANYCH					ļ	
OSTEONACH					I	
X <sub>7</sub> - ŚREDNIA GRUBOŚC	-0,45646	0,090036	-0,304	0,0600	-5,06971	0,000114
BLASZEK KOSTNYCH					ļ	
ZEWNĘTRZNYCH						
X <sub>8</sub> - % OSTEONÓW O	1,65696	0,446475	3,414	0,9200	3,71121	0,001897
$SREDNICY > 70\mu m$						

wiek = -376,336 + 0,716 \* X<sub>1</sub> - 2,747 \* X<sub>2</sub> + 0,434 \* X<sub>3</sub> + 3,803 \* X<sub>4</sub> + 3,226 \* X<sub>5</sub> + 3,527 \* X<sub>6</sub> - 0,304 \* X<sub>7</sub> + 3,414 \* X<sub>8</sub>  $\pm$  4,5 R=0,98492 R<sup>2</sup>=97,0% Skoryg. R<sup>2</sup>=95,51%

## **Tab. 68.** Wartości przewidywane i reszty badania zależności wszystkich predyktorów i wieku dla grupy kobiet

	Wartość	Wartość	Reszta	Standaryzo	Standaryzo	Błąd	Odległość	Odległość
	obserwow	przewidywana		wana	wana	standardow	Mahalnob	Cooka
	ana			wartość	reszta	У	isa	
				przewidyw		wartości		
				ana		przewidyw		
						anej		
Minimum	22,0	16,06	-6,74	-1,747	-1,496	1,6374	2,208	0,000284
Maksim.	91,0	84,72	8,18	1,529	1,816	4,1796	19,681	0,589808
Średnia	52,6	52,68	0,0	0,0	0,0	2,6320	7,680	0,072890
Mediana	56,0	54,02	-0,141	0,064	-0,031	2,5007	6,429	0,029651

## **Ryc. 66.** Wykres rozrzutu wartości wieku obserwowanego i przewidywanego na podstawie modelu regresji liniowej wielowymiarowej standardowej dla grupy kobiet



**Tab. 69.** Wyniki modelu postępującej regresji wielowymiarowej badającej zależność wybranych parametrów i wieku dla grupy kobiet.

	Wartość
R wielorakie	0,98298
Wielorakie R2	0,96625
Skorygowane R2	0,95500
р	0,000001
Błąd std. estymacji	4,51145

N=25	Standaryzowany	Błąd	Współczynnik	Błąd	Statystyka	р
	współczynnik	standardowy	regresji β	standardowy	t(62)	
	regresji b	b		β		
W. wolny			-27,9627	20,16721	-1,38654	0,182516
X <sub>6</sub> - % POWIERZCHNI	0,10251	0,145222	0,1508	0,21360	0,70585	0,489316
FRAGMENTÓW PO						
PRZEBUDOWANYCH						
OSTEONACH						
X <sub>7</sub> - ŚREDNIA	-0,40311	0,081274	-0,2685	0,05413	-4,95988	0,000101
GRUBOŚC BLASZEK						
KOSTNYCH						
ZEWNĘTRZNYCH						
X <sub>8</sub> - % OSTEONÓW O	1,52740	0,433128	3,1472	0,89246	3,52644	0,002411
$SREDNICY > 70\mu m$						
X <sub>1</sub> - LICZBA	0,54156	0,171350	0,6009	0,19014	3,16057	0,005411
OSTEONÓW						
X <sub>2</sub> - LICZBA	-1,58986	0,537492	-2,6822	0,90679	-2,95793	0,008421
OSTEONÓW O						
ŚREDNICY > 70μm						
X <sub>3</sub> - ŚREDNIA	0,36406	0,150221	0,4828	0,19921	2,42346	0,026136
ŚREDNICA						
KANAŁÓW HAVERSA						

wiek = -27,9627 + 0,6009 \* X<sub>1</sub> - 2,6822 \* X<sub>2</sub> + 0,4828 \* X<sub>3</sub> + 0,1508 \* X<sub>6</sub> - 0,2685 \* X<sub>7</sub> + 3,1472 \* X<sub>8</sub>  $\pm$  4,5 R=0,98298 R<sup>2</sup>=96,62% Skoryg. R<sup>2</sup>=95,50%

**Tab. 70.** Wartości przewidywane i reszty badania zależności wybranych predyktorów modelu postępującej regresji wielowymiarowej i wieku dla grupy kobiet

	Wartość	Wartość	Reszta	Standaryzo	Standaryzo	Błąd	Odległość	Odległość
	obserwow	przewidywana		wana	wana	stanadardo	Mahalnob	Cooka
	ana			wartość	reszta	wy	isa	
				przewidyw		wartości		
				ana		przewidyw		
						anej		
Minimum	22,0	17,11	-6,523	-1,700	-1,445	1,3498	1,188	0,000059
Maksim.	91,0	84,16	8,113	1,506	1,798	3,9367	17,311	0,544310
Średnia	52,68	52,68	0,0	0,0	0,0	2,3217	5,760	0,062555
Mediana	56,0	55,89	-0,868	0,154	-0,192	2,1939	4,716	0,026368

**Ryc. 67.** Wykres rozrzutu wartości wieku obserwowanego i przewidywanego na podstawie modelu regresji liniowej wielowymiarowej postępującej dla grupy kobiet



## **Tab. 71.** Wyniki modelu wstecznej regresji wielowymiarowej badającej zależnośćwybranych parametrów i wieku dla grupy kobiet.

	Wartość
R wielorakie	0,9716
Wielorakie R2	0,9440
Skorygowane R2	0,9359
р	0,00001
Błąd std. estymacji	5,3826

N=25	Standaryzowany	Błąd	Współczynnik	Błąd	Statystyka	р
	współczynnik	standardowy	regresji β	standardowy	t(62)	
	regresji b	b		β		
W. wolny			35,08609	9,575546	3,66413	0,001446
X <sub>1</sub> - LICZBA	0,179753	0,054993	0,19946	0,061022	3,26868	0,003668
OSTEONÓW						
X <sub>7</sub> - ŚREDNIA	-0,441132	0,073765	-0,29380	0,049128	-5,98020	0,000006
GRUBOŚC BLASZEK						
SYSTEMOWYCH						
ZEWNĘTRZNYCH						
X <sub>8</sub> - % OSTEONÓW	0,527732	0,075762	1,08739	0,156107	6,96567	0,000001
O ŚREDNICY >						
70µm						

wiek = 35,08609 + 0,19946 \* X<sub>1</sub> - 0,29380 \* X<sub>7</sub> + 1,08739 \* X<sub>8</sub>  $\pm$  5,4 R=0,9716 R<sup>2</sup>=94,4%

Skoryg. R<sup>2</sup>=93,59%

**Tab. 72.** Wartości przewidywane i reszty badania zależności wybranych predyktorów modelu wstecznej regresji wielowymiarowej i wieku dla grupy kobiet

	Wartość obserwow	Wartość przewidywana	Reszta	Standaryzo wana	Standaryzo wana	Błąd stanadardo	Odległość Mahalnob	Odległość Cooka
	ana			wartość	reszta	wy	isa	
				ana		przewidyw		
						anej		
Minimum	22,0	17,37	-11,52	-1,708	-2,141	1,2372	0,3079	0,000004
Maksim.	91,0	82,27	11,51	1,432	2,138	3,6868	10,299	0,599578
Średnia	52,68	52,68	0,0	0,0	0,0	2,0881	2,8800	0,058350
Mediana	56,0	56,53	-0,5320	0,186	-0,098	2,0606	2,5574	0,018544

**Ryc. 68.** Wykres rozrzutu wartości wieku obserwowanego i przewidywanego na podstawie modelu regresji liniowej wielowymiarowej wstecznej dla grupy kobiet



- 6.5 Analiza porównawcza szlifów trzonu obojczyka człowieka ze szlifami, wykonanymi ze spalonych próbek kości, oraz ze szlifami kości udowych krowy i świni w świetle przechodzącym mikroskopu oraz w świetle spolaryzowanym przy powiększeniu x50 i x100.
- Fot. 36. Szlif trzonu obojczyka 59-letniego mężczyzny, światło przechodzące, powiększenie x50



Fot. 37. Szlif trzonu obojczyka 59-letniego mężczyzny, światło przechodzące, powiększenie x100



Fot. 38. (A, B) Szlif trzonu spalonego obojczyka 22-letniego mężczyzny, światło przechodzące, powiększenie x50



Fot. 39. Szlif trzonu spalonego obojczyka 22-letniego mężczyzny, światło przechodzące, powiększenie x100



Fot. 40. Szlif trzonu obojczyka 54-letniego mężczyzny, światło spolaryzowane, powiększenie x50



Fot. 41. Szlif trzonu obojczyka 54-letniego mężczyzny, światło spolaryzowane, powiększenie x100



Fot. 42. Szlif trzonu kości udowej świni, światło przechodzące, powiększenie x50



Fot. 43. Szlif trzonu kości udowej świni, światło spolaryzowane, powiększenie x50



Fot. 44. Szlif trzonu kości udowej krowy, światło przechodzące, powiększenie x50



Fot. 45. Szlif trzonu kości udowej krowy, światło spolaryzowane, powiększenie x50


### 6.6 Ocena struktury chemicznej tkanki kostnej.

W badaniach analizy najbardziej dokonano intensywnych pasm absorpcyjnych hydroksyapatytu z uwzględnieniem wybranych liczb falowych (v=cm<sup>-1</sup>) 562, 603, 1032 - charakterystycznych dla jonu PO<sub>4</sub><sup>-3</sup> ; 872, 1451 charakterystycznych dla jonu  $CO_3^{-2}$ ; 1662, 2932 - dla ugrupowania polipeptydowego (-CO-NH-) oraz 3318 - dla jonu (OH-). W ocenie ilościowej niepewność interpretacyjna mogła dotyczyć pasma absorpcji jonu  $OH^{-}$ (3318 cm<sup>-1</sup>) z uwagi na ewentualny interferencyjny wpływ struktury wody, wykazującej również aktywność absorpcyjną przy tej samej liczbie falowej. Intensywność wybranych pasm analitycznych przy określonej liczbie falowej określono metodą linii podstawowej zgodnie z podanymi wcześniej zasadami postępowania graficznego (rycina 5). Zmiany intensywności pasm absorpcji w zakresie 400-4000 cm<sup>-1</sup> dla poszczególnych wariantów wykonanych badań modelowych przedstawiają kolejne ryciny 69-72, a obserwowane wartości absorpcji zebrano w tabelach 73-76

### 6.6.1 Zmiany struktury mineralnej obojczyka zachodzące z wiekiem.

Ryc. 69. Graficzne przedstawienie intensywności pasm absorpcyjnych widm w zakresie liczby falowej 400-4000 cm<sup>-1</sup> dla próbek części zbitej obojczyka dzieci w różnym wieku.



**Tab. 73.** Intensywności pasm absorpcyjnych widm w zakresie liczby falowej400-4000 cm<sup>-1</sup> dla próbek części zbitej obojczyka dzieci w różnym wieku

Dzieci,	Warto	Wartości absorbancji - wybrane jony hydroksyapatytu, v=cm <sup>-1</sup>									
wiek	PO <sub>4</sub> <sup>-3</sup>		$CO_{3}^{-2}$		-CO-NH-		OH.				
	562	603	1032	872	1451	1662	2932	3318			
2	0,48	0,41	1,95	0,07	0,31	0,47	0,06	0,16			
7	0,34	0,28	1,95	0,09	0,38	0,45	0,05	0,21			
15	0,50	0,40	1,96	0,08	0,31	0,48	0,06	0,21			

Ryc. 70. Graficzne przedstawienie intensywności pasm absorpcyjnych widm w zakresie liczby falowej 400-4000 cm<sup>-1</sup> dla niektórych z wybranych próbek części zbitej obojczyka kobiet w różnym wieku.



**Tab. 74.** Intensywności pasm absorpcyjnych widm w zakresie liczby falowej 400-4000 cm<sup>-1</sup> dla próbek części zbitej obojczyka kobiet o zróżnicowanym wieku

Kobiety, wiek lata	Wartości absorbancji - wybrane jony hydroksyapatytu, v=cm <sup>-1</sup>							
	$PO_4^{-3}$			CO3 <sup>-2</sup>		-CO-NH-		OH.
	562	603	1032	872	1451	1662	2932	3318
22	0,46	0,38	1,35	0,11	0,29	0,40	0,04	0,18
38	0,42	0,36	1,34	0,08	0,31	0,41	0,04	0,21
48	0,49	0,41	1,65	0,10	0,32	0,43	0,06	0,16
53	0,47	0,39	1,66	0,09	0,30	0,42	0,04	0,18
61	0,47	0,39	1,95	0,10	0,32	0,41	0,06	0,19
86	0,49	0,37	1,95	0,09	0,30	0,37	0,08	0,42

**Ryc. 71.** Graficzne przedstawienie intensywności pasm absorpcyjnych widm w zakresie liczby falowej 400-4000 cm<sup>-1</sup> dla niektórych z wybranych próbek części zbitej obojczyka mężczyzn w różnym wieku.



**Tab. 75.** Intensywności pasm absorpcyjnych widm w zakresie liczby falowej 400-4000 cm<sup>-1</sup> dla próbek części zbitej obojczyka mężczyzn o zróżnicowanym wieku

Mężczyźni, wiek lata	Wartości absorbancji - wybrane jony hydroksyapatytu, v=cm <sup>-1</sup>							
	$PO_4^{-3}$			CO3 <sup>-2</sup>	$CO_3^{-2}$		-CO-NH-	
	562	603	1032	872	1451	1662	2932	3318
23	0,43	0,38	1,95	0,08	0,33	0,46	0,06	0,28
32	0,46	0,40	1,96	0,09	0,34	0,46	0,06	0,33
40	0,46	0,40	1,96	0,10	0,35	0,44	0,07	0,32
54	0,47	0,40	1,96	0,11	0,33	0,36	0,11	0,30
62	0,46	0,40	1,96	0,10	0,34	0,42	0,17	0,26
76	0,46	0,39	1,65	0,08	0,32	0,42	0,14	0,33
95	0,46	0,40	1,96	0,10	0,32	0,42	0,16	0,26

# 6.6.2 Różnice gatunkowe struktur kostnych w badaniach spektrofotometrycznych - IR

**Ryc. 72.** Graficzne przedstawienie intensywności pasm absorpcyjnych widm w zakresie liczby falowej 400-4000 cm<sup>-1</sup> dla próbek części zbitej obojczyka człowieka i kości udowej świni.



**Tab. 76.** Intensywności pasm absorpcyjnych widm w zakresie liczby falowej 400-4000 cm<sup>-1</sup> dla próbek części zbitej obojczyka człowiek i kości udowej krowi, świni i kury.

Gatunek kości	Wartości absorbancji - wybrane jony hydroksyapatytu, v=cm <sup>-1</sup>							
	PO <sub>4</sub> -3			$CO_{3}^{-2}$		-CO-NH-		OH.
	562	603	1032	872	1451	1662	2932	3318
człowieka	0,52	0,46	1,95	0,10	0,36	0,45	0,08	0,22
wołowa	0,48	0,39	1,94	0,10	0,30	0,44	0,05	0,20
kurczaka	0,49	0,41	1,96	0,09	0,28	0,42	0,05	0,20
świni	0,43	0,42	1,93	0,09	0,31	0,39	0,05	0,16

### 7. Dyskusja

W wykonanej pracy eksperymentalnej określono cechy metryczne oraz opisowe szlifów i odwapnionych preparatów obojczyków, które po wszechstronnej, wieloczynnikowej analizie statystycznej miały posłużyć do realizacji podstawowych założeń użytkowych, przydatnych w badaniach identyfikacyjnych medycyny sądowej. W realizowanym programie uwzględniono opracowanie optymalnej metody przygotowania preparatu histologicznego obojczyka dla określenia przynależności gatunkowej szlifu kości oraz wieku osoby identyfikowanej na podstawie morfometrycznego badania szlifu obojczyka. Analogicznie dokonano określenia stopnia zmian w mikrostrukturze kości po jej spaleniu z równoczesną możliwością określenia przynależności gatunkowej kości spalonej.

Wybrany materiał, który posłużył do oceny powyższych zagadnień badawczych stanowiły obojczyki lewe, które były pobrane podczas sekcji zwłok, wykonanych w latach 2005-2007 w Katedrze i Zakładzie Medycyny Sądowej Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu, oraz dodatkowo uwzględniano ocenę struktury kości udowej świni oraz kości udowej krowy. Do badań histologicznych zakwalifikowano 64 obojczyki lewe ze zwłok osób obojga płci w wieku od 22 do 91 lat, z których 39 obojczyków pochodziło ze zwłok mężczyzn, 25 - ze zwłok kobiet. Schemat ideowy podany w formie graficznej przedstawia rozkład ilościowy badanego materiału z uwzględnieniem określonych przedziałów wiekowych oraz płci osób badanych.



**Ryc. 73.** Rozkład badanego materiału z uwzględnieniem przedziału wiekowego i płci.

Pierwszym etapem prowadzonych badań było wybranie najbardziej odpowiedniej metody przygotowania preparatów histologicznych, która by pozwoliła ocenić mikromorfometrycznie poszczególne elementy tkanki kostnej. W tym celu zostały przygotowane preparaty histologiczne z trzonów obojczyków pochodzących od osób w wieku 23, 42, 56, 66 oraz 78 lat. Z każdego obojczyka został wykonany szlif kostny oraz trzy preparaty z fragmentów kości odwapnionych różnymi najczęściej stosowanymi metodami, w których użyto wodny roztwór wersenianu sodu 10% ( $C_{10}H_{14}N_2O_8Na_2*2H_2O$ ), roztwór 10% wersenianu sodu w formalinie 10%, oraz roztwór równych części stężonego kwasu mrówkowego i alkoholu 70%. Po zakończeniu procesu odwapniania preparaty zabarwiono hematoksyliną i eozyną. Proces przygotowania preparatów odwapnionych kości wymagał znacznego przedziału czasowego od 35 do 50 dni. Procedura przygotowania jednego preparatu szlifu kostnego zajmuje około 7-8 dni.

Po przeprowadzeniu badania porównawczego uzyskanego materiału kostnego stwierdzono, iż większość z preparatów histologicznych przygotowanych z zastosowaniem metody odwapnienia są słabo czytelne, co

przedstawiono na wykonanych zdjęciach (Fot. 1-5, A-D). Wszystkie otrzymane preparaty niezależnie od sposobu przeprowadzenia odwapnienia posiadały artefakty w postaci wzajemnego nakładania się kilku warstw tkanki kostnej na siebie, kruszenia się i rozdzielenia tkanki kostnej na liczne fragmenty, powstawanie niewielkich wolnych przestrzeni w tkance kostnej, niewielkich fragmentów tkanki kostnej o obłych kształtach zauważalnych w przedziałach jednego pola widzenia. Powyższe artefakty i wtórne zniekształcenia uniemożliwiają ocenę tkanki kostnej pod względem przynależności gatunkowej oraz oceny wieku szczątków, ponieważ ograniczają określenie najważniejszych charakterystycznych elementów mikroskopowej struktury tkanki kostnej. Powstanie tak znacznych artefaktów podczas przygotowania preparatów histologicznych może być spowodowane ograniczeniem czasowym procesu odwapniania do 40 dni, jak również niedoskonałością wybranych metod. W diagnostycznej ocenie porównawczej zwracają jednak na siebie uwagę nieodwapnione preparaty histologiczne W postaci szlifów kostnych. W preparatach tych całkowicie niezmiennie zachowana jest struktura histologiczna tkanki kostnej. Jedyną niedoskonałością tej metody może być zróżnicowana grubość szlifu kostnego, sięgająca często do 100µm. Jednak zgodnie z wcześniej przeprowadzonymi badaniami [102, 110] ustalono, iż grubość szlifu poniżej 100µm nie ma istotnego wpływu na rzetelność i obiektywność badań mikroosteometrycznych.

Wybranie lewych obojczyków do badań eksperymentalnych była spowodowana powszechnie znanym stwierdzeniem, iż większość populacji jest praworęczna, a mikroobraz tkanki kostnej w znacznym stopniu zależy od efektu siły mechanicznego działania na kość. [26, 46, 47, 85, 98] Powyższy fakt znalazł swoje potwierdzenie również podczas porównania szlifów kostnych wykonanych z różnych części tego samego obojczyka, co wynikało m. in. z porównania szlifu przygotowanego z fragmentu trzonu obojczyka, ze szlifami wykonanymi z fragmentów końca przyśrodkowego i bocznego. Okolice końców obojczyka są najbardziej obciążone działaniem sił mechanicznych ze strony przyczepów mięsni oraz więzadeł. Tak więc w miejscach, które były pobierane do badań, na obojczyk w okolicy końca bocznego swoje działanie wywierają więzadło stożkowe, oraz mięśnie: naramienny, podobojczykowy, czworoboczny; natomiast w okolicy końca przyśrodkowego więzadło żebrowo-obojczykowe i mięsnie: duży piersiowy, mostkowo-obojczykowo-sutkowy. W miejscu pobieranego fragmentu kości z okolicy trzonu obojczyka działanie mechaniczne wywiera jedynie mięsień podobojczykowy. [17, 92]

Powyższy fakt potwierdziło porównawcze badanie histologiczne 30 szlifów przygotowanych z 10 obojczyków z okolicy trzonu oraz pogranicza trzonu i końców przyśrodkowego i bocznego. Uzyskane wyniki przedstawiono na zdjęciach Fot. 6-35 (A-D).

Dla rutynowego badania morfometrycznego w każdym przypadku wybrano cztery pola widzenia preparatu o powiększeniu x50. Zbadane pola widzenia rozmieszczone na przeciwległych biegunach poprzecznego przekroju kości: przedni, tylny, górny i dolny; tuż przy brzegu zewnętrznym kości obejmowały warstwy blaszek zewnętrznych kości oraz warstwę osteonową kości zbitej. W wyniku przeprowadzonego badania zwrócono uwagę na to iż w poszczegulnych polach widzenia szlifów wykonanych z okolicy końców obojczyka liczba osteonów jest znacznie większa, niż w polach widzenia szlifów wykonanych z trzonu, a powierzchnia pola widzenia jest przeważnie zajęta osteonami. W szlifach obojczyków pochodzących od osób starszych co raz większa część powierzchni jest zajmowana przez fragmenty przebudowanych osteonów. W innych polach widzenia szlifów z okolic końców obojczyka liczba osteonów jest bardzo mała, rozmieszczone są nierównomiernie, a większość powierzchni badanego pola widzenia jest zajęta blaszkami kostnymi międzysystemowymi, nawet u osób w starszym wieku. Powyższy fakt znalazł swoje potwierdzenie w badaniach Chan i wsp., którzy stwierdzili istotne różnice w budowie histologicznej i tępie przebudowy w różnych miejscach tej samej kości z powodu odmiennych obciążeń mechanicznych. [26, 85, 110] Ze względu na to, iż gęstość mikrostruktur tkanki kostnej jest niejednorodna pomiędzy różnymi częściami tej samej kości w kolejnych etapach badania były oceniane jedynie szlify wykonane

z trzonu obojczyka, gdzie kość jest w najmniejszym stopniu obarczona czynnikami mechanicznymi.

Istotne znaczenie ma również wymiar analizowanej powierzchni. Jak to wynika z piśmiennictwa rozmiar analizowanej powierzchni szlifu powinien zależeć od tego, jaką kość pobrano do badania oraz od lokalizacji pobieranego fragmentu. Badania warstwy zbitej kości udowej według jednych danych wymiar powierzchni nie może być mniejszy od 2,06mm<sup>2</sup>, a według innych nie mniej niż 4mm<sup>2</sup>. Ingraham w swoich badaniach obojczyka przeanalizował powierzchnie o wymiarze 1,46mm<sup>2</sup> [18, 85, 95, 109]. W przeprowadzamym badaniu w celu uzyskania większej dokładności i precyzyjności wyników analizie została poddana powierzchnia szlifu o wymiarze 29,16mm<sup>2</sup>.

Najważniejszym elementem dla precyzyjnego ustalenia wieku szczątków ludzkich jest prawidłowe określenie parametrów obliczanych w badaniach mikromorfometrycznych, które wykazują największą zmienność z wiekiem.

Z przeanalizowanego piśmiennictwa wynika, iż większość z autorów w celu ustalenia wieku szczątków zwracałą uwagę na takie cechy mikroosteometryczne, jak:

- liczba osteonów i ich średnia średnica,
- powierzchnia zajmowana przez osteony,

• powierzchnia zajmowana przez fragmenty (pozostałości) po przebudowanych osteonach,

• powierzchnia zajmowana przez blaszki międzysystemowe,

• powierzchnia zajmowana przez blaszki kostne zewnętrzne i wewnętrzne oraz ich grubość,

- rozmiar zatok resorbcyjnych,
- średnice kanałów Haversa,
- odsetek powierzchni zajmowanej przez kanały Haversa,
- stosunek powierzchni zajmowanej przez osteony do ich liczby,

- stosunek powierzchni zajmowanej przez kanały Haversa do ich liczby,
- najmniejsza średnica kanału Haversa w polu widzenia,
- średnia liczba blaszek kostnych przypadających na osteon,

łączny procentowy udział osteonów i kanałów Haversa w polu widzenia mikroskopu. [3, 15, 20, 26, 31, 34, 37, 54, 55, 57, 66, 72, 74, 78, 93, 97, 99, 100, 103, 109, 110, 114]

Wyniki przeprowadzonych wcześniej badań wskazują na to, iż takie cechy jak ilość osteonów w polu widzenia, powierzchnia zajmowana przez osteony, powierzchnia zajmowana przez fragmenty po przebudowanych osteonach, powierzchnia zajmowana przez blaszki międzysystemowe, powierzchnia zajmowana przez blaszki kostne zewnętrzne i wewnętrzne oraz ich grubość, rozmiar zatok resorbcyjnych, średnice kanałów Haversa wykazują największą korelację zmiennych związanych z wiekiem. Niektórzy badacze przeprowadzali pomiary wielkości i grubości kości. Szczególną uwagę zwracała na siebie klasyfikacja osteonów wtórnych zaproponowana przez rosyjskich naukowców. Jednak z powodu znacznych trudności w różnicowaniu diagnostycznych elementów i form osteonów uwzględnionych w powyższej klasyfikacji, a także z powodu mniejszej dokładności tej metody w badaniach własnych odstąpiłam od uwzglądnienia elementów zaproponowanych przez Gladysheva Y. M. [34, 72, 74, 75, 78]

Po przeanalizowaniu aktualnego piśmiennictwa oraz po kompleksowym przeprowadzeniu badań mikroskopowych szlifów kostnych zwróciłam uwagę na to, iż z wiekiem zwiększa się szerokość kanału Haversa. Biorąc pod uwage to, że najczęściej średnica kanalu Haversa wynosi około 50 µm, w swojej pracy zwróciłam uwagę na ilość kanałów Havesra o średnicy powyżej 70 µm. Zwiększenie ilości osteonów z większą średnicą kanałów Haversa można wytłumaczyć zachodzącym z wiekiem zwiększeniem ilości osteonów znajdujących się w fazie resorbcji, kiedy średnica kanału Haversa się zwiększa przez aktywność osteoklastów i resorbcje blaszek osteonowych.

Biorąc pod uwagę powyższe obserwacje w swojej pracy dla oceny wieku szczątków kostnych uwzględniłam takie parametry, jak długość obojczyka, szerokość obojczyka, grubość obojczyka, liczbę osteonów w polu widzenia, liczbę osteonów z kanałem Haversa o średnicy powyżej 70µm, średnią średnicę kanałów Haversa (µm), powierzchnię zajmowana przez blaszki międzysystemowe (%), powierzchnię zajmowana przez osteony (%), powierzchnię zajmowaną przez fragmenty - pozostałości po przebudowanych osteonach (%), średnią grubość blaszek kostnych zewnętrznych, µm, stosunek liczby osteonów z kanałem Haversa o średnicy >70µm do ogólnej ilości osteonów (%).

Po przeanalizowaniu każdego z uzyskanych parametrów w czterech polach widzenia o łącznej powierzchni 29,16mm<sup>2</sup> uzyskano wyniki szczegółowe, które przedstawione w tabeli nr 2.

Analiza istotności statystycznej wykazała, iż z wybranych jedenastu parametrów najbardziej zmiennymi cechami istotnie różnicującymi wiek są: liczba osteonów w polu widzenia (IOs), liczba osteonów z kanałem Haversa o średnicy >70µm (KH >70µm), średnia średnica kanałów Haversa, µm (śr Ø KH), powierzchnia zajmowana przez blaszki międzysystemowe (PBM %), powierzchnia zajmowana przez osteony (POs %), powierzchnia zajmowana przez fragmenty - pozostałości po przebudowanych osteonach (PFOs %), średnia grubość blaszek kostnych zewnętrznych, µm (śr GBZ), stosunek liczby osteonów z kanałem Haversa o średnicy >70µm do ogólnej ilości osteonów (KH >70µm, %). Poziom istotności statystycznej dla oceny każdego z tych parametrów wyniósł p<0,00001.

Statystycznie istotne parametry zostały poddane analizie zmienności zachodzącej z wiekiem przy użyciu funkcji regresji liniowej jednowymiarowej pozwalającej określić wiek szczątków z nieustaloną płcią oraz z uwzględnieniem płci. Dla określenia potencjalnej diagnostycznej wartości użytkowej została obliczona również czułość metody dla każdej ze zbadanych cech. Współczynniki regresji liniowej jednowymiarowej dla wybranych parametrów diagnostycznych przedstawiono w tabeli 78.

	Grupa ogólna		Mężczy	źni	Kobiety		
	$R^2$ , %	R <sup>2</sup> skor., %	$R^{2},\%$	$\mathbf{R}^2$ skor., %	$R^2$ , %	$\mathbf{R}^2$ skor., %	
IOs	34,3	33,3	46,01	44,55	22,61	19,24	
KH >70µm	76,62	76,25	73,78	<mark>73,09</mark>	83,05	<mark>82,31</mark>	
śr Ø KH	82,33	<mark>82,04</mark>	80,27	<mark>79,73</mark>	83,62	<mark>82,91</mark>	
PBM	75,33	<b>74,93</b>	73,13	72,40	80,96	<mark>80,13</mark>	
POs	35,94	34,90	42,46	40,90	75,66	74,60	
PFOs	73,74	73,32	74,06	73,36	86,70	<mark>86,12</mark>	
śr GBZ	62,66	62,06	55,36	54,15	74,77	73,67	
KH >70µm, %	76,81	76,44	74,12	73,42	81,71	80,92	

**Tab. 77.** Współczynniki regresji liniowej jednowymiarowej dla każdegoz wybranych parametrów diagnostycznych.

Jak to wynika z powyższej tabeli, najlepszymi predyktorami wieku z zastosowaniem funkcji regresji liniowej jednowymiarowej jak w grupie ogólnej, tak i dla każdej z płci są: średnia średnica kanałów Haversa, liczba osteonów z kanałem Haversa o średnicy >70µm, stosunek liczby osteonów z kanałem Haversa o średnicy >70µm do ogólnej ilości osteonów, odsetek powierzchni zajmowanej przez blaszki międzysystemowe, odsetek powierzchni zajmowanej przez fragmenty - pozostałości po przebudowanych osteonach. Równocześnie należy zwrócić uwagę na fakt, iż w grupie kobiet, każdy z tych parametrów wykazuje nieco lepszą czułość diagnostyczną. Powyższe zbieżności mogą być związane z bardziej intensywnie postępującymi zmianami w utkaniu kostnym, które zachodzą z wiekiem w organizmie kobiet pod wpływem zmian hormonalnych w okresie menopauzalnym i postmenopauzalnym, jak również z większą liczebnością grupy kobiet w przedziałach wiekowych powyżej 60-go roku życia.

W celu weryfikacji pojedynczych przypadków mocno różniących się swoją wartością od typowych, została przeprowadzona analiza reszt. Taka analiza pozwala wychwycić nietypowe obserwacje, a następnie ocenić te przypadki dla stwierdzenia, czy wyznaczona wartość znacznie różniąca się od typowej jest spowodowana artefaktem w przygotowaniu próby, czy wynika z innych zewnętrznych przyczyn, a więc czy dany przypadek należy wykluczyć z grupy badawczej, co zwiększy dodatkowo precyzyjność wyników, czy jednak jest to spowodowane naturalnie postępującymi zmianami w organizmie człowieka, a wykluczenie takiej obserwacji spowoduje niewiarygodność wyników. Przeprowadzona w tej pracy analiza reszt wykazała, iż w wyniku oceny każdej z cech, skrajne wartości były stwierdzone w różnych próbach, co najprawdopodobniej było uwarunkowane naturalnie zachodzącymi zmianami w organizmie człowieka, a nie artefaktem podczas wykonania próby. W wyniku tej oceny ustalono, że z grupy badawczej nie był wyeliminowany żaden z analizowanych przypadków.

Dla każdej ze zbadanych cech opisujących daną wartość (predyktorów) dla grupy ogólnej oraz dla grup z uwzględnieniem płci zostały obliczone współczynnik wolny ( $\beta_0$ ), oraz współczynnik korelacji ( $\beta$ ) konkretnego modelu, błąd standardowy estymacji ( $\epsilon$ ). Powyższe wyniki zostały przedstawione w tabeli 79.

	Wyraz wolny β <sub>0</sub>	Współczynnik regresji β	Błąd estymacji ε	Współczynnik korelacji R	Współczynnik determinacji R <sup>2</sup> , %	Skorygowany współczynnik determinacji R <sup>2</sup> , %
LICZBA OSTEONÓW	-14,037	0,528	14,9	0,5854	34,3	33,3
mężczyźni	-13,185	0,503	11,5	0,6783	46,01	44,55
kobiety	-10,866	0,528	19,1	0,4755	22,61	19,24
LICZBA OSTEONÓW O ŚREDNICY > 70µm	27,279	1,240	8,9	0,8754	76,62	76,25
mężczyźni	30,176	1,145	8,0	0,8591	73,78	73,09
kobiety	17,934	1,537	8,9	0,9113	83,05	82,31
ŚREDNIA ŚREDNICA KANAŁÓW HAVERSA	-8,292	1,122	7,7	0,9073	82,33	82,04
mężczyźni	-5,329	1,075	6,9	0,8959	80,27	79,73
kobiety	-14,538	1,213	8,8	0,9145	83,62	82,91
% POWIERZCHNI BLASZEK MIĘDZYSYSTEMOWYCH	69,870	-1,738	9,1	0,8679	75,33	74,93
mężczyźni	66,392	-1,476	8,1	0,8552	73,13	72,40
kobiety	73,986	-2,230	9,5	0,8998	80,96	80,13
% POWIERZCHNI OSTEONÓW BEZ PRZEBUDOWY	87,836	-1,395	14,7	0,5995	35,94	34,90
mężczyźni	78,923	-1,283	11,8	0,6516	42,46	40,90
kobiety	139,417	-2,722	10,7	0,8698	75,66	74,60
% POWIERZCHNI FRAGMENTÓW PO PRZEBUDOWANYCH OSTEONACH	-15,158	1,074	9,4	0,8587	73,74	73,32
mężczyźni	-7,895	0,896	7,9	0,8605	74,06	73,36
kobiety	-27,604	1,370	7,9	0,9311	86,70	86,12
ŚREDNIA GRUBOŚC BLASZEK KOSTNYCH ZEWNĘTRZNYCH	89,756	-0,407	11,2	0,7916	62,66	62,06
mężczyźni	81,352	-0,328	10,4	0,7440	55,36	54,15
kobiety	104,041	-0,576	10,9	0,8647	74,77	73,67
% OSTEONÓW O ŚREDNICY > 70µm	26,229	1,617	8,8	0,8764	76,81	76,44
mężczyźni	28,303	1,599	7,9	0,8610	74,12	73,42
kobiety	18,811	1,863	9,3	0,9039	81,71	80,92

### **Tab. 78.** Zbiorcze zestawienie estymacji wieku analizą regresji jednowymiarowej.wiek = $\beta_0 + \beta X + \epsilon$

Wszystkie z zweryfikowanych modeli regresji liniowej jednowymiarowej można wykorzystać do predykcji wieku przy użyciu odpowiedniego równania:

wiek =  $\beta_0 + \beta X + \epsilon$ 

Statystycznie istotne parametry zostały również poddane analizie przy użyciu funkcji regresji liniowej wielowymiarowej w celu bardziej precyzyjnego ustalenia wieku szczątków kostnych z nieustaloną płcią oraz z uwzględnieniem znanej płci.

W modelu regresji wielowymiarowej wykonano obliczenie równania liniowego trzema metodami: metodą standardową tj. uwzględniającą wszystkie predyktory; metodą krokową postępującą, która dołącza do modelu te predyktory, które mają największy wpływ na wiek, ale są najsłabiej skorelowane między sobą; oraz metodą krokową wsteczną, która usuwa z modelu zbudowanego ze wszystkich predyktorów w kolejnych krokach te, które mają najmniejszy wpływ na wiek. Równocześnie została obliczona czułość dla każdej z zastosowanych metod. Powyższe wyniki są przedstawione zbiorczo w tabelach nr 80-82, w których uwzględniono następujące parametry diagnostycznopomiarowe:

 $X_1$  - liczba osteonów,

 $X_2$  - liczba osteonów z kanałem Haversa o średnicy >70 $\mu$ m,

 $X_3$  - średnia średnica kanałów Haversa,  $\mu m$ ,

X<sub>4</sub> - powierzchnia zajmowana przez blaszki międzysystemowe (%),

X<sub>5</sub> - powierzchnia zajmowana przez osteony (%),

- X<sub>6</sub> powierzchnia zajmowana przez fragmenty pozostałości po przebudowanych osteonach (%),
- $X_7$  średnia grubość blaszek kostnych zewnętrznych, µm,
- $X_8$  stosunek liczby osteonów z kanałem Haversa o średnicy >70µm do ogólnej ilości osteonów (%).
- β<sub>0</sub>, β<sub>1</sub>, β<sub>2</sub>,..., β<sub>i</sub> parametry liniowej funkcji regresji oszacowane na podstawie
  64-elementowej próby, składającej się z par obserwacji (x<sub>i</sub>, y<sub>i</sub>),

i - ilość badanych cech wykazujących istotność statystyczną,

 $\epsilon$  - błąd standardowy estymacji,

**R** – współczynnik korelacji wielowymiarowej

 $\mathbf{R}^2$  – współczynnik determinacji – mówi on o procencie wyjaśnionej zmienności wieku przez daną cechę w próbie,

 $\mathbf{R}^2$  skorygowane – korekcja współczynnika determinacji na całą populację.

Wszystkie ze zweryfikowanych modeli regresji liniowej można wykorzystać do ustalenia szacunkowego wieku przy użyciu wykresu typowego liniowego równania regresyjnego: wiek =  $\beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + ... + \beta i X i + \varepsilon$ 

**Tab. 79.** Zbiorcze zestawienie estymacji wieku analizą regresji wielowymiarowej dla grupy ogólnej

	Współczynniki regresji liniowej, $\beta_0, \beta_1, \beta_2, \dots, \beta_i$		
	standardowa	postępująca	wsteczna
LICZBA OSTEONÓW , X1	0,104	-	-
LICZBA OSTEONÓW O ŚREDNICY > 70µm, X2	-0,371	-	-
ŚREDNIA ŚREDNICA KANAŁÓW HAVERSA , X3	0,301	0,369897	0,6869
% POWIERZCHNI BLASZEK	1,219	-	-
MIĘDZYSYSTEMOWYCH , X4			
% POWIERZCHNI OSTEONÓW BEZ	1,071	-	-
PRZEBUDOWY, X5			
% POWIERZCHNI FRAGMENTÓW PO	1,507	0,400192	0,4470
PRZEBUDOWANYCH OSTEONACH , X6			
ŚREDNIA GRUBOŚC BLASZEK KOSTNYCH	-0,044	-0,46149	-
ZEWNĘTRZNYCH , X7			
% OSTEONÓW O ŚREDNICY > 70µm, X8	0,996	0,459456	-
Wyraz wolny $\beta_0$	-116,734	4,441096	-13,5053
Błąd estymacji ε	5,4	5,2	5,4
Współczynnik korelacji wielowymiarowej R	0,95030	0,94759	0,9393
Współczynnik determinacji R <sup>2</sup> , %	90,31	89,79	88,23
Skorygowany współczynnik determinacji R <sup>2</sup> , %	87,72	88,59	87,57

### Tab. 80. Zbiorcze zestawienie estymacji wieku analizą regresji wielowymiarowej dla grupy mężczyzn

	Współczynniki regresji liniowej, $\beta_0, \beta_1, \beta_2, \dots, \beta_n$			
	standardowa	postępująca	wsteczna	
LICZBA OSTEONÓW , X1	0,1212	-	-	
LICZBA OSTEONÓW O ŚREDNICY > 70µm , X2	-0,5642	-	-	
ŚREDNIA ŚREDNICA KANAŁÓW HAVERSA , X3	0,3911	0,39253	0,75743	
% POWIERZCHNI BLASZEK MIĘDZYSYSTEMOWYCH , X4	-1,2036	-	-	
% POWIERZCHNI OSTEONÓW BEZ PRZEBUDOWY, X5	-1,5410	-0,26129	-0,52798	
% POWIERZCHNI FRAGMENTÓW PO PRZEBUDOWANYCH OSTEONACH , X6	-1,0449	0,24940	-	
ŚREDNIA GRUBOŚC BLASZEK KOSTNYCH ZEWNĘTRZNYCH , X7	-0,0965	-0,10018	-0,13313	
% OSTEONÓW O ŚREDNICY > 70µm, X8	1,1585	0,48945	-	
Wyraz wolny	138,6162	24,82576	38,78574	
Błąd estymacji ε	5,6	5,6	6,0	
Współczynnik korelacji wielowymiarowej R	0,95773	0,9557	0,9470	
Współczynnik determinacji R <sup>2</sup> , %	91,72	91,35	89,68	
Skorygowany współczynnik determinacji R <sup>2</sup> , %	90,52	90,60	89,16	

## Tab. 81. Zbiorcze zestawienie estymacji wieku analizą regresji wielowymiarowej dla grupy kobiet

	Współczynniki regresji liniowej $\beta_0, \beta_1, \beta_2, \dots, \beta_i$ ,			
	standardowa	postępująca	wsteczna	
LICZBA OSTEONÓW , X1	0,716	0,6009	0,19946	
LICZBA OSTEONÓW O ŚREDNICY > 70µm, X2	-2,747	-2,6822	-	
ŚREDNIA ŚREDNICA KANAŁÓW HAVERSA , X3	0,434	0,4828	-	
% POWIERZCHNI BLASZEK	3,803	-	-	
MIĘDZYSYSTEMOWYCH , X4				
% POWIERZCHNI OSTEONÓW BEZ	3,226	-	-	
PRZEBUDOWY, X5				
% POWIERZCHNI FRAGMENTÓW PO	3,527	0,1508	-	
PRZEBUDOWANYCH OSTEONACH, X6				
ŚREDNIA GRUBOŚC BLASZEK KOSTNYCH	-0,304	-0,2685	-0,29380	
ZEWNĘTRZNYCH, X7				
% OSTEONÓW O ŚREDNICY > 70µm, X8	3,414	3,1472	1,08739	
Wyraz wolny $\beta_0$	-376,336	-27,9627	35,08609	
Błąd estymacji ε	4,5	4,5	5,4	
Współczynnik korelacji wielowymiarowej R	0,98492	0,98298	0,9716	
Współczynnik determinacji R <sup>2</sup> , %	97,0	96,62	94,4	
Skorygowany współczynnik determinacji R <sup>2</sup> , %	95,51	95,50	93,59	

Jak to wynika z powyższych tabel nr 80-82 przy zastosowaniu równania regresji wielowymiarowej dla predykcji wieku z uwzględnieniem wszystkich istotnych statystycznie parametrów skorygowany współczynnik determinacji wielowymiarowej jest bardzo wysoki i wynosi 90,52% dla grupy bez uwzględnienia płci szczątków, dla grupy męskiej wynosi 87,72%, a kobiecej - 95,51%, a błąd estymacji wynosi  $\pm 5,6$  lat w grupie ogólnej,  $\pm 5,4$  lata w grupie męskiej, a w grupie kobiecej  $\pm 4,5$  lata.

Przy zastosowaniu metody krokowej postępującej w grupie ogólnej zostały wyeliminowane takie parametry, jak liczba osteonów w polu widzenia, liczba osteonów z kanałem Haversa powyżej 70µm, oraz procentowy udział powierzchni blaszek międzysystemowych. W grupie męskiej dodatkowo do tych parametrów został wyeliminowany również procentowy udział powierzchni osteonów bez przebudowy. Z kolei w grupie kobiecej zostały wyeliminowane jedynie takie parametry, jak procentowy udział powierzchni blaszek międzysystemowych i osteonów bez przebudowy. Powyższe korekty w każdej z grup spowodowały niewielki, poniżej 1%, spadek współczynnika determinacji i nie spowodowało wzrostu błędu estymacji.

Przy zastosowaniu metody krokowej wstecznej w grupie ogólnej były uwzględnione jedynie średnie wartości średnicy kanałów Haversa, procentowy udział powierzchni osteonów bez przebudowy oraz średnia grubość blaszek kostnych zewnętrznych, co spowodowało niewielki spadek współczynnika determinacji na około 2% w stosunku do metody standardowej, a błąd estymacji wzrósł z  $\pm$ 5,6 lat do  $\pm$ 6 lat.

W męskiej grupie osobniczej w wyniku zastosowania metody krokowej wstecznej zostały uwzględnione takie parametry, jak średnia średnica kanałów Haversa, procentowy udział powierzchni fragmentów po przebudowanych osteonach oraz średnia grubość blaszek kostnych zewnętrznych, w wyniku czego współczynnik determinacji zmniejszył się również do około 2% w stosunku do metody standardowej, a błąd estymacji w porównaniu do metody standardowej został ten sam  $\pm 5,4$  roku.

W kobiecej grupie po zastosowaniu metody krokowej wstecznej dla określenia wieku były pozostawione takie parametry, jak liczba osteonów, średnia grubość blaszek kostnych zewnętrznych oraz procentowy udział liczby osteonów z kanałem Haversa o średnicy powyżej 70 $\mu$ m do ogólnej liczby osteonów, w wyniku czego współczynnik determinacji zmniejszył się na 2,6% w stosunku do metody standardowej do wartości 94,4%, a błąd estymacji wzrósł z ±4,5 roku do ±5,4 lat.

Badania prowadzone przez Kerley, uznanego za pioniera w ustaleniu wieku poprzez badania struktury mikroskopowej kości udowej wykazały, iż biorąc pod uwagę takie parametry, jak liczba całkowitych osteonów, liczba fragmentów zresorbowanych osteonów, powierzchnia międzysystemowych blaszek kostnych oraz liczba kanałów niehaversowskich były uzyskane wystarczająco wysokie wartości współczynnika determinacji - 95%, jednak błąd estymacji wynosił ±10 lat. [54, 55] Simon w swoich badaniach mikroskopowych kości potylicznej uwzględniał tylko liczbę osteonów pierwotnych, wtórnych oraz procentowy udział powierzchni zajmowanej przez fragmenty po przebudowanych osteonach oraz zajmowanej przez blaszki międzysystemowe. W wyniku takiego postępowania uzyskano dosyć niską wartość współczynnika determinacji -45,3%, co można wytłumaczyć bardzo małą liczebnością grupy - 17 mężczyzn w wieku od 20 lat do 70 lat. [72, 78] Prowadzone przez Nainisa badania mikrostruktury kości śródręcza osób obojga płci w wieku od 1 roku do 90 lat uwzględniały 21 parametrów, które wykazywały bardzo wysokie wartości współczynnika korelacji 90%, a błąd estymacji wynosił ±7,53 lat. W wyniku badań kości czołowych prowadzonych przez Zwiagina, który uwzględniał od 11 do 33 parametrów mikroskopowej budowy tkanki kostnej, uzyskano współczynnik determinacji od 74,1% do 84,8% w zależności od ilości uwzględnianych parametrów, a bład estymacji wynosił odpowiednio od ±4,3 lat do ±5,8 lat. [74] Badania prowadzone przez Nainisa oraz Zwiagina mają wysoki współczynnik determinacji i stosunkowo mały błąd estymacji, jednak poważną wada zaproponowanych przez nich postępowań jest to, iż uwzględniane w parametry są obliczane według klasyfikacji osteonów wtórnych badaniach

zaproponowanej przez Gladysheva. Jak to potwierdzono przez innych naukowców występują w tym przypadku poważne trudności podczas różnicowania elementów i form osteonów, co może prowadzić do błędnego obliczania i fałszywego oszacowania wieku szczątków korzystając z powyższej metody [72, 75]. Ingraham w swoich badaniach uwzględniał 4 parametry utkania mikroskopowego obojczyka: liczbę osteonów pierwotnych, osteonów wtórnych, procentowy udział powierzchni zajętej przez blaszki międzysystemowe oraz procentowy udział powierzchni zajętej przez fragmenty pozostałości po przebudowanych osteonach wtórnych. W wyniku wyprowadzenia równań regresji liniowej oraz regresji logarytmicznej zostały uzyskane wyniki, według których współczynnik determinacji wynosił 87,1% a standardowy bład estymacji był w granicach  $\pm 6,7$  lat. [48]

Badania wykazały, iż przeprowadzone przeze mnie wszystkie z uwzględnianych parametrów mikroskopowych są dość łatwe do określenia oraz obliczenia, a dla uzyskania wyniku z błędem estymacji wynoszącym do  $\pm$  6 lat wystarczającym uwzględnienie jedynie trzech parametrów jest mikroosteometrycznych. Dla uzyskania większej dokładności ustalenia wieku należy ustalić płeć szczątków przed wykonaniem badań mikroosteometrycznych, a następnie uwzględnić i wykorzystać wszystkie z obliczanych parametrów, co powoduje wzrost współczynnika determinacji do 91-97%, a standardowy błąd estymacji zmniejsza się do ±4,5-5,6 lat w zależności od zastosowanej metody.

W celu identyfikacji gatunkowej kości w pracy porównano mikroskopowy układ tkanki kostnej obojczyka człowieka z tkanką kostną kości udowych świni i krowy. Jeden z zabezpieczonych fragmentów kości człowieka był poddany obróbce termicznej w celu stwierdzenia możliwości identyfikacji gatunkowej kości po jej spaleniu do szarego spopielenia. Badania porównawcze szlifów wykazały, iż dla kości człowieka powyżej 20 roku życia charakterystyczne są takie cechy, jak kierunek przebiegu kanałów Haversa, który jest zawsze równoległy do długiej osi kości, badź pod niewielkim kątem do niej, całkowite zastapienie tkanki kostnej grubowłóknistej, tkanka blaszkowata. Z rozmieszczeniem osteonów wtórnych na całej powierzchni szlifu, zajęcie tkanką

kostną blaszkowatą odcinków pomiędzy poszczególnymi osteonami (tzw. blaszki międzysystemowe). Równocześnie obserwowano wielokrotną przebudowę zdecydowanej większości osteonów wtórnych, pojedyncze, rzadko spotykane kanały Folkmana (kanały łączące między sobą kanały Haversa), które są spotykane jedynie w warstwie centralnej kości. Wśród cech stwierdzonych podczas badania histologicznego kości świni i krowy zwrócono uwagę na takie podstawowe cechy wyróżniające gatunkowo kość, jak przebieg kanałów osteonów wtórnych, który jest równoległy do długiej osi kości, jak i poprzeczny, czasami kanały osteonów układają się w kształcie sieci. Stwierdza się również brak bądź rzadko spotykane cechy przebudowy osteonów wtórnych, obecność wysepek tkanki grubowłóknistej pomiędzy obszarami tkanki blaszkowatej w środkowej poprzecznego przekroju kości, znaczna ilość kanałów warstwie Folkmana rozmieszczonych we wszystkich warstwach kości. W wyniku badania histologicznego szlifu kości człowieka wykonanego po jej wcześniejszym spaleniu w temperaturze do powstania szarego spopielenia stwierdzono, że temperatura bezwzględnie wpływa degeneracyjnie na tkankę kostną powodując jej wysuszenie i zniszczenie organicznego (białkowo-lipidowego) komponentu kości, stwierdza się pęknięcia tkanki kostnej przechodzące od jej zewnętrznej warstwy w kierunku części centralnej, a szczeliny pęknięć łączą poszczególne kanały Haversa między sobą. Ponad to obserwuje się zniszczenie i wykruszenie zewnętrznych warstw kości. Powyższe zmiany strukturalno-histologiczne uniemożliwiają przeprowadzenie oceny typowych struktur, jak szerokość blaszek kostnych zewnętrznych oraz szerokość osteonów. Ograniczenia dotyczą również oceny procentowego udziału poszczególnych elementów kości na jej powierzchni, co uniemożliwia precyzyjne ustalenie wieku szczątków. Jednak należy zauważyć, że nadal zachowane są możliwe dla oceny takie cechy, jak równoległy do długiej osi kości przebieg kanałów Haversa, rozmieszczenie osteonów wtórnych na całej powierzchni szlifu i wielokrotna przebudowa ich zdecydowanej większości, obecność blaszek międzysystemowych, brak bądź rzadko spotykane kanały Folkmana. Powyższe obserwacje potwierdzają, iż nawet po ujawnieniu szczątków w postaci kości w stanie szarego spopielenia nadal możliwym jest przeprowadzenie oceny i określenia przynależności gatunkowej.

Analizie z wykorzystaniem spektrofotometrii w podczerwieni poddano 20 próbek, które zostały przygotowane z fragmentów części zbitej obojczyków osób obojga płci w wieku od 2 miesięcy do 95 lat. Dla celów porównawczych, przeanalizowano próbki pochodzące z fragmentów kości kury, krowy i świni.

Przeprowadzone badania dotyczyły wykorzystania spektrofotometrii w podczerwieni (IR-FT) w fazie stałej (KBr) w zakresie liczby falowej 400-4000 cm<sup>-1</sup> dla celu szybkiej identyfikacji struktury chemicznej kości przydatnej w rozstrzyganiu rutynowych problemów sądowo-lekarskich i toksykologicznych. [106]

Wyniki analiz poszczególnych etapów badań zostały przedstawione w postaci widm porównawczych (IR) zależności transmitancji [%] = f (v cm<sup>-1</sup>).

Identyfikacje przeprowadzono w oparciu o analizę spektrofotometryczną (IR) hydroksyapatytu [ $3Ca_3$  ( $PO_4$ )<sub>2</sub> · Ca (OH)<sub>2</sub>], podstawowego komponentu zawartego w strukturach kostnych, który w układzie polipeptydowym jest determinantem wysokiej intensywności pasm absorpcji w podczerwieni.

W badaniach porównawczych przeprowadzona została analiza spektrofotometryczna widm w podczerwieni obojczyka, z uwzględnieniem zróżnicowanych płci i wieku osób badanych, oraz czasu zgonu. Wybór obojczyka został uzasadniony jego najszybszym procesem mineralizacji w postępującym rozwoju osobniczym człowieka już we wczesnej fazie życia płodowego.

Za układ odniesienia przyjęto typowe widmo naturalnej struktury hydroksyapatytu, osadzonego w strukturze żelu białkowego.

W realizowanych badaniach, różnicujących skład mineralny kości w odniesieniu do płci i wieku osób badanych, analiza porównawcza dotyczyła pasm absorpcji typowych dla jonu fosforanowego, węglanowego, hydroksylowego oraz ugrupowania amidowego II-rzędowego (-CO-NH-).

Wyniki badania przedstawione w postaci widm IR, pokazały małoistotne zróżnicowanie w intensywności pików charakterystycznych dla jonu

162

fosforanowego i węglanowego. Zbliżoną intensywność absorpcji, w odniesieniu do badanych przypadków, obserwowano dla sygnału (v = 3318cm<sup>-1</sup>) typowego dla ugrupowania hydroksylowego. Stwierdzono również, że dla struktur białkowych intensywność pasm absorpcyjnych (v = 1662 cm<sup>-1</sup> i v = 2932 cm<sup>-1</sup>) były zbliżone.

W przeprowadzonym eksperymencie uwzględniono również ocenę porównawczą widm spektrofotometrycznych kości kobiet i mężczyzn.

Badania przeprowadzono na próbce z obojczyków pobranych od 6-ciu kobiet o zróżnicowanym wieku (22, 38, 48, 53, 61, 86 lat).

Opracowane wyniki analizy spektrofotometrycznej, w przypadku kobiet, nie pokazały istotnych różnic w intensywności transmisji w porównaniu z standardowym widmem apatytu hydroksylowego. Pewne różnice zaobserwowano jedynie dla sygnału jonu  $PO_4^{-3}$  (v=1032 cm<sup>-1</sup>), a mianowicie intensywność transmisji wykazała tendencje jej wzrostu z wiekiem. Równocześnie nie obserwowano zmian wartości transmisji przypisanej ugrupowaniu amidowemu, odpowiadający kolejnym próbkom wykonanym z kości kobiet o wzrastającym przedziale wiekowym.

Analiza uzyskanych wartości przeprowadzona była również dla zróżnicowanej grupy 7-miu mężczyzn (23, 32, 40, 54, 62, 76, 95 lat). Badania wykonane były analogiczną techniką w fazie stałej (KBr), tak samo jak w przypadku kobiet i dzieci.

Ocena uzyskanych widm wykazała podobną prawidłowość w zakresie liczb falowych odpowiadających wartości absorpcji jonów fosforanowego, węglanowego oraz organicznego amidowego połączenia białkowego. Przebieg poszczególnych pików absorpcji był zbliżony dla badanych zróżnicowanych przedziałów wiekowych.

W realizowanym programie badań, w spektrofotometrycznej analizie w podczerwieni dla celów porównawczych poddano także kość udową pochodzącą od różnych gatunków. Dla uwzględnienia różnic gatunkowych wykorzystana została kość udowa człowieka (mężczyzna 25 lat ) oraz kości udowe wybranych zwierząt ( świni, krowy) oraz kury. Ocena porównawcza otrzymanych widm wskazuje ten sam przebieg intensywności pasm absorpcyjnych w całym zakresie, typowym dla struktury hydroksyapatytu w układzie organicznych struktur, charakterystycznych dla polipeptydów. Wprawdzie można było zaobserwować pewne różnice w otrzymanych widmach przy poszczególnych liczbach falowych, ale były one jednak mało istotne i tym samym mało przydatne dla celów ilościowej analizy różnicujących dany gatunek.

Przeprowadzone badania kości potwierdziły jednoznacznie dużą przydatność spektrofotometrii w podczerwieni dla celów ich szybkiej identyfikacji stosowanej m. in. w medycynie sądowej, jako metody z wyboru. Wydaje się, że weryfikacja i dalsza standaryzacja etapu przygotowania próbki badanej kości do badań spektrofotometrycznych, poprzez eliminacje czynników prowadzących do wtórnej zmiany struktury hydroksyapatytu, a w szczególności jego odmiany węglanowej poprzez zastąpienie termicznej obróbki liofilizacją, może zwiększyć skuteczność parametrów identyfikacyjnych w zakresie ustalenia wieku.

Przedstawiony kompleksowy program badawczy posiadał charakter interdyscyplinarny i tylko w takim wymiarze można było go realizować w relacji praktycznych oczekiwań współczesnej medycyny sądowej.

### 8. Wnioski.

- Najlepszą metodą przygotowania tkanki kostnej do badań mikroskopowych w zakresie ustalenia wieku szczątków ludzkich jest wykonanie szlifów kostnych, których zastosowanie zapewnia zachowanie kształtu i wymiarów elementów histologicznej struktury tkanki kostnej, ogranicza występowanie artefaktów, oraz skraca czas całkowitego przygotowania preparatu w porównaniu z innymi metodami.
- 2. Najlepszym miejscem pobrania kości jest zabezpieczenie najbardziej oddalonego odcinka od okolicy przyczepu mięśni i ścięgien, którym jest trzon kości, bowiem jego badanie mikroskopowe zasadniczo zmniejsza ryzyko niewłaściwej interpretacji wyników badań spowodowanych wpływem czynnika mechanicznego na mikrostrukturę kości.
- 3. Wszystkie analizowane cechy mikroskopowe tkanki kostnej wykazują istotne statystycznie zmiany, zachodzące z wiekiem. Najlepszymi predyktorami wieku z zastosowaniem funkcji regresji liniowej jednowymiarowej jak w grupie ogólnej, tak i dla każdej z płci są: średnia średnica kanałów Haversa, liczba osteonów z kanałem Haversa o średnicy >70µm, stosunek liczby osteonów z kanałem Haversa o średnicy >70µm do ogólnej ilości osteonów, odsetek powierzchni zajmowanej przez blaszki międzysystemowe, odsetek powierzchni zajmowanej przez fragmenty pozostałości po przebudowanych osteonach.
- 4. Uzyskane wyniki badań mikroskopowych tkanki kostnej lewego obojczyka oparte o wymienione wyżej parametry pomiarowe w relacji ich statystycznej oceny, pozwalają na szacowanie wieku szczątków przy wykorzystaniu zaproponowanych równań regresji liniowej jednowymiarowej wiek =  $\beta_0$  +  $\beta X$  +  $\epsilon$ . Zaproponowane parametry pomiarowe badań mikroskopowych tkanki kostnej i ich zastosowanie w odpowiednich równaniach regresji liniowej mają wystarczającą precyzję i mogą znaleźć rutynowe praktyczne zastosowanie w ekspertyzie sądowo-lekarskiej.
- 5. Ustalenie wieku można uzyskać uwzględniając tylko trzy parametry mikroskopowe oraz dokonując odpowiedniego obliczenia według równania

regresji liniowej wielowymiarowej **wiek** =  $\beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + ...+ \beta i Xi + \epsilon$ . Kombinacja wybranych parametrów obliczeniowych dla grupy bez uwzględnienia płci to: średnia średnica kanałów Haversa, procentowy udział powierzchni osteonów bez przebudowy oraz średnia grubość blaszek kostnych zewnętrznych; dla grupy męskiej: średnia średnica kanałów Haversa, procentowy udział powierzchni fragmentów po przebudowanych osteonach oraz średnia grubość blaszek kostnych zewnętrznych; dla grupy kobiecej: liczba osteonów, średnia grubość blaszek kostnych zewnętrznych oraz procentowy udział liczby osteonów z kanałem Haversa o średnicy powyżej 70µm do ogólnej liczby osteonów.

- 6. Badania mikroskopowe szlifów trzonu obojczyka można wykorzystać do ustalenia przynależności gatunkowej kości, niezależnie od stanu jego spopielenia, a stopień takiego zniszczenia tkanki kostnej nie wpływa na cechy mikroskopowe odróżniające kość ludzką od kości krowy i świni.
- 7. Użycie spektrofotometrii w podczerwieni w zakresie promieniowania liczby falowej 400-4000cm<sup>-1</sup>, umożliwia dokonanie szybkiej identyfikacji kości podstawowego składnika mineralnego hydroksyapatytu \_  $(3Ca_3(PO_4)_3Ca(OH)_2)$  i jego odmiany węglanowej, z wykorzystaniem charakterystycznych pasm absorpcji typowych dla jonu fosforanowego  $(PO_4^{-3}),$  $(OH^{-1}),$  $(CO_3^{-2})$ hydroksylowego weglanowego oraz polipeptydowego ugrupowania amidowego (-CO-NH-).
- 8. Przeprowadzona ilościowa ocena intensywności charakterystycznych pasm absorpcji widm IR badanych kości metodą linii podstawowych nie wykazała istotnych różnic zmian ilościowych w zakresie ustalenia wieku, rozróżnienia płci czy gatunku i tym samym wskazuje na jej ograniczenia użytkowe w tym zakresie.

### 9. Streszczenie

Każdego roku na terenie całego kraju ujawnia się liczne zwłoki i szczątki ludzkie o nieustalonej tożsamości. Identyfikacja szczątków ludzkich jest problemem interdyscyplinarnych badań będących w równym stopniu wyzwaniem zarówno dla prokuratury, jak i medycyny sądowej.

Jednym z elementów identyfikacyjnych jest właściwa ocena obrazu histologicznego tkanki kostnej i jej składu chemicznego, albowiem niezależnie od niekwestionowanych badań genetycznych DNA, pomagają one odpowiedzieć na pytania odnośnie wieku osoby w chwili zdarzenia oraz ustalenia przynależności gatunkowej kości.

Wielokierunkowa ocena diagnostyczna została wykorzystana dla ustalenia wieku szczątków ludzkich, określenia elementów wyróżniających tkankę kostną człowieka od innych gatunków ssaków preparatach histologicznych tkanki kostnej oraz dodatkowo określono jej zmiany strukturalne w następstwie degradacji termicznej - wysokiej temperatury. Równocześnie przeprowadzono badania dotyczące oceny tkanki kostnej w zakresie szybkiego ustalenia jej struktury chemicznej za pomocą spektrofotometrii w podczerwieni IF Furiera (zakres 400-4000 cm<sup>-1</sup>). Równocześnie sprawdzono ewentualną przydatność do ustalenia zmian zachodzących z wiekiem lub występujących w układach gatunkowych.

W wyniku przeprowadzonych badań, ustalono iż najlepszym postępowaniem w przygotowaniu tkanki kostnej dla badań mikroskopowych w zakresie ustalenia wieku szczątków ludzkich jest metoda przygotowania szlifów kostnych z trzonu obojczyka. Po przeanalizowaniu obrazu mikroskopowego szlifów kostnych lewych obojczyków pochodzących ze zwłok 64 osób wykazano, iż najlepszymi predyktorami wieku z zastosowaniem funkcji regresji liniowej jednowymiarowej w grupie ogólnej, jak i dla każdej płci są: średnia średnica kanałów Haversa, liczba osteonów z kanałem Haversa o średnicy >70µm, stosunek liczby osteonów z kanałem Haversa o średnicy >70µm do ogólnej ilości osteonów, odsetek powierzchni zajmowanej przez blaszki międzysystemowe, odsetek powierzchni zajmowanej przez fragmenty - pozostałości po przebudowanych osteonach.

Uzyskane kompleksowe wyniki badań mikroskopowych tkanki kostnej lewego obojczyka oparte o wymienione wyżej parametry pomiarowe, pozwalają na szacowanie wieku szczątków przy wykorzystaniu zaproponowanych równań regresji liniowej jednowymiarowej (wiek =  $\beta_0 + \beta X + \epsilon$ ). Przeprowadzone badania wykazały, iż najwyższy współczynnik korelacji, który sięgał 82%, obserwowano przy użyciu parametru - średnia średnica kanałów Haversa. Dla uzyskania jeszcze bardziej dokładnych wyników warto korzystać Ζ zaproponowanych rozszerzonych równań regresji liniowej wielowymiarowej (wiek =  $\beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + ... + \beta_i X_i + \varepsilon$ ), ponieważ dla predykcji wieku z uwzględnieniem wszystkich istotnych statystycznie parametrów skorygowany współczynnik determinacji wielowymiarowej jest bardzo wysoki i może sięgać 95,5%. Zaproponowana analiza mikroskopowa szlifów trzonu obojczyka może być wykorzystana dla ustalenia przynależności gatunkowej kości zarówno nie zmienionej żadnymi czynnikami zewnętrznymi, jak i zdegradowanej termicznie.

Badania wykazały, iż spektrofotometria w podczerwieni w zakresie liczby  $400-4000 \text{ cm}^{-1}$ umożliwia falowej dokonanie szybkiej identyfikacji kości podstawowego składnika mineralnego hydroksyapatytu (3Ca<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>Ca(OH)<sub>2</sub>) i jego odmiany węglanowej obok polipeptydowego układu amidowego (-NH-CO-). Wykorzystanie charakterystycznych pasm absorpcji  $(PO_4^{-3})$ , hydroksylowego  $(OH^{-1})$ , dla jonu fosforanowego typowych węglanowego  $(CO_3^{-2})$  oraz ugrupowania amidowego (-NH-CO-) jest przydatne szybkiej jakościowej badanego materiału w ocenie dowodowego. Przeprowadzona ilościowa ocena intensywności charakterystycznych pasm absorpcji hydroksyapatytu (PO4-3, CO3-2) i ugrupowania poliamidowego (-NH-CO-) w widmach IR badanych kości nie wykazała istotnych różnic zmian ilościowych w zakresie ustalenia przedziałów wieku, rozróżnienia płci czy gatunku i tym samym wskazuje na jej ograniczenia użytkowe w tym zakresie.

Zrealizowany cel pracy stanowi przykład interdyscyplinarnego programu, którego charakteryzuje uniwersalizm niezbędny w realizacji nowoczesnej działalności naukowo-badawczej współczesnej medycyny sądowej i kryminalistyki.

### **10. Summary**

Every year and all over the country numerous dead bodies and unidentified human remains are discovered. The identification of human remains represents a problem for inter-disciplinary investigations, posing a challenge for both the public prosecutor and forensic medicine.

One of the elements of identification involves the appropriate evaluation of histological patterns in osseous tissue and its chemical composition since, independent of the highly valuable DNA genetic studies, it helps to estimate the age of the identified person at the time of his/her death and the species which the bones represent.

The multi-directional diagnostic evaluation is used to estimate the age of human remains, to define elements which differentiate human osseous tissue from histological preparations of bones originating from other mammalian species and, in addition, to define structural alterations developing due to exposure to thermal degradation due to high temperatures. In parallel, studies on osseous tissues were conducted to rapidly determine their chemical structure using Fourier infra-red spectrophotometry (wavelength range of 400 to 4000 cm<sup>-1</sup>) and identification of respective potential age- or species-dependent differences.

The studies results identified microscopic analysis of the ground preparations of the clavicle body as the optimum procedure to estimate the age of human remains. Analysis of microscopic patterns in ground preparations of left clavicles originating from 64 dead bodies demonstrated that in the entire group and for either gender the best predictors of the remnant's age using univariate linear regression function involved the mean diameter of the Haversian canal, number of osteons with Haversian canal of >70 $\mu$ m in diameter, ratio of the number of osteons, the fraction of the ground surface occupied by interstitial lamellae and the surface fraction occupied by fragments and the remains of transformed osteons. The complex results obtained by the microscopic analysis of the left clavicle bone and comprising the above listed measurable parameters allowed one to appraise the age of the remains using the suggested equations of the surface of linear

univariate regression (**age** =  $\beta_0 + \beta \mathbf{X} + \epsilon$ ). The results demonstrated that the highest correlation coefficient (reaching almost 82%) was obtained using the mean diameter of Haversian canals. For even more accurate results it proved to be advantageous to use the suggested extended equations of linear multivariate linear regression (**age** =  $\beta_0 + \beta_1 \mathbf{X}_1 + \beta_2 \mathbf{X}_2 + ... + \beta i \mathbf{X} i + \epsilon$ ), since in prediction of age using all statistically significant parameters the corrected coefficient if multivariate determination proved to be very high, reached even 95.5% accuracy. The suggested microscope analysis of ground clavicle body preparations may be used for the determination of a species to which the bone owner belonged, independent of whether the bone was intact by external conditions or thermally degraded.

The studies demonstrated that infra-red spectroscopy within the wavelength range of 400 to 4000cm<sup>-1</sup> allowed the rapid identification of the principal bone component, hydroxyapatite ( $3Ca_3(PO_4)_3Ca(OH)_2$ ) and its carbonate variety in line with the polypeptide amide (-NH-CO-) system. Detection of the absorption bands characteristic for phosphate ( $PO_4^{-3}$ ), hydroxy ( $OH^{-1}$ ), carbonate ( $CO_3^{-2}$ ) ions and those for the amide (-NH-CO-) group is useful for a rapid qualitative analysis of the studied material evidence. Quantitative analysis of the intensity manifested by absorption bands characteristic of hydroxyapatite ( $PO_4^{-3}$ ,  $CO_3^{-2}$ ) and polyamide (-NH-CO-) group in IR spectra of examined bones did not point to significant quantitative differences related to age range, gender or species and, thus, showed that such an analysis cannot be used for a respective differential analysis.

The study aims to provide an example of an inter-disciplinary programme, characterized by a universal approach, which is indispensable in the modern scientific/investigative activities of forensic medicine and criminology.

### 11. Piśmiennictwo

- Abdennagy B., Hott M., Marie P.J.: Effects of platelet-derived growth factor on human and mouse osteoblastic cells isolated from the trabecular bone surface. Cell Biology International Reports 1992; 16: 235-247.
- Abramov S. S.: Kompjuterizacija kraniofascialnoj identifikacii (metodologia i praktika). Rozprawa na stopień doktora habilitowanego nauk medycznych, Moskwa, 1998; - 358. Źródło: http://www.medpravo.ru/SudMed/Biblio/BiblioAuthor.htm
- 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.
- Akeson W. H., Woo SL., Rutharford L., Contis R.D., Consalves M.: The effects of rigidity of internal fixation plates on long bone remodeling. Acta Orthopaedica Scandinavica; 1976; 47: 241-249.
- Aronson J., Good B., Steward C. et al.: Preliminary Studies of Mineralisation During Distraction Osteogenesis. Clinical Orthopaedics, 1990; 250: 43-49.
- Aronson J., Harrison B.H., Stewart C.L., Harp J.H.: The histology of distraction osteogenesis using different external fixators. Clinical Orthopaedics, 1989; 241: 106-116.
- 7. Ashton B. et al.: Formation of bone and cartilage by marrow stromal cells in diffusion chambers in vivo. Clinical Orthopaedics, 1980; 151: 294-307.
- Aufdemorte T. B. et al.: An intraosseous device for studies of bone healing. The effects of transforming growth factor beta./. The Journal of Bone and Joint Surgery 1992; 74A: 1153-1161.
- 9. Avtandilov G. G.: Kompjuternaja mikrotelefotometrija w diagnosticzeskoj gistopatologii. Moskwa.: RMAPO, 1996. 256.
- Avtandilov G. G.: Medicinskaja morfometrija. Rukovodstvo. Moskwa, Medicina, 1990.- 384.

- 11. Avtandilov G. G.: Vvedenie w kolichestwennuju patologicheskuju morfologiju. Moskwa, 1980.- 213.
- Bab J., Ashton B.A., Gazit D., Marx G., Williamson M.C., Owen M.: Kinetics and differentiation of marrow stromal cells in diffusion chambers in vivo. Journal of Cell Science 1986; 84: 139-151.
- Bab J., Howlett C.R., Ashton B.A., Owen M.E.: Ultrastructure of bone and cartilage formed in vivo in diffusion chambers. Clinical Orthopaedics, 1984; 187: 243-254.
- 14. Babichev V. I.: Vozrastnye osobennosti razvitija bolshebercovoj kosti cheloveka v sudebno-medicinskom otnoshenii. Rozprawa na stopień doktora habilitowanego nauk medycznych, 1976, Voroniezh. Źródło: http://www.med-pravo.ru/SudMed/Biblio/BiblioAuthor.htm
- Baccino E, Ubelaker DH, Hayek LAC, Zerilli A.: Evaluation of seven methods of estimating age at death from mature human skeletal remains. Journal of Forensic Sciences, 1999, 44: 931-936.
- Bednarek J.: Metody oceny wieku w chwili śmierci w oparciu o histomorfometrię istoty zbitej tkanki kostnej. Archiwum Medycyny Sądowej i Kryminologii, 2008, 197-204.
- Bochenek A., Ciechanowski S., Krzyształowicz F., Loth E., Majewski K., Markowski J.: Anatomia człowieka. Tom I Anatomia ogólna: kości, stawy więzadła i mięśnie. red: Ciechanowski S., PZWL, Warszawa 1997, 438-440.
- Bonucci E.: The ultrastructure of the osteocyte. Ultrastructure of skeletal tissues. Bone and cartilage in health and disease. Kluwer Academic Publishers. Boston-Dordrecht-London 1990; 223-237.
- Boskey A.L., Karsenty G., McKee M.D.: Mineral Characterization of Bones and Soft Tissues in Matrix gla-protein Deficient Mice. w: Chemistry and Biology of Mineralized Tissues, red. Goldberg M., Boskey A., Robinson C., Chicago, American Academy of Orthopaedic Surgeons, 2000, 63-67.

- 20. Bouvier M. and Ubelaker D.H.: A comparison of two methods for the microscopic determination of age at death. American Journal of Physical Anthropology, 1977, 46: 391-394.
- Bowman B.M., Miller S.C.: The proliferation and differentiation of the bone-lining cell in estrogen-induced osteogenesis. Bone, 1986; 7: 351-357.
- Bradtmiller B, Buikstra JE, Lopez-Parra A.M, Alvarez S, Mesa MS, Bandres F, Arroyo-Pardo E.: Effects of burning on human bone microstructure: a preliminary study. American Journal of Physical Anthropology, 1984, 29: 535-540.
- Brookes M., Elkin A.C., Harrison R.G., Heald C.B.: A new concept of capillary circulation in bone cortex. Some clinical application. Lancet 1961, 1078-1081.
- Butler W.T.: Glycoproteins of bone and dentin. w: The chemistry and biology mineralized tissues. red: Butler W.T., EBSCO Media, Birmingham 1985, 303-306.
- Carrino E.D., Witzhandler M., Caplan A. I.: Proteoglycans synthesized during the cartilage to bone transition. w: The chemistry and biology of mineralized tissues, red: Butler W.T., EBSCO Media, Birmingham 1985, 197-208.
- 26. Chan A. H., CrowderC. M., Rogers T. L.: Variation in cortical bone histology within the human femur and its impact on estimating age at death. American Journal of Physical Anthropology, 2007,132,1, 80-88.
- Cornell C.N., Lane J.M.: Newest factors in fracture healing. Clinical Orthopaedics, 1992; 277: 297-311.
- Couchourel D., Escoffier C, Rohanizadeh R,: Effects of fibronectin on hydroxyapatite formation. Journal of Inorganic Biochemistry, 1999; 73: 129-136.
- 29. Crofts R. D., Boyce T. M., Bloebaum R. D.: Aging changes in osteon mineralization in the human femoral neck. Bone, 1994, 15: 147-152.

- Currey J. D.: Bones structure and mechanics. Princeton University Press, 2002, - 436.
- Currey J. D.: Some effects of ageing in human Haversian systems, Journal of Anatomy, 1964, 98: 69-75.
- 32. Dawson-Hughes B., Harris S.S., Krall E.A., Dallal G.E., Falconer G, Green C.L.: Rates of bone loss in postmenopausal women randomly assigned to one of two dosages of vitamin D. American Journal of Clinical Nutrition. 1995; 61: 1140-1145.
- 33. Delloye C, Delefortrie G., Coutelier L., Vincent A.: Bone Regenerate Formation in Cortical Bone During Distraction Lengthening. An Experimental Study. Clinical Orthopaedics, 1990; 250: 34-42.
- 34. Doncov B. G.: Vozrastnye osobennosti mikroskopiczeskogo stroenija i mineralizacii kostnoj tkani pleczewoj kosti czeloweka w sudebnomedicinskom otnoszenii. Rozprawa na stopień doktora habilitowanego nauk medycznych, Moskwa, 1977, 8-42. Źródło: http://www.medpravo.ru/SudMed/Biblio/BiblioAuthor.htm
- Dudar J. O, Pfeiffer S., Saunders S. R.: Evaluation of morphological and histological adult skeletal age-at-death estimation techniques using ribs. Journal of Forensic Sciences, 1993, 38: 677-685.
- Dziedzic-Goclawska A.: Tkanka kostna. W: Histologia. Ostrowski K. (red.) PZWL, Warszawa 1995: 244-304.
- 37. Ericksen M. F.: Histologic estimation of age at death using the anterior cortex of the femur. American Journal of Physical Anthropology, 1991, 84: 171-179.
- Eriksen E.F.: Normal and pathological remodeling of human trabecular bone: Three dimensional reconstruction of the remodeling sequence in normals and in metabolic bone disease. Endocrine Reviews, 1986; 7: 379-408.
- Felix R., Fleisch H., Elford PR.: Bone-resorbing cytokines enhance release of macrophage colony-stimulating activity by the osteoblastic cell line MC3T3-E1. Calcified Tissue International, 1989; 44: 356-360.

- 40. Frost H.M.: The biology of fracture healing. An overview for clinicans. Clinical Orthopaedics, 1989; 248: 283-293.
- 41. Frost H.M.: The skeletal intermediary organization. Metabolic Bone Disease and Related Research, 1983, 4: 281-290.
- Giles E and Klepinger LL.: Confidence intervals for estimates based on linear regression in forensic anthropology. Journal of Forensic Sciences, 1988, 33: 1218-1222.
- Gokhale J., Robey P.G., Boskey A.L.: The Biochemistry of Bone. w: Osteoporosis. red. Marcus R., Feldman D., Kesley J., Academic Press, San Diego, 2001.
- 44. Gospodarowicz D.: Fibroblast growth factor: chemical structure and biological function. Clinical Orthopaedics, 1990; 257: 231-248.
- Hunter G.K., Goldberg H.A.: Nucleation of hydroxyapatite by bone sialoprotein. Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA, 1993; 90: 8562-8565.
- 46. Ilizarow G.A.: The tension-stress effect on the genesis and growth of tissues. Part I. The influence of stability of fixation and soft-tissue preservation. Clinical Orthopaedics, 1989; 238: 249-281.
- Ilizarow G.A.: The Tension-Stress Effect on the Genesis and Growth of Tissues. Part II. The influence of Rate and Frequency of Distraction. Clinical Orthopaedics, 1989; 239: 263-285.
- 48. Ingraham M.R.: Histological age estimation of the midshaft clavicle using a new digital technique. Thesis prepared for the degree of master of science, Texas, 2004, -35.
- 49. Ingram R.T., Park Y.K., Clarke B.L., Fitzpatric L.A.: Age- and genderrelated changes in the distribution of osteocalcin in the extracellular matrix of normal male and female bone. Possible involvement of osteocalcin in bone remodeling. The Journal of Clinical Investigation, 1994, 93: 989-997.
- Iwaniec U. T., Crenshaw T. D., Schoeninger M. J., Stout S. D., Ericksen
   M.F.: Methods for improving the efficiency of estimating total osteon
density in the human anterior mid-diaphyseal femur, American Journal of Physical Anthropology, 1998 Sep;107: 13-24.

- 51. Johnson K.A., Howlet C.R., Bellenger C.R., Armati-Cukson P.: Osteogenesis by canine and rabbit bone marrow in diffusion chambers. Calcified Tissue International, 1988; 42: 113-118.
- 52. Jones S.J., Ali N.N., Boyde A: Survival and resorptive activity of chick osteoklasts in culture. Anatomy and embryology. 1986; 174: 265-275.
- Jowsey J.: Age changes in human bone. Clinical Orthopaedics, 1960, 17: 210-217.
- 54. Kerley E. R.: The microscopic determination of age in human bone. American Journal of Physical Anthropology, 1965, 23: 149-164.
- 55. Kerley E. R., Ubelaker D. H.: Revisions in the microscopic method of estimating age at death in human cortical bone. American Journal of Physical Anthropology, 1978, 49: 545-546.
- 56. Kim Y. S., Kim D. I., Park D. K., Lee J. H., Chung N. E., Lee W. T, Han S. H.: 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.
- 57. Kimura K.: Estimation of age at death from second metacarpals. Zeitschrift für Morphologie und Anthropologie, 1992, 79: 169-181.
- Kokot E, Ficek R.: Regulacja gospodarki wapniowej. Nowe aspekty patofizjologiczne. Polskie Archiwum Medycyny Wewnetrznej, 2000, 104: 621-630.
- 59. Königsberg L. W., Hens S. M., Jantz L. M., Jungers W. L.: Stature estimation and calibration: Bayesian and maximum likelihood perspectives in physical anthropology. American Journal of Physical Anthropology, 1998, Suppl. 27: 65-92.
- Krempien B., Geiger G., Ritz E.: Structural changes of cortical bone in secondary hyperparathyroidism: replacement of lamellar bone by woven bone. Virchows Archiv. A, Pathological anatomy and histology, 1975, 366: 249-256.

- Kukita T., McManus L. M., Miller M., Civin C., Roodman G. D.. Osteoclast-like cells formed in long-term human bone marrow cultures express a similar surface phenotype as authentic osteoclasts. Laboratory Investigation, 1989, 60: 532-538.
- 62. Kukita T, Roodman G.D.: Development of monoclonal antibody to osteoclasts formed in vitro which recognizes mononuclear osteoclasts precursors in the marrow. Endocrinology. 1989; 125: 630-637.
- Kuryszko J., Zarzycki J.: Histologia zwierząt. PWRiL, Warszawa 2000: 139-158.
- Lewis D.B., Liggitt H.D., Effmann E.L., Motley ST., Teitelbaum S.L., Jepsen K.J., Goldstein S.A., Bonadio J., Carpenter J., Perlmutter R.M.: Osteoporosis induced in mice by overproduction of interleukin 4. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 1993; 90: 11618-11622.
- London M. R., Libbey N. P., Shemin D. G, Chazan J. A.: Renal osteodystrophy and dialysis artifacts as indicators of identification. Forensic Science International, 1994 65: 81-96.
- Lynnerup N., Thomsen J.L., Fröhlich B.: Intra- and inter-observer variation in histological criteria used in age at death determination based on femoral cortical bone Forensic Science International, 1998, 91: 219-230.
- 67. Lovejoy C.O., Meindl R.S., Mensforth R.P., Barton T.J.: Multifactorial determination of skeletal age at death: a method and blind tests of its accuracy. American Journal of Physical Anthropology, 1985, 68: 1-14.
- 68. Macchiarelli R, Bondioli L.: Linear densitometry and digital image processing of proximal femur radiographs: Implications for archaeological and forensic anthropology. American Journal of Physical Anthropology, 1994, 93: 109-122.
- Marie P.J. Lomri A., Sabbagh A., Basel M.: Culture and behavior of osteoblastic cells isolated from normal trabecular bone surfaces. In Vitro Cellular and Developmental Biology. 1989, 25: 373-380.

- 70. Menton D.N., Simmons D.J., Plurad S.B.: A cellular investment of bone marrow. The Anatomical record., 1982, 203: 157-164.
- Miller S.C., Bowman B.M., Smith J.M.: Characterisation of endosteal bone-lining cells from fatty marrow sites in adult beagles. The Anatomical record., 1980, 198: 163-173.
- 72. Mordasow. V. F.: Sudebno-medicinskoe ustanovlenie vozrasta cheloveka po mikrostrukture bedrennoj kosti. Rozprawa na stopień doktora habilitowanego nauk medycznych, Voronezh, 1988, -188.
- Mosekilde L.I.: Consequence of the remodeling process for vertebral trabecular bone structure: a scanning electron microscopy study. Bone Miner, 1990, 10: 13-35.
- 74. Nainis I. V.: Identifikacija lichnosti po proksimalnym kostiam konechnostej. 1972, Izdatelstwo "Mintis" 1972, 5-14
- 75. Nekludov Y. A.: Ekspertnaja ocenka wozrastnyh izmenenij skeleta werhnih konechnostej. Saratov, 1992, 124.
- Niedzwiedzki T. Kuryszko J. J.: Biologia kości. Wydawnictwo naukowe PWN, Warszawa, 2007, - 133.
- 77. Nyssen-Behets C., Duchesne P.Y., Dhem A.: Structural changes with aging in cortical bone of the human tibia. Gerontology 1997; 43: 316-325.
- Osipenkova-Vichtomova T. K.: Sudebno-gistologicheskaja ekspertiza kostej. Moskwa, VIKRA, 2000, - 144.
- Paaver K.: Izmenchivost osteonnoj organizacii mlekopitajuschih. Tallin, Valgus, 1973, - 243.
- 80. Parfitt A.M.: Quantum concept of bone remodeling and turnover: implications for the pathogenesis of osteoporosis. Calcified Tissue International, 1970, 28: 1-7.
- Parfitt A.M., Kleerekoper M.: The divalent ion homeostatic system: physiology and metabolism of calcium, phosphorus, magnesium and bone.
  w: Clinical disorders of fluid and electrolyte metabolism, red: Maxwell M., Kleeman C.R. McGraw-Hill, New York, 1980, 947-1152.

- 82. Parfitt A.M.: The physiologic and clinical significance of bone histomorphometric data. w: Bone histomorphometry, techniques and interpretation. red: Recker RR, CRC Press, Boca Raton 1983, 143-222.
- Parfitt A.M.: Age related structural changes in trabecular and cortical bone: cellular mechanisms and biomechanical consequences. Calcified Tissue International, 1984, 36: 123-128.
- 84. Parfitt A.M.: Trabecular bone architecture in the pathogenesis and prevention of fracture. American Journal of Medicine, 1987, 82: 68-72.
- Pfeiffer S., Lazenby R., Chiang J.: Brief Communication: Cortical remodeling data are affected by sampling location. American Journal of Physical Anthropology, 1995, 96, 89-92.
- Pigolkin Y. I., Fedulova M. V., Goncharova N. N.: Mikroosteometrija kak metod opredelenija wozrasta po kostnym ostankam. Sudebnomedicinskaja ekspertiza. - 2001, 44: 43-51.
- Raszeja S., Nasiłowski W., Markiewicz J.: Medycyna sądowa. Podręcznik dla studentów. PZWL, Warszawa, 1993.
- 88. Revell P.A.: Patologia kosti. Moskwa, Medicina, 1993, 11-49, 250-286.
- Richman E. A., Ortner D. J., Schulter-Ellis F. P.: Differences in intracortical bone remodeling in three aboriginal American populations: possible dietary factors. Calcified Tissue International, 1979 6: 209-14.
- Russell K. F., Simpson S. W., Genovese J., Kinkel M. D., Meindl R. S., Lovejoy C. O.: Independent test of the fourth rib aging technique. American Journal of Physical Anthropology, 1993, 92: 53-62.
- 91. Scheuer L, Sue M. Black.: The juvenile skeleton Elsevier, 2004, 245-248.
- Sinelnikov R. D. Atlas anatomii cheloveka. red. Shvecov M. I., Mecicina, Moskwa, 1967, 110-116, 331-335.
- 93. 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: 373-81.

- 94. Squillante R. G., Williams J. L.: Videodensitometry of osteons in females with femoral neck fractures. Calcified Tissue International, 1993, 52: 273-277
- 95. Stout S.D., Gehlert S.J.: Effects of field size when using Kerley's histological method for determination of age at death. American Journal of Physical Anthropology, 1982, 58: 123-125.
- 96. Stout S. D.: Histomorphometric Analysis of Human Skeletal Remains., w: Reconstruction of Life From the Skeleton, red: Iscan MY, Kennedy K.A.R, Willey-Liss, 1989, 41-52.
- 97. Stout S. D.: The application of histological techniques for age at death estimation., w: Forensic Osteology: Advances in the Identification of Human Remains red. Reichs K J. (ed.), Bass W.M., Charles C Thomas Publisher, 1998, 237-252.
- Stout S. D.: The effects of long-term immobilization on the histomorphology of human cortical bone., Calcified Tissue International, 1982, 34, 337-342.
- 99. Stout S.D., Stanley S.C.: Percent osteonal bone vs. osteon counts: The variable of choice for estimating age at death. American Journal of Physical Anthropology, 1991, 86: 515-519.
- 100. Stout S.D., Porro M.A., Perotti B.: Brief communication: A test and correction of the clavicle method of Stout and Paine for histological age estimation of skeletal remains. American Journal of Physical Anthropology, 1996, 100: 139-142.
- Stout S. D., Gehlert S. J.: The relative accuracy and reliability of histological aging methods. Forensic Science International, 1980, 15, 181-190.
- Stout S. D.: The use of histomorphology to estimate age. Journal of Forensic Sciences, 1988, 33, 121--125.
- Stout S. D., Paine R. R.: Brief communication: histological age estimation using rib and clavicle. American Journal of Physical Anthropology, 1992, 87: 111-115.

- 104. Suchey J.M., Katz D.: Applications of pubic age determination in a forensic setting. w: Forensic Osteology: Advances in the Identification of Human Remains. red: Reichs K. J., Springfield, Charles C. Thomas, 1998, 204-236.
- 105. Sugiyama T, Kusuhara S: Ultrastructural changes of osteoclasts of hen medullary bone during the egg-laying cycle. British Poultry Science. 1993, 34: 471-477.
- Szczepaniak W. Metody instrumentalne w analizie chemicznej. Wydawnictwo naukowe PWN, Warszawa, 2002, 127-128.
- 107. Takahashi N., Kukita T., MacDonald B.R.: Osteoklast-like cells from long term human bone marrow but not in peripheral blood cultures. The Journal of Clinical Investigation, 1989, 83: 543-550.
- 108. Takeshita N., Yoshino T., Mutoh S., Yamaguchi I.: Possible involvement of vitamin D3-deficiency and relatively enhanced bone resorption in the development of bone loss in streptozotocin-induced diabetic rats. Life Sciences, 1994, 55: 291-299.
- 109. Thompson D. D.: The core technique in the determination of age at death in skeletons. Journal of Forensic Sciences, 1979, 24: 902-915.
- 110. Thompson D. D.: Age changes in bone mineralization, cortical thickness, and haversian canal area. Calcified Tissue International, 1980, 31: 5-11.
- 111. Thompson D. D., Galvin C. A.: Estimation of age at death by tibial osteon remodeling in an autopsy series. Forensic Science International, 1983, 22: 203-211.
- 112. Thomsen J. S., Ebbesen E. N, Mosekilde L. A.: New method of comprehensive static histomorphometry applied on human lumbar vertebral cancellous bone. Bone, 2000, 27: 129-38.
- 113. Turban-Just S., Grupe G.: Postmortem reconstruction of metabolic rates using histomorphometry of buried human compact bones. Anthropologischer Anzeiger, 1995, 53: 1-25.
- 114. Ubelaker D.H.: Estimating age at death from immature human skeletons: an overview. Journal of Forensic Sciences 1987, 32: 1254-63

- 115. Vaes G.: Cellular biology and biochemical mechanism of bone resorption. A review of recent developments on the formation, activation, and mode of action of osteoclasts. Clinical Orthopaedics, 1988, 231: 239-271.
- 116. Vanderschueren D., Herck E. van., Suiker A.M.H., Visser W.J., Schot L.P.C., Bouillon R., Van Herck E.: Bone and mineral metabolism in aged male rats: short and long term effects of androgen deficiency. Endocrinology, 1992; 130: 2906-2916.
- 117. Wanda M. Haschek, Colin G. Rousseaux, Matthew A. Wallig.: Fundamentals of Toxicologic Pathology. Bones and Joints. 2010, 411-449.
- Zaidi M., Alam A.S., Shankar V.S.: Cellular biology of bone resorption. Biological Reviews, Cambridge Philosophical Society, 1993, 68: 197-264.
- Zwiagin V. N.: Problemnyj analiz mediko-antropologicheskoj identifikacii lichnosti v sudebnoj medicine. Sudebno-medicinskaja ekspertiza, 2003, 5: 6-8.

## 12. Spis tabel, rycin i zdjęć.

Ryc.	1. Fazy przebudowy wewnętrznej tkanki kostnej11
Ryc.	2. Widmo naturalnej struktury hydroxyapatytu w podczerwieni
	w zakresie 500-4000 cm <sup>-1</sup>
Ryc.	3. Widmo naturalnej struktury hydroxyapatytu w podczerwieni,
	wersja rozszerzona, zakres 600-1800cm <sup>-1</sup>
Ryc.	4. Widmo naturalnej struktury hydroxyapatytu w podczerwieni
	wersja rozszerzona, zakres 2000-4000cm <sup>-1.</sup> 44
Ryc.	5. Graficzne przedstawienie obliczeń parametrów absorpcji
	metodą linii podstawowej45
Ryc.	6. Wykres rozrzutu parametru IOs i wieku dla grupy ogólnej
Ryc.	7. Wykres rozrzutu wartości wieku obserwowanego i
	przewidywanego na podstawie modelu regresji liniowej
	jednowymiarowej dla grupy ogólnej, predyktor IOs64
Ryc.	8. Wykres rozrzutu parametru IOs i wieku dla grupy mężczyzn
Ryc.	9. Wykres rozrzutu wartości wieku obserwowanego i
	przewidywanego na podstawie modelu regresji liniowej
	jednowymiarowej predyktor IOs dla grupy mężczyzn66
Ryc.	10. Wykres rozrzutu parametru IOs a wieku dla grupy kobiet
Ryc.	11. Wykres rozrzutu wartości wieku obserwowanego i
	przewidywanego na podstawie modelu regresji liniowej
	jednowymiarowej dla grupy kobiet, predyktor IOs68
Ryc.	12. Wykres rozrzutu parametru KH >70µm i wieku dla grupy
	ogólnej69
Ryc.	13. Wykres rozrzutu wartości wieku obserwowanego i
	przewidywanego na podstawie modelu regresji liniowej
	jednowymiarowej dla grupy ogólnej, predyktor KH >70µm
Ryc.	14. Wykres rozrzutu parametru KH >70µm i wieku dla grupy
-	mężczyzn

Ryc.	15. Wykres rozrzutu wartości wieku obserwowanego
	i przewidywanego na podstawie modelu regresji liniowej
	jednowymiarowej dla grupy
	mężczyzn, predyktor KH >70µm72
Ryc.	16. Wykres rozrzutu parametru KH >70µm i wieku dla grupy
	kobiet73
Ryc.	17. Wykres rozrzutu wartości wieku obserwowanego
	i przewidywanego na podstawie modelu regresji liniowej
	jednowymiarowej dla grupy kobiet, predyktor KH >70µm74
Ryc.	18. Wykres rozrzutu parametru % KH >70µm i wieku dla grupy
	ogólnej75
Ryc.	19. Wykres rozrzutu wartości wieku obserwowanego
	i przewidywanego na podstawie modelu regresji liniowej
	jednowymiarowej dla grupy ogólnej, predyktor % KH >70µm
Ryc.	20. Wykres rozrzutu parametru % KH >70µm i wieku dla grupy
	mężczyzn77
Ryc.	21. Wykres rozrzutu wartości wieku obserwowanego
	i przewidywanego na podstawie modelu regresji liniowej
	jednowymiarowej dla grupy mężczyzn, predyktor % KH >70µm 78
Ryc.	22. Wykres rozrzutu parametru % KH >70µm i wieku dla grupy
	kobiet
Ryc.	23. Wykres rozrzutu wartości wieku obserwowanego
	i przewidywanego na podstawie modelu regresji liniowej
	jednowymiarowej, predyktor % KH >70µm dla grupy kobiet80
Ryc.	24. Wykres rozrzutu parametru śr Ø KH i wieku dla grupy
	ogólnej
Ryc.	25. Wykres rozrzutu wartości wieku obserwowanego
	i przewidywanego na podstawie modelu regresji liniowej
	jednowymiarowej dla grupy ogólnej, predyktor śr Ø KH 82
Ryc.	26. Wykres rozrzutu parametru śr Ø KH i wieku dla grupy
	mężczyzn

Ryc. 27. Wykres rozrzutu wartości wieku obserwowanego i przewidywanego na podstawie modelu regresji liniowej Ryc. 28. Wykres rozrzutu parametru śr Ø KH i wieku dla grupy kobiet .......... 85 Ryc. 29. Wykres rozrzutu wartości wieku obserwowanego i przewidywanego na podstawie modelu regresji liniowej Ryc. 31. Wykres rozrzutu wartości wieku obserwowanego i przewidywanego na podstawie modelu regresji liniowej Ryc. 32. Wykres rozrzutu parametru śr GBZ i wieku dla grupy mężczyzn ..... 89 Ryc. 33. Wykres rozrzutu wartości wieku obserwowanego i przewidywanego na podstawie modelu regresji liniowej jednowymiarowej dla grupy mężczyzn, predyktor śr GBZ......90 Ryc. 35. Wykres rozrzutu wartości wieku obserwowanego i przewidywanego na podstawie modelu regresji liniowej jednowymiarowej dla grupy kobiet, predyktor śr GBZ......92 Ryc. 37. Wykres rozrzutu wartości wieku obserwowanego i przewidywanego na podstawie modelu regresji liniowej Ryc. 39. Wykres rozrzutu wartości wieku obserwowanego i przewidywanego na podstawie modelu regresji liniowej Ryc. 41. Wykres rozrzutu wartości wieku obserwowanego i przewidywanego na podstawie modelu regresji liniowej 

Ryc. 42. Wykres rozrzutu parametru POs i wieku dla grupy ogólnej
Ryc. 43. Wykres rozrzutu wartości wieku obserwowanego
i przewidywanego na podstawie modelu regresji liniowej
jednowymiarowej dla grupy ogólnej, predyktor POs100
Ryc. 44. Wykres rozrzutu parametru POs i wieku dla grupy mężczyzn 101
Ryc. 45. Wykres rozrzutu wartości wieku obserwowanego
i przewidywanego na podstawie modelu regresji liniowej
jednowymiarowej dla grupy mężczyzn, predyktor POs 102
Ryc. 46. Wykres rozrzutu parametru POs i wieku dla grupy kobiet 103
Ryc. 47. Wykres rozrzutu wartości wieku obserwowanego
i przewidywanego na podstawie modelu regresji liniowej
jednowymiarowej dla grupy kobiet, predyktor POs104
Ryc. 48. Wykres rozrzutu parametru PFOs i wieku dla grupy ogólnej 105
Ryc. 49. Wykres rozrzutu wartości wieku obserwowanego
i przewidywanego na podstawie modelu regresji liniowej
jednowymiarowej dla grupy ogólnej, predyktor PFOs106
Ryc. 50. Wykres rozrzutu parametru PFOs i wieku dla grupy mężczyzn 107
Ryc. 51. Wykres rozrzutu wartości wieku obserwowanego
i przewidywanego na podstawie modelu regresji liniowej
jednowymiarowej dla grupy mężczyzn, predyktor PFOs108
Ryc. 52. Wykres rozrzutu parametru PFOs i wieku dla grupy kobiet 109
Ryc. 53. Wykres rozrzutu wartości wieku obserwowanego
i przewidywanego na podstawie modelu regresji liniowej
jednowymiarowej, predyktor POs dla grupy kobiet
Ryc. 54. Wykres rozrzutu parametru długość obojczyka i wieku 111
Ryc. 55. Wykres rozrzutu wartości wieku obserwowanego
i przewidywanego na podstawie modelu regresji liniowej
jednowymiarowej, predyktor - długość obojczyka112
Ryc. 56. Wykres rozrzutu parametru szerokość obojczyka i wieku113

Ryc. 57.	Wykres rozrzutu wartości wieku obserwowanego
	i przewidywanego na podstawie modelu regresji liniowej
	jednowymiarowej, predyktor - szerokość obojczyka114
Ryc. 58.	Wykres rozrzutu parametru grubość obojczyka i wieku 115
Ryc. 59.	Wykres rozrzutu wartości wieku obserwowanego
	i przewidywanego na podstawie modelu regresji liniowej
	jednowymiarowej, predyktor - grubość obojczyka116
Ryc. 60.	Wykres rozrzutu wartości wieku obserwowanego
	i przewidywanego na podstawie modelu regresji liniowej
	wielowymiarowej standardowej dla grupy ogólnej118
Ryc. 61.	Wykres rozrzutu wartości wieku obserwowanego
	i przewidywanego na podstawie modelu regresji liniowej
	wielowymiarowej postępującej dla grupy ogólnej 120
Ryc. 62.	Wykres rozrzutu wartości wieku obserwowanego
	i przewidywanego na podstawie modelu regresji liniowej
	wielowymiarowej wstecznej dla grupy ogólnej 122
Ryc. 63.	Wykres rozrzutu wartości wieku obserwowanego
	i przewidywanego na podstawie modelu regresji liniowej
	wielowymiarowej standardowej dla grupy mężczyzn 124
Ryc. 64.	Wykres rozrzutu wartości wieku obserwowanego
	i przewidywanego na podstawie modelu regresji liniowej
	wielowymiarowej postępującej dla grupy mężczyzn 126
Ryc. 65.	Wykres rozrzutu wartości wieku obserwowanego
	i przewidywanego na podstawie modelu regresji liniowej
	wielowymiarowej wstecznej dla grupy mężczyzn 128
Ryc. 66.	Wykres rozrzutu wartości wieku obserwowanego
	i przewidywanego na podstawie modelu regresji liniowej
	wielowymiarowej standardowej dla grupy kobiet
Ryc. 67.	Wykres rozrzutu wartości wieku obserwowanego
	i przewidywanego na podstawie modelu regresji liniowej
	wielowymiarowej postępującej dla grupy kobiet 132

Ryc. 68. Wykres rozrzutu wartości wieku obserwowanego
i przewidywanego na podstawie modelu regresji liniowej
wielowymiarowej wstecznej dla grupy kobiet134
Ryc. 69. Graficzne przedstawienie intensywności pasm
absorpcyjnych widm w zakresie liczby falowej 400-4000 cm <sup>-1</sup> dla
próbek części zbitej obojczyka dzieci w różnym wieku141
Ryc. 70. Graficzne przedstawienie intensywności pasm
absorpcyjnych widm w zakresie liczby falowej 400-4000 cm <sup>-1</sup> dla
niektórych z wybranych
próbek części zbitej obojczyka kobiet w różnym wieku 142
Ryc. 71. Graficzne przedstawienie intensywności pasm
absorpcyjnych widm w zakresie liczby falowej 400-4000 cm <sup>-1</sup> dla
niektórych z wybranych próbek części zbitej obojczyka
mężczyzn w różnym wieku143
Ryc. 72. Graficzne przedstawienie intensywności pasm
absorpcyjnych widm w zakresie liczby falowej 400-4000 cm <sup>-1</sup> dla
próbek części zbitej obojczyka człowieka i kości udowej świni 144
Ryc. 73. Rozkład badanego materiału z uwzględnieniem przedziału
wiekowego i płci146

Tab. 1.Najczęściej spotykane odmiany apatytu hydroksylowego
zidentyfikowane w układzie kostnym człowieka
Tab. 2. Dane ilościowe i procentowe uzyskane w badaniu
morfometrycznym szlifów trzonów obojczyków
Tab. 3. Charakterystyczne pasma absorpcji w podczerwieni typowe
dla hydroksyapatytu w żelowej strukturze białkowej kości
Tab. 4. Wyniki modelu regresji jednowymiarowej badającej
zależność IOs i wieku dla grupy ogólnej63
Tab. 5. Wartości przewidywane i reszty badania zależności IOs
i wieku dla grupy ogólnej64
Tab. 6. Wyniki modelu regresji jednowymiarowej badającej
zależność IOs i wieku dla grupy mężczyzn65
Tab. 7. Wartości przewidywane i reszty badania zależności IOs
i wieku dla grupy mężczyzn66
Tab. 8. Wyniki modelu regresji jednowymiarowej badającej
zależność IOs i wieku dla grupy kobiet67
Tab. 9. Wartości przewidywane i reszty badania zależności IOs
i wieku dla grupy kobiet 68
Tab. 10. Wyniki modelu regresji jednowymiarowej badającej
zależność KH >70µm i wieku dla grupy ogólnej69
Tab. 11. Wartości przewidywane i reszty badania zależności
KH >70μm i wieku dla grupy ogólnej70
Tab. 12. Wyniki modelu regresji jednowymiarowej badającej
zależność KH >70µm i wieku dla grupy mężczyzn71
Tab. 13. Wartości przewidywane i reszty badania zależności
KH >70µm i wieku dla grupy mężczyzn72
Tab14 Wyniki modelu regresji jednowymiarowej badającej
zależność KH >70µm i wieku dla grupy kobiet
Tab. 15. Wartości przewidywane i reszty badania zależności
KH >70μm i wieku dla grupy kobiet74

Tab. 16.	Wyniki modelu regresji jednowymiarowej badającej	
	zależność % KH >70µm i wieku dla grupy ogólnej	75
Tab. 17.	Wartości przewidywane i reszty badania zależności	
	% KH >70µm i wieku dla grupy ogólnej	76
Tab. 18.	Wyniki modelu regresji jednowymiarowej badającej	
	zależność % KH >70µm i wieku dla grupy mężczyzn	77
Tab. 19.	Wartości przewidywane i reszty badania zależności	
	% KH >70µm i wieku dla grupy mężczyzn	78
Tab. 20.	Wyniki modelu regresji jednowymiarowej badającej	
	zależność % KH >70µm i wieku dla grupy kobiet	79
Tab. 21.	Wartości przewidywane i reszty badania zależności	
	% KH >70µm i wieku dla grupy kobiet	80
Tab. 22.	Wyniki modelu regresji jednowymiarowej badającej	
	zależność śr Ø KH i wieku dla grupy ogólnej	81
Tab. 23.	Wartości przewidywane i reszty badania zależności	
	śr Ø KH i wieku dla grupy ogólnej	82
Tab. 24.	Wyniki modelu regresji jednowymiarowej badającej	
	zależność śr Ø KH i wieku dla grupy mężczyzn	83
Tab. 25.	Wartości przewidywane i reszty badania zależności	
	śr Ø KH i wieku dla grupy mężczyzn	84
Tab. 26.	Wyniki modelu regresji jednowymiarowej badającej	
	zależność śr Ø KH i wieku dla grupy kobiet	85
Tab. 27.	Wartości przewidywane i reszty badania zależności	
	śr Ø KH i wieku dla grupy kobiet	86
Tab. 28.	Wyniki modelu regresji jednowymiarowej badającej	
	zależność śr GBZ i wieku dla grupy ogólnej	87
Tab. 29.	Wartości przewidywane i reszty badania zależności	
	śr GBZ i wieku dla grupy ogólnej	88
Tab. 30.	Wyniki modelu regresji jednowymiarowej badającej	
	zależność śr GBZ i wieku dla grupy mężczyzn	89

Tab. 31. Wartości przewidywane i reszty badania zależności
śr GBZ i wieku dla grupy mężczyzn90
Tab. 32. Wyniki modelu regresji jednowymiarowej badającej
zależność śr GBZ i wieku dla grupy kobiet91
Tab. 33. Wartości przewidywane i reszty badania zależności
śr GBZ i wieku dla grupy kobiet92
Tab. 34. Wyniki modelu regresji jednowymiarowej badającej
zależność PBM i wieku dla grupy ogólnej93
Tab. 35. Wartości przewidywane i reszty badania zależności
PBM i wieku dla grupy ogólnej94
Tab 36. Wyniki modelu regresji jednowymiarowej badającej
zależność PBM i wieku dla grupy mężczyzn95
Tab. 37. Wartości przewidywane i reszty badania zależności
PBM i wieku dla grupy mężczyzn96
Tab. 38. Wyniki modelu regresji jednowymiarowej badającej
zależność PBM i wieku dla grupy kobiet97
Tab. 39. Wartości przewidywane i reszty badania zależności
PBM i wieku dla grupy kobiet98
Tab. 40. Wyniki modelu regresji jednowymiarowej badającej
zależność POs i wieku dla grupy ogólnej
Tab. 41. Wartości przewidywane i reszty badania zależności
POs i wieku dla grupy ogólnej100
Tab. 42. Wyniki modelu regresji jednowymiarowej badającej
zależność POs i wieku dla grupy mężczyzn101
Tab. 43. Wartości przewidywane i reszty badania zależności
POs i wieku dla grupy mężczyzn102
Tab. 44. Wyniki modelu regresji jednowymiarowej badającej
zależność POs i wieku dla grupy kobiet 103
Tab. 45. Wartości przewidywane i reszty badania zależności
POs i wieku dla grupy kobiet104

Tab. 46. Wyniki modelu regresji jednowymiarowej badającej
zależność PFOs i wieku dla grupy ogólnej 105
Tab. 47. Wartości przewidywane i reszty badania zależności
PFOs i wieku dla grupy ogólnej106
Tab. 48. Wyniki modelu regresji jednowymiarowej badającej
zależność PFOs i wieku dla grupy mężczyzn107
Tab. 49. Wartości przewidywane i reszty badania zależności
PFOs i wieku dla grupy mężczyzn108
Tab. 50. Wyniki modelu regresji jednowymiarowej badającej
zależność PFOs i wieku dla grupy kobiet109
Tab. 51. Wartości przewidywane i reszty badania zależności
PFOs i wieku dla grupy kobiet110
Tab. 52. Wyniki modelu regresji jednowymiarowej badającej
zależność długości obojczyka i wieku111
Tab. 53. Wyniki modelu regresji jednowymiarowej badającej
zależność szerokości obojczyka i wieku113
Tab. 54. Wyniki modelu regresji jednowymiarowej badającej
zależność grubości obojczyka i wieku115
Tab. 55. Wyniki modelu standardowej regresji wielowymiarowej
badającej zależność wszystkich parametrów i wieku dla
grupy ogólnej117
Tab. 56. Wartości przewidywane i reszty badania zależności
wszystkich predyktorów i wieku dla grupy ogólnej 118
Tab. 57. Wyniki modelu postępującej regresji wielowymiarowej
badającej zależność wybranych parametrów i wieku dla
grupy ogólnej119
Tab. 58. Wartości przewidywane i reszty badania zależności
wybranych predyktorów modelu postępującej regresji
wielowymiarowej i wieku dla grupy ogólnej 120
Tab. 59. Wyniki modelu wstecznej regresji wielowymiarowej badającej
zależność wybranych parametrów i wieku dla grupy ogólnej 121

Tab. 60. Wartości przewidywane i reszty badania zależności	
wybranych predyktorów modelu wstecznej regresji	
wielowymiarowej i wieku dla grupy ogólnej	122
Tab. 61. Wyniki modelu standardowej regresji wielowymiarowej	
badającej zależność wszystkich parametrów i wieku dla grupy	
mężczyzn	123
Tab. 62. Wartości przewidywane i reszty badania zależności wszystkich	
predyktorów i wieku dla grupy mężczyzn	124
Tab. 63. Wyniki modelu postępującej regresji wielowymiarowej	
badającej zależność wszystkich parametrów i wieku dla	
grupy mężczyzn	125
Tab. 64. Wartości przewidywane i reszty badania zależności	
wybranych predyktorów modelu postępującej regresji	
wielowymiarowej i wieku dla grupy mężczyzn	126
Tab. 65. Wyniki modelu wstecznej regresji wielowymiarowej	
badającej zależność wybranych parametrów i wieku dla	
grupy mężczyzn	127
Tab. 66. Wartości przewidywane i reszty badania zależności	
wybranych predyktorów modelu wstecznej regresji	
wielowymiarowej i wieku dla grupy mężczyzn	128
Tab. 67. Wyniki modelu standardowej regresji wielowymiarowej	
badającej zależność wszystkich parametrów i wieku dla	
grupy kobiet	129
Tab. 68. Wartości przewidywane i reszty badania zależności	
wszystkich predyktorów i wieku dla grupy kobiet	130
Tab. 69. Wyniki modelu postępującej regresji wielowymiarowej	
badającej zależność wybranych parametrów i wieku dla	
grupy kobiet	131
Tab. 70. Wartości przewidywane i reszty badania zależności	
wybranych predyktorów modelu postępującej regresji	
wielowymiarowej i wieku dla grupy kobiet	132

Tab. 71. Wyniki modelu wstecznej regresji wielowymiarowej
badającej zależność wybranych parametrów i wieku dla
grupy kobiet133
Tab. 72. Wartości przewidywane i reszty badania zależności
wybranych predyktorów modelu wstecznej regresji
wielowymiarowej i wieku dla grupy kobiet 134
Tab. 73. Intensywności pasm absorpcyjnych widm w zakresie
liczby falowej 400-4000 cm <sup>-1</sup> dla próbek części zbitej
obojczyka dzieci w różnym wieku141
Tab. 74. Intensywności pasm absorpcyjnych widm w zakresie
liczby falowej 400-4000 cm <sup>-1</sup> dla próbek części zbitej
obojczyka kobiet o zróżnicowanym wieku 142
Tab. 75. Intensywności pasm absorpcyjnych widm w zakresie
liczby falowej 400-4000 cm <sup>-1</sup> dla próbek części zbitej
obojczyka mężczyzn o zróżnicowanym wieku 143
Tab. 76. Intensywności pasm absorpcyjnych widm w zakresie
liczby falowej 400-4000 cm <sup>-1</sup> dla próbek części zbitej
obojczyka człowiek i kości udowej krowi, świni i kury 144
Tab. 77. Współczynniki regresji liniowej jednowymiarowej dla
każdego z wybranych parametrów diagnostycznych 152
Tab. 78. Zbiorcze zestawienie estymacji wieku analizą regresji
jednowymiarowej154
Tab. 79. Zbiorcze zestawienie estymacji wieku analizą regresji
wielowymiarowej dla grupy ogólnej 156
Tab. 80. Zbiorcze zestawienie estymacji wieku analizą regresji
wielowymiarowej dla grupy mężczyzn 157
Tab. 81. Zbiorcze zestawienie estymacji wieku analizą regresji
wielowymiarowej dla grupy kobiet157

Fot. 1. Preparat histologiczny obojczyka kobiety w wieku 66 lat,
przygotowany czteroma różnymi metodami: 48
Fot. 2. Preparat histologiczny obojczyka kobiety w wieku 42 lat
przygotowany czteroma różnymi metodami: 49
Fot. 3. Preparat histologiczny obojczyka mężczyzny w wieku 23 lata,
przygotowany czteroma różnymi metodami: 50
Fot. 4. Preparat histologiczny obojczyka kobiety w wieku 78 lat,
przygotowany czteroma różnymi metodami: 51
Fot. 5. Preparat histologiczny obojczyka kobiety w wieku 56 lat,
przygotowany czteroma różnymi metodami: 52
Fot. 6.(A-D) Analizowane pola widzenia szlifu trzonu obojczyka
kobiety w wieku 60 lat. (przypadek nr 297/05)53
Fot. 7. (A-D) Analizowane pola widzenia szlifu końca przyśrodkowego
obojczyka kobiety w wieku 60 lat. (przypadek nr 297/05)53
Fot. 8. (A-D) Analizowane pola widzenia szlifu końca bocznego
obojczyka kobiety w wieku 60 lat. (przypadek nr 297/05)53
Fot. 9. (A-D) Analizowane pola widzenia szlifu trzonu obojczyka
mężczyzny w wieku 40 lat. (przypadek nr 298/05)54
Fot. 10. (A-D) Analizowane pola widzenia szlifu końca
przyśrodkowego obojczyka mężczyzny w wieku 40 lat.
(przypadek nr 298/05)54
Fot. 11. (A-D) Analizowane pola widzenia szlifu końca bocznego
obojczyka mężczyzny w wieku 40 lat. (przypadek nr 298/05) 54
Fot. 12. (A-D) Analizowane pola widzenia szlifu trzonu obojczyka
mężczyzny w wieku 40 lat. (przypadek nr 300/05)55
Fot. 13. (A-D) Analizowane pola widzenia szlifu końca przyśrodkowego
obojczyka mężczyzny w wieku 40 lat. (przypadek nr 300/05) 55
Fot. 14. (A-D) Analizowane pola widzenia szlifu końca bocznego
obojczyka mężczyzny w wieku 40 lat. (przypadek nr 300/05) 55
Fot. 15. (A-D) Analizowane pola widzenia szlifu trzonu obojczyka
mężczyzny w wieku 47 lat. (przypadek nr 301/05)56

Fot. 16. (A-D) Analizowane pola widzenia szlifu końca przyśrodkowego
obojczyka mężczyzny w wieku 47 lat. (przypadek nr 301/05) 56
Fot. 17. (A-D) Analizowane pola widzenia szlifu końca bocznego
obojczyka mężczyzny w wieku 47 lat. (przypadek nr 301/05) 56
Fot. 18. (A-D) Analizowane pola widzenia szlifu trzonu obojczyka
mężczyzny w wieku 46 lat. (przypadek nr 309/05)57
Fot. 19. (A-D) Analizowane pola widzenia szlifu końca przyśrodkowego
obojczyka mężczyzny w wieku 46 lat. (przypadek nr 309/05) 57
Fot. 20. (A-D) Analizowane pola widzenia szlifu końca bocznego
obojczyka mężczyzny w wieku 46 lat. (przypadek nr 309/05) 57
Fot. 21. (A-D) Analizowane pola widzenia szlifu trzonu obojczyka
mężczyzny w wieku 33 lata. (przypadek nr 314/05) 58
Fot. 22. (A-D) Analizowane pola widzenia szlifu końca przyśrodkowego
obojczyka mężczyzny w wieku 33 lata. (przypadek nr 314/05) 58
Fot. 23. (A-D) Analizowane pola widzenia szlifu końca bocznego
obojczyka mężczyzny w wieku 33 lata. (przypadek nr 314/05) 58
Fot. 24. (A-D) Analizowane pola widzenia szlifu trzonu obojczyka
mężczyzny w wieku 54 lata. (przypadek nr 317/05) 59
Fot. 25. (A-D) Analizowane pola widzenia szlifu końca przyśrodkowego
obojczyka mężczyzny w wieku 54 lata. (przypadek nr 317/05) 59
Fot. 26. (A-D) Analizowane pola widzenia szlifu końca bocznego
obojczyka mężczyzny w wieku 54 lata. (przypadek nr 317/05) 59
Fot. 27. (A-D) Analizowane pola widzenia szlifu trzonu obojczyka
mężczyzny w wieku 23 lata. (przypadek nr 334/05) 60
Fot. 28. (A-D) Analizowane pola widzenia szlifu końca przyśrodkowego
obojczyka mężczyzny w wieku 23 lata. (przypadek nr 334/05) 60
Fot. 29. (A-D) Analizowane pola widzenia szlifu końca bocznego
obojczyka mężczyzny w wieku 23 lata. (przypadek nr 334/05) 60
Fot. 30. (A-D) Analizowane pola widzenia szlifu trzonu obojczyka
kobiety w wieku 78 lat. (przypadek nr 337/05)61

Fot. 31. (A-D) Analizowane pola widzenia szlifu końca przyśrodkowego
obojczyka kobiety w wieku 78 lat. (przypadek nr 337/05) 61
Fot. 32. (A-D) Analizowane pola widzenia szlifu końca bocznego
obojczyka kobiety w wieku 78 lat. (przypadek nr 337/05)61
Fot. 33. (A-D) Analizowane pola widzenia szlifu trzonu obojczyka
mężczyzny w wieku 62 lata. (przypadek nr 342/05) 62
Fot. 34. (A-D) Analizowane pola widzenia szlifu końca przyśrodkowego
obojczyka mężczyzny w wieku 62 lata. (przypadek nr 342/05) 62
Fot. 35. (A-D) Analizowane pola widzenia szlifu końca bocznego
obojczyka mężczyzny w wieku 62 lata. (przypadek nr 342/05)62
Fot. 36. Szlif trzonu obojczyka 59-letniego mężczyzny, światło
przechodzące, powiększenie x50135
Fot. 37. Szlif trzonu obojczyka 59-letniego mężczyzny, światło
przechodzące, powiększenie x100135
Fot. 38. (A, B) Szlif trzonu spalonego obojczyka 22-letniego mężczyzny,
światło przechodzące, powiększenie x50 136
Fot. 39. Szlif trzonu spalonego obojczyka 22-letniego mężczyzny,
światło przechodzące, powiększenie x100136
Fot. 40. Szlif trzonu obojczyka 54-letniego mężczyzny, światło
spolaryzowane, powiększenie x50137
Fot. 41. Szlif trzonu obojczyka 54-letniego mężczyzny, światło
spolaryzowane, powiększenie x100137
Fot. 42. Szlif trzonu kości udowej świni, światło przechodzące,
powiększenie x50138
Fot. 43. Szlif trzonu kości udowej świni, światło spolaryzowane,
powiększenie x50138
Fot. 44. Szlif trzonu kości udowej krowy, światło przechodzące,
powiększenie x50139
Fot. 45. Szlif trzonu kości udowej krowy, światło spolaryzowane,
powiększenie x50139

## 13. Wykaz skrótów

- IOs liczba osteonów,
- KH >70μm liczba osteonów z kanałem Haversa o średnicy >70μm,
- śr Ø KH średnia średnica kanałów Haversa, µm,
- PBM powierzchnia zajmowana przez blaszki międzysystemowe (%),
- POs powierzchnia zajmowana przez osteony (%),
- **PFOs** powierzchnia zajmowana przez fragmenty pozostałości po przebudowanych osteonach (%),
- śr GBZ średnia grubość blaszek kostnych zewnętrznych, µm,
- KH >70μm, % stosunek liczby osteonów z kanałem Haversa o średnicy >70μm do ogólnej ilości osteonów (%).