

DOCTORADO EN CIENCIAS DE LA SALUD

**VALIDACIÓN METODOLÓGICA PARA LA ESTIMACIÓN DE EDAD EN RESTOS
ÓSEOS HUMANOS ADULTOS: ANÁLISIS HISTOMORFOMÉTRICO**

**METHODOLOGY VALIDATION FOR ESTIMATING AGE IN HUMAN ADULT SKELETAL REMAINS:
HISTOMORPHOMETRIC ANALYSIS**

Autor: Bárbara DESÁNTOLO

Director: Dra. Susana SALCEDA

Codirector: Dra. Ana María INDA

Lugar: Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de La Plata, Argentina. -

Fecha de defensa: 14 de marzo de 2013

RESUMEN.

El presente trabajo de tesis consiste en el desarrollo de una ecuación predictiva para la estimación de edad a la muerte en restos óseos humanos adultos. Dicho trabajo fue desarrollado sobre la base del análisis de la validez y el ajuste de diferentes metodologías microscópicas. La originalidad de la propuesta radica en la utilización del análisis microscópico que facilitará las estimaciones en restos óseos fragmentarios procedentes de contextos arqueológicos y/o forenses.

La muestra estudiada estuvo conformada por restos óseos pertenecientes a la Colección Osteológica "Prof. Dr. Rómulo Lambre" alojada en la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad Nacional de La Plata. Para llevar a cabo este estudio se examinaron 150 fémures de individuos adultos, 54 femeninos y 89 masculinos, entre 22 y 91 años con una media de 69,86. Las secciones histológicas analizadas se obtuvieron a partir de la remoción de tejido cortical de la mitad anterior de la diáfisis femoral tal y como sugiere la bibliografía específica.

Se identificaron y cuantificaron cinco variables microestructurales según criterios previamente publicados por varios autores: n° total de osteonas completas (N.On), número de osteonas fragmentarias (N.On.Fg), diámetro promedio de los conductos de Havers (Can.Hav), porcentaje de osteonas fragmentarias (%On.Fg) y la densidad poblacional osteonal (OPD). Para el análisis microscópico se empleó un Fotomicroscopio Trinocular Nikon (Mod. Eclipse E200) con objetivo 10X y ocular 10X, equipado con cámara digital Nikon (Mod. Coolpix S10).

Recibido mayo 20, 2013 - Aceptado junio 30, 2013

* **Correspondencia de autor:** Bárbara Desántolo. Cátedra de Citología, Histología y Embriología "A", Facultad de Ciencias Médicas. UNLP. Av. 60 y 120 s/n (CP1900). La Plata, Argentina. e-mail: barbaradesantolo@hotmail.com, barbaradesantolo@fcnym.unlp.edu.ar

La observación e identificación de las variables se realizó a través de un programa analizador de imágenes, Image Pro Plus 4.5 (Media Cybernetics). Este permitió efectuar las mediciones y conteo sobre cada microfotografía, cuatro por preparado histológico.

La mayoría de las variables demostraron una asociación significativa con la edad. El N. On. Fg presentó una alta correlación positiva con la edad ($R= 0,779$) seguida por la OPD ($R= 0,741$) y el % On.Fg ($R= 0,646$), a diferencia del N.On ($R= 0,330$) que presentó una correlación positiva baja. Contrariamente, el Can.Hav no presentó relación lineal con la edad ($R= 0,158$; $P > 0,187$), y por lo tanto dicha variable fue excluida del modelo dada su ineficacia como predictora de la edad.

Los análisis estadísticos multivariados nos permiten aseverar que la variable predictiva de la edad para adultos de entre 22 a 91 años es el número de osteonas fragmentarias. Sin embargo, dividiendo la muestra en dos grupos de edad se encontró que: 1) para adultos medios (menores de 49 años) las variables predictivas son el número de osteonas completas y la densidad poblacional osteonal; 2) para adultos mayores (más de 50 años) la variable predictiva es el número de osteonas fragmentarias.

Finalmente, la histomorfometría o histología cuantitativa, ofrece estimaciones precisas y efectivas para adultos mayores de 50 años, en contraste con la mayoría de los métodos basados en la morfología macroscópica del esqueleto, en donde el límite de las estimaciones es, precisamente, los 50 años de edad cronológica. La histomorfometría cobra relevancia en aquellos casos en los cuales los restos se encuentran fragmentados o incompletos, y resulta imposible la aplicación de métodos macroscópicos para la estimación de edad. Si bien la utilización de las técnicas histológicas de estimación de edad han presentado cierta incertidumbre respecto de su exactitud y fiabilidad, concordamos con Stout y Crowder (2012) que la identificación de cuestiones metodológicas específicas así como la mejora de los protocolos, harán de la histomorfometría una herramienta útil para el análisis bioantropológico y forense.

Palabras Claves: estimación de edad, adultos, histomorfometría ósea, fémur.

ABSTRACT.

This thesis develops a predictive equation for estimating age at death in adult human skeletal remains. This work was developed on the basis of the analysis of the validity and adjusting different microscopic methods. The originality of this proposal lies in the using of microscopic analysis to provide estimates on fragmentary skeletal remains from archaeological contexts and / or forensic.

The sample under study consists of bones belonging to the "Prof. Dr. Romulo Lambre" Skeletal Collection, housed in the Faculty of Medical Sciences of the National University of La Plata. To carry out this study there were examined 150 adult femurs, 54 female and 89 male, between 22 and 91 years of age with a mean age at death of 69.86. As suggested by the specific literature, histological sections obtained from cortical tissue of the front half of the femoral diaphysis were analyzed.

Five microstructural variables were identified and quantified according to criteria previously published by several authors: Total of complete osteons (N.On), number of fragmentary osteons (N.On.Fg), average diameter of the Haversian canals (Can.Hav), fragmentary osteons percentage (% On.Fg) osteonal and population density (OPD). For microscopic analysis it was employed Nikon binocular photomicroscope (Model Eclipse E200) with 10X objective and 10X eyepiece equipped with a Nikon digital camera (Coolpix S10 Mod).

The observation and identification of variables was performed through the image analyzer software Image Pro Plus 4.5 (Media Cybernetics). This allowed obtaining four photomicrographs for each histological preparation that were measured and counted.

Most of the variables showed a significant association with age. The N.On.Fg showed a high positive correlation with age ($R = 0.779$) followed by OPD ($R = 0.741$) and %On.Fg ($R = 0.646$), unlike N.On ($R = 0.330$) that showed a low correlation positive. Conversely, Can.Hav did not presented a linear relationship with age ($R = 0.158$, $P > 0.187$), and therefore the variable was excluded f the model due to its inefficiency as a predictor of age.

Multivariate statistical analyzes allow us to assert that the variable predictor of adult age between 22 to 91 years is the number of fragmentary osteons. However, dividing the sample into two age groups it was found that: 1) for average adults (under 49 years) predictors are the number of complete osteon osteonal and population density, 2) for seniors (over 50 years) the predictor is the number of fragmentary osteons.

Finally, quantitative histomorphometry and histology, provides accurate and effective estimates for adults over 50 years, in contrast to most methods based on the gross morphology of the skeleton, where the limit of the estimates is precisely 50 years chronological age. Histomorphometry becomes relevant in cases in which the remains are fragmented or incomplete, and it is impossible to apply macroscopic methods for estimating age. While using histological techniques for estimating age presented some uncertainty as to its accuracy and reliability, we agree with Stout and Crowder (2012) that the identification of specific methodological issues and improving the protocols will make histomorphometry a useful tool for forensic and bioanthropological analysis.

Keywords: age estimation, adults, bone histomorphometry, femur.