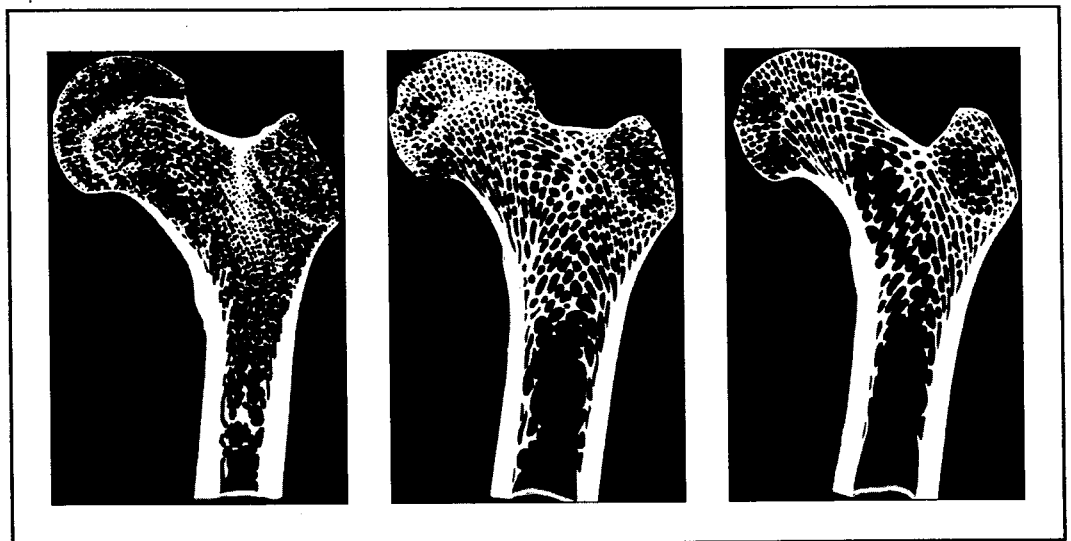


Francesco Introna • Alessandro Dell'Erba

# Determinazione dell'età da resti scheletrici



ESSEBIEMME EDITORE



**Francesco Introna • Alessandro Dell'Erba**

**Determinazione  
dell'età  
da resti scheletrici**

**ESSEBIEMME EDITORE**

*Si ringraziano il Prof. Domenico Massaro per la consulenza linguistica,  
il Sig. Angelo Venosa per la collaborazione fotografica  
e la video-elaborazione delle immagini.*

## Indice

|   |              |
|---|--------------|
| Presentazione   | Pag. 5       |
| Introduzione  | Pag. 11      |
| <br><b>Capitolo 1 – I resti fetali</b>  | <br>Pag. 15  |
| <i>Alessandro Dell'Erba, Carlo Pietro Campobasso</i>                                  |              |
| Introduzione  | Pag. 15      |
| La determinazione dell'età gestazionale mediante tecniche ecografiche                 | Pag. 17      |
| La determinazione dell'età gestazionale da resti scheletrici                          | Pag. 22      |
| I metodi qualitativi descrittivi  | Pag. 24      |
| I metodi quantitativi   | Pag. 28      |
| I criteri empirici  | Pag. 32      |
| <br><b>Capitolo 2 – I nuclei di ossificazione</b>                                     | <br>Pag. 35  |
| <i>Carlo Pietro Campobasso, Antonio De Donno</i>                                      |              |
| Introduzione  | Pag. 35      |
| Le procedure di indagine medico-legale per la determinazione dell'età                 | Pag. 36      |
| La comparsa dei centri di ossificazione   | Pag. 40      |
| Allungamento diafisario   | Pag. 50      |
| La fusione dei centri di ossificazione  | Pag. 57      |
| Modalità e tempi di fusione dei principali centri di ossificazione                    | Pag. 69      |
| <i>Clavicola</i>  | Pag. 69      |
| <i>Sterno</i>   | Pag. 74      |
| <i>Scapola</i>  | Pag. 76      |
| <i>Vertebre</i>   | Pag. 78      |
| <i>Omero</i>  | Pag. 82      |
| <i>Radio</i>  | Pag. 84      |
| <i>Ulna</i>   | Pag. 85      |
| <i>Anca</i>   | Pag. 86      |
| <i>Femore</i>   | Pag. 90      |
| <i>Tibia</i>  | Pag. 91      |
| <i>Fibula</i>   | Pag. 91      |
| <i>Osso ioide</i>   | Pag. 92      |
| <i>Cartilagine tiroidea</i>   | Pag. 95      |
| Criteri osteologici e radiologici per la determinazione dell'età                      | Pag. 96      |
| <br><b>Capitolo 3 – I metodi dentari</b>  | <br>Pag. 111 |
| <i>Teresa Catacchio, Samuele Corniola</i>   |              |
| Introduzione  | Pag. 111     |
| Sviluppo anatomico dei denti e delle arcate   | Pag. 112     |
| Altri metodi di valutazione dell'età in rapporto<br>allo sviluppo anatomico dei denti | Pag. 122     |
| <i>Comparsa dei germi dentari (studio istologico)</i>                                 | Pag. 122     |
| <i>Tracce precoci della mineralizzazione (studio radiografico)</i>                    | Pag. 122     |
| <i>Sviluppo e difetti di sviluppo dello smalto</i>                                    | Pag. 122     |
| <i>Variazioni di peso in rapporto allo sviluppo</i>                                   | Pag. 123     |

|   |          |
|---|----------|
| Modificazioni dei denti nell'età adulta                               | Pag. 124 |
| <i>Usura</i>  | Pag. 125 |
| <i>Dentina secondaria</i>   | Pag. 125 |
| <i>Retrazione del legamento periodontale e dell'attacco gengivale</i> | Pag. 126 |
| <i>Apposizione di cemento</i>   | Pag. 126 |
| <i>Riassorbimento della radice</i>                                    | Pag. 127 |
| <i>Trasparenza della dentina</i>                                      | Pag. 127 |
| <i>Colorazione dei denti</i>  | Pag. 128 |
| <i>Gravità specifica e durezza dei denti</i>                          | Pag. 128 |
| Metodi per la determinazione dell'età dentaria nell'adulto            | Pag. 129 |
| Metodo di Gustafson e metodi derivati                                 | Pag. 129 |
| Metodi basati sulla valutazione di un solo parametro dentario         | Pag. 136 |
| Metodi radiografici   | Pag. 143 |
| Metodi chimici  | Pag. 146 |
| <br>  |          |
| <b>Capitolo 4 – Il metodo Fels</b>                                    | Pag. 153 |
| <i>Giancarlo Di Vella, Barbara Polo Grillo, Barbara Bucci</i>         |          |
| Introduzione  | Pag. 153 |
| Indicatori di maturità  | Pag. 154 |
| Ossa dell'avambraccio   | Pag. 156 |
| Ossa del carpo  | Pag. 160 |
| Ossa del metacarpo (MET I, MET III, MET V)                            | Pag. 169 |
| Falangi delle dita  | Pag. 173 |
| <br>  |          |
| <b>Capitolo 5 – Le suture craniche</b>                                | Pag. 187 |
| <i>Giancarlo Di Vella, Nico Curci</i>                                 |          |
| Richiami anatomici  | Pag. 187 |
| Cenni storici   | Pag. 190 |
| Il metodo di G. Acsadi e J. Nemeskéri                                 | Pag. 196 |
| Gli schemi di Dérobert e Fully  | Pag. 201 |
| Il metodo di C. Masset  | Pag. 203 |
| Il metodo di R.K. Baker   | Pag. 206 |
| Il metodo di R.S. Meindl e C.O. Lovejoy                               | Pag. 207 |
| La verifica effettuata da Galera e coll.                              | Pag. 209 |
| Le suture mascellari  | Pag. 210 |
| <br>  |          |
| <b>Capitolo 6 – L'analisi delle coste</b>                             | Pag. 215 |
| <i>Carlo Pietro Campobasso, Paolo L'Abbate</i>                        |          |
| Introduzione  | Pag. 215 |
| La determinazione dell'età  | Pag. 217 |
| I metodi radiologici  | Pag. 218 |
| I metodi osteologici  | Pag. 220 |
| La variabilità sessuale   | Pag. 234 |
| La variabilità razziale   | Pag. 238 |
| La variabilità tra coste  | Pag. 240 |
| L'approccio istomorfometrico  | Pag. 241 |

---

|   |          |
|---|----------|
| <b>Capitolo 7 – Le ossa del bacino</b>  | Pag. 245 |
| <i>Giancarlo Di Vella, Graziano Carvelli, Anna Paola Rossi</i>                              |          |
| Introduzione  | Pag. 245 |
| Metodo di T.W. Todd   | Pag. 247 |
| Metodo di T.W. McKern e T.D. Stewart  | Pag. 252 |
| <i>Fasi di trasformazione della I componente (emifaccia dorsale)</i>                        | Pag. 254 |
| <i>Fasi di trasformazione della II componente (emifaccia ventrale)</i>                      | Pag. 255 |
| <i>Fasi di trasformazione della III componente (orlo sinfisale)</i>                         | Pag. 255 |
| Indicazioni di J. L. Angel sui metodi di Todd e di McKern-Stewart                           | Pag. 258 |
| Metodo di B.M. Gilbert e T.W. McKern  | Pag. 259 |
| <i>Componente I (emifaccia dorsale): fasi di trasformazione</i>                             | Pag. 259 |
| <i>Componente II (emifaccia ventrale): fasi di trasformazione</i>                           | Pag. 261 |
| <i>Componente III (orlo sinfisale): fasi di trasformazione</i>                              | Pag. 261 |
| Le formule di regressione di Snow   | Pag. 263 |
| Gli stadi di Meindl e Lovejoy   | Pag. 266 |
| Metodo di J.M. Suchey e S. Brooks   | Pag. 266 |
| Valutazione di Klepinger sui metodi di McKern-Stewart,<br>Gilbert-McKern e Suchey-Brooks    | Pag. 269 |
| Determinazione dell'età mediante analisi morfologica<br>della faccetta auricolare dell'ileo | Pag. 270 |
| Cambiamenti morfologici della sinfisi pubica nel parto                                      | Pag. 273 |
| <br>  |          |
| <b>Capitolo 8 – Il metodo di Acsádi e Nemeskéri<br/>ed altri metodi combinati</b>           | Pag. 279 |
| <i>Aldo Di Fazio, Claudia Lopez</i>   |          |
| Introduzione  | Pag. 279 |
| Il metodo combinato di Acsádi e Nemeskéri   | Pag. 280 |
| Valutazione delle modificazioni dei 4 indicatori  | Pag. 281 |
| Modificazioni morfologiche della superficie sinfisale del pube                              | Pag. 281 |
| Modificazioni morfo-strutturali dell'epifisi e diafisi prossimale dell'omero                | Pag. 283 |
| Modificazioni morfo-strutturali dell'epifisi e diafisi prossimale del femore                | Pag. 285 |
| Grado di sinostosi delle suture craniche  | Pag. 288 |
| Determinazione dell'età in funzione del grado di sinostosi<br>delle suture endocraniche     | Pag. 290 |
| Considerazioni valutative   | Pag. 292 |
| Note esplicative sulla metodologia applicativa del metodo combinato                         | Pag. 292 |
| <i>Tavole di Sjøvold</i>  | Pag. 293 |
| <i>Sezione I: tutti gli indicatori di età disponibili</i>                                   | Pag. 294 |
| <i>Sezione II: un indicatore di età mancante</i>  | Pag. 301 |
| <i>Sezione III: due indicatori di età mancanti</i>  | Pag. 307 |
| Il metodo di Lovejoy e coll. (1985)   | Pag. 310 |
| <br>  |          |
| <b>Capitolo 9 – L'analisi computerizzata<br/>della sostanza spongiosa</b>                   | Pag. 315 |
| <i>Francesco Introna, Mirella Galati</i>  |          |

|   |          |
|---|----------|
| <b>Capitolo 10 – Le tecniche istologiche</b>  | Pag. 323 |
| <i>Pantaleo Bufo, Maria Antonietta Malerba, Giuseppe Galati, Giancarlo Di Vella</i>                             |          |
| Introduzione  | Pag. 323 |
| Cenni sulla struttura dell'osso   | Pag. 323 |
| Modificazioni della struttura dell'osso in rapporto all'età   | Pag. 326 |
| Metodi istomorfometrici   | Pag. 329 |
| Metodo di Kerley  | Pag. 329 |
| Metodo di Ahlqvist e Damsten  | Pag. 336 |
| Metodo di Singh e Gunberg   | Pag. 339 |
| Metodo di Thompson  | Pag. 340 |
| Metodo di Hauser  | Pag. 349 |
| Metodo di Ericksen  | Pag. 351 |
| Osservazioni di Lynnerup  | Pag. 354 |
| Fattori esogeni che possono influenzare la valutazione istologica dell'osso                                     | Pag. 357 |
| <br>  |          |
| <b>Capitolo 11 – Le tecniche biomediche.</b>  |          |
| <b>Racemizzazione dell'acido aspartico:<br/>nuova prospettiva per la diagnosi di età<br/>in soggetti adulti</b> | Pag. 361 |
| <i>Cristina Cattaneo</i>  |          |
| Introduzione  | Pag. 361 |
| Racemizzazione dell'acido aspartico   | Pag. 362 |
| Il metodo   | Pag. 364 |
| Vantaggi e limiti del metodo  | Pag. 368 |

---



## **Introduzione**

L'antropologia forense è una scienza relativamente giovane. Si tratta di un settore della antropologia fisica che si occupa elettivamente dell'impiego e del modellamento di tecniche osteologiche, anatomiche, antropometriche e fisionomiche per la soluzione dei problemi medico legali.

Storicamente, in ambito internazionale, si ritiene che il padre della Antropologia forense sia il Dott. Thomas Dwight che nel 1878<sup>1</sup> pubblicò un articolo dal titolo "The identification of Human Skeleton. A medico legal study". In realtà tali studi erano già da tempo radicati nel vecchio continente grazie alla profonda conoscenza anatomica ed osteologica che caratterizzava i medici legali di allora.

Già il Lombroso nel 1877<sup>2</sup>, nel suo trattato sulla Medicina legale del cadavere dedicò l'ultima parte del capitolo sulla identità, ai criteri da applicare nelle indagini su resti scheletrici per la determinazione del sesso, età e statura. Lazzaretti poi nel 1879<sup>3</sup>, nel V volume del suo trattato di Medicina legale dedicò ben tre capitoli all'Antropologia forense, descrivendo in maniera sistematica tutta l'evoluitività dei nuclei di ossificazione per "conoscere le varie epoche di vita extra-uterina". Il Lazzaretti effettuò anche un accurato "studio dello sviluppo dei denti allo scopo di determinare l'età" e descrisse in maniera puntigliosa le differenze morfometriche fra lo "scheletro dell'uomo e della donna", fornendo tavole per la determinazione dell'altezza del soggetto in vita dall'analisi su ossa lunghe.

A fronte pertanto di iniziali approfondimenti di antropologia forense che caratterizzavano gli Stati Uniti alla fine del secolo scorso, nello stesso periodo in Europa vi era abbondante trattatistica sull'argomento: vi erano riviste specializzate di Antropologia fisica, Società Scientifiche antropologiche, nonché un fervore di ricerche specifiche fra le quali, ricordiamo quelle del Broca<sup>4,5</sup>, del Manouvrier<sup>6</sup>, del Rollet<sup>7</sup> e di tanti altri ancora.

Che si trattasse di problemi per i quali già vi fosse un abbondante substrato conoscitivo lo si può poi evincere, indirettamente, dal fatto che già nel 1858 il Casper<sup>8</sup> nel suo testo di Medicina legale riportava casi peritali di identificazione da frammenti scheletrici come eventi routinari nella pratica forense.

In realtà in Europa nella seconda metà del XIX secolo l'Antropologia, aveva intrapreso un percorso particolare specializzandosi nelle tecniche di identificazione del vivente mediante indagini antropometriche.

Come non ricordare Alphonse Bertillon che nel 1878 iniziò ad applicare l'antropologia fisica, ed in particolare l'antropometria, per la soluzione di problemi identificativi del vivente, sostituendo con una rigorosa tecnica scientifica ciò che prima era effettuato con metodi empirici e del tutto soggettivi.

Dalla misurazione fisica del vivente, alla descrizione sempre più dettagliata delle caratteristiche morfologiche individualizzanti il passo fu breve.

---

Emanazione diretta del "bertillonnage" (segnalamento antropometrico) fu il segnalamento descrittivo anatomico o "ritratto parlato" che trovò fautori e maestri in Italia nell'Ottolenghi<sup>9</sup> e nel Falco<sup>10</sup>, padri della Polizia scientifica.

Il Falco, prima di diventare Direttore dell'Istituto di Medicina legale di Napoli, ebbe, come prima nomina, nel 1925 la Direzione del Istituto di Medicina legale dell'Università di Bari, subentrando al Romanese.

Lavori scientifici in Antropologia, nell'unico anno di permanenza a Bari del Falco, non furono effettuati, però ci piace comunque trovare nel Falco le nostre radici culturali in antropologia forense.

Prima con il Prof. Martino, poi con il Prof. Dell'Erba e con il Prof. Introna (allorché ancora a Bari) e quindi con i Prof.ri Colonna e Delfino Pesce, gli studi e le ricerche in antropologia forense si radicarono sempre più nell'Istituto di Medicina legale di Bari.

Gli indirizzi di ricerca in Antropologia forense che si sono succeduti dal 1980 in poi grazie anche alla acquisizione di una collezione scheletrica con caratteristiche note, possono sostanzialmente essere identificati in tre.

Il primo, storicamente il più innovativo e forse il più importante è stato quello volto alla identificazione personale mediante sovrapposizione televisiva computerizzata di un cranio con la foto del volto del soggetto a cui si ritenga i resti scheletrici in esame possano essersi appartenuti in vita.

Di pari passo si sono succeduti gli studi volti alla determinazione del sesso scheletrico mediante analisi delle caratteristiche morfologiche del cranio e del bacino, nonché tutta la produzione scientifica volta alla determinazione del sesso scheletrico e dell'altezza in vita mediante misurazioni dei principali segmenti scheletrici, anche frammentati, al fine di poter utilizzare i risultati delle indagini anche in caso di "mass disaster".

Il terzo settore di ricerca, ultimo cronologicamente ma non per questo meno importante per innovazione scientifica ed approfondimento tecnologico, è rappresentato dalla identificazione personale di soggetti viventi filmati e registrati su supporto magnetico (videocassetta) mediante elaborazione e misurazione delle immagini. Si tratta di un filone di ricerca, i cui risvolti applicativi trovano frequente riscontro nella identificazione di autori di rapine o di altri reati attuati in luoghi dotati di video sorveglianza.

Alla Scuola Medico legale barese può quindi storicamente riconoscersi una continuità di ricerca e di interessi in tema di antropologia forense al passo con l'evoluzione scientifica e con l'innovazione tecnologica.

Il fervore delle ricerche condotte in antropologia forense ha poi consentito, quale piacevole risvolto, la coagulazione di un gruppo di giovani ricercatori, fra loro ben affiatati, preparati scientificamente ed affidabili operativamente, già testato in situazioni di emergenza, pronto per costituire un nucleo operativo medico legale d'intervento in caso di mass disaster.

L'abbondante produzione scientifica, apparsa sulle principali riviste nazionali ed internazionali, ha trovato poi momento di apprezzamento in consessi specialistici internazionali quali, la Sezione di Forensic Anthropology dell'American Academy of Forensic Sciences, in Congressi specifici monotematici di identificazione personale e nei periodi-

---

ci convegni organizzati dal Gruppo Italiano di Antropologia ed Odontologia Forense.

Il livello di credibilità raggiunto in sede internazionale dalla Scuola Medico legale di Bari ha poi consentito di organizzare Seminari Internazionali in Antropologia Forense su specifici argomenti, potendo contare su relatori di fama internazionale quali William Rodriguez, Kathy Reichs e Robert Dorion, nonché l'inserimento dei suoi membri nelle specifiche commissioni del Dipartimento della Protezione Civile, della Croce Rossa e del Dipartimento Nazionale Antimafia.

La collaborazione scientifica con altri gruppi di ricerca in Antropologia Forense, fra cui quello operativo presso l'Istituto di Medicina legale dell'Università di Milano, coordinato dal Prof. Grandi e dalla Dott.ssa Cristina Cattaneo, ha poi favorito lo studio di fattibilità di progetti di ricerca comune finanziabili a livello comunitario.

Il background culturale si è poi ampiamente riversato nell'impegno della attività pratica forense in ambito identificativo. Dalla ricerca di cadaveri inumati o cementati in pilastri, alla identificazione personale delle vittime di lupara bianca della Sacra Corona Unita, dal riconoscimento di profughi privi di documenti identificativi, alla identificazione personale di rapinatori di banca, dal recupero ed identificazione delle vittime del naufragio della nave albanese "Kater I Radez" nel canale d'Otranto alla identificazione personale da resti scheletrici nei sequestri di persona.

Questo manuale non può pertanto essere considerato il frutto di una fugace infatuazione per il tema specifico ma rappresenta la sintesi delle ricerche e delle esperienze condotte in oltre venti anni di continua attività in antropologia forense.

Nell'identificazione di resti scheletrici, la determinazione dell'età è uno dei capisaldi irrinunciabili unitamente a sesso, razza, altezza del soggetto ("the big four" degli AA. di lingua inglese). Tra questi elementi di valutazione preliminare all'identificazione personale, proprio la determinazione dell'età appare spesso come la più complessa.

Le strutture ossee e dentarie subiscono infatti, durante tutto l'arco della vita, in rapporto a fattori endogeni ed esogeni, continue modificazioni e rimaneggiamenti. Tuttavia l'evoluzione di tali fenomeni non è legata esclusivamente all'età morfologica dell'organismo ma è dipendente anche da numerose altre variabili (condizioni ambientali, nutrizione, attività lavorativa, malattie, ecc.) per cui lo scheletro, così come le altre strutture organiche, avrà un'età biologica (nella specie età ossea o scheletrica) che sarà indubbiamente correlata con l'età cronologica, ma non necessariamente ad essa linearmente sovrapponibile. L'età biologica è d'altra parte l'unica determinabile all'esame dei resti scheletrici, ne deriva la necessità di utilizzare contemporaneamente diversi parametri di valutazione che siano correlati il più strettamente possibile all'età cronologica e scarsamente influenzati da fattori estrinseci.

Ci è sembrato pertanto opportuno un lavoro di riesame dei metodi di valutazione dell'età scheletrica. Riconsiderando sia quelli "classici" sia quelli di più recente impostazione (metodi biochimici), avendo il piacere di coordinare il lavoro di un gruppo di ricercatori a cui si sono affiancati giovani (dottorandi in ricerca, specialisti anche in formazione e, addirittura, laureandi) che operano già con entusiasmo e zelo nei vari settori della ricerca in Antropologia forense.

*Francesco Introna*

## Bibliografia

1. Dwight T.: The identification of Human Skeleton. A Medicolegal Study. Massachusetts Medical Society, Boston 1878
  2. Lombroso C.: *Medicina Legale del Cadavere*. 1877
  3. Lazzaletti G.: *Corso Teorico Pratico di Medicina legale*. Padova 1879
  4. Broca P.: *Indice cubique du crane*. Bull. Soc. Anthropol. Paris 5, 253, 1864
  5. Broca P.: *Institutions craniologiques et craniometriques*. Memoires de la Soc. d'Anthropol. Paris 2, 1-204, 1875.
  6. Manouvrier L.: *Indice cubique du Crane*. Ass. Franc. pour l'Avancement des Sciences 1880.
  7. Rollet E.: *De la mensuration des os longs des membres* Lyon 1888.
  8. Casper G.L.: *Manuale Pratico di Medicina Legale*. Torino, 1858.
  9. Ottolenghi S.: *Trattato di Polizia Scientifiche*. Società Editrice Libreria Milano 1910.
  10. Falco G.: *Identità*. Maglione e Strini Ed. Roma 1923.
-

---

**CAPITOLO 10****Le tecniche istologiche**

*Pantaleo Bufo, Maria Antonietta Malerba,  
Giuseppe Galati, Giancarlo Di Vella*

**Introduzione**

È documentato dall'ampia letteratura sull'argomento che il tessuto osseo va incontro a continui processi di rimaneggiamento che ne modificano la struttura microscopica e che possono essere correlati all'età dell'individuo<sup>1,2,3</sup>. L'istologia dell'osso è stata studiata in diversi distretti scheletrici tra i quali si segnalano la mandibola<sup>4</sup>, le coste<sup>5</sup>, l'omero<sup>6</sup>, l'ulna<sup>6</sup>, il femore<sup>3,4,7,6,8</sup>, la tibia<sup>3,4,8,6</sup>, la fibula<sup>3</sup>, le falangi<sup>1</sup>; le variazioni delle microstrutture di questi segmenti che si modificano durante la vita sia dal punto di vista morfologico, sia dal punto di vista numerico e dimensionale, sono state sottoposte ad accurate indagini istomorfometriche. I risultati ottenuti hanno permesso di considerare il quadro istologico dell'osso come un *fermo immagine* del film dell'evoluzione scheletrica, fornendo quindi un valido supporto alla determinazione dell'età.

Le tecniche di istomorfometria si diversificano in relazione all'età presunta del soggetto sia esso un neonato, un infante, un giovane ovvero un adulto, ma anche in rapporto al segmento osseo a disposizione per l'indagine ed ai parametri istologici che di volta in volta si valutano (osteoni, frammenti di osteoni, canali di Havers etc.). Alcuni metodi prevedono la decalcificazione dell'osso prima del suo esame. Tuttavia il maggior numero di studi è stato condotto su osso compatto non decalcificato, tecnica che appare particolarmente adatta per lo studio di resti scheletrici di antica inumazione; infatti, il processo di decalcificazione di materiale estremamente friabile è ritenuto responsabile di artefatti e deformazioni delle microstrutture tali da rendere problematica l'applicazione delle tecniche morfometriche<sup>9</sup>.

Le indagini istologiche sull'osso consentono anche di accertare pregresse patologie o lesioni traumatiche patite dal soggetto nel corso della vita; la struttura dell'osso, infatti è influenzata da numerosi fattori sia genetici che ambientali (stato di nutrizione e caratteristiche dell'alimentazione delle differenti popolazioni, attività fisica, etc.) la cui incidenza però sul processo di invecchiamento dell'osso, e quindi sulle strutture utilizzate nelle indagini per la determinazione dell'età, è spesso difficile definire. Tali fattori sono utili nella valutazione dell'età e dello stato di salute di popolazioni estinte ai fini paleoistologici e paleopatologici.

**Cenni sulla struttura dell'osso**

Il tessuto osseo è una forma specializzata di tessuto connettivo caratterizzata dalla mineralizzazione della matrice extracellulare che conferisce notevole durezza e re-

---

sistenza, requisiti questi che si devono soprattutto al deposito di cristalli di calcio nella sostanza intercellulare. È un tessuto in continuo rinnovamento e rimodellamento fin dalle prime fasi dello sviluppo, perdurando per tutta la vita una continua distruzione compensata da produzione di nuovo tessuto.

Si distinguono quattro ordini di struttura:

- Struttura di 1° ordine: considera l'aspetto macroscopico di una sezione di osso ed in particolare la distribuzione della componente compatta e di quella spugnosa.
- Struttura di 2° ordine: descrive l'organizzazione in sistemi delle lamelle che costituiscono il tessuto osseo osservate microscopicamente e delle peculiari cellule che entrano nella costituzione dell'osso.
- Struttura di 3° ordine: concerne l'organizzazione delle fibre collagene nelle singole lamelle viste al microscopio.
- Struttura di 4° ordine: esamina l'organizzazione ultrastrutturale della matrice intercellulare nelle sue componenti organica ed inorganica<sup>10</sup>.

La struttura di 1° ordine è differente nelle ossa lunghe, nelle ossa brevi ed in quelle piatte; le epifisi delle ossa lunghe sono costituite esternamente da uno strato sottile di sostanza compatta mentre la porzione interna è formata da sostanza spugnosa. Analoga costituzione hanno le ossa dello scheletro assile, quelle dei cingoli e le ossa brevi degli arti. La diafisi delle ossa lunghe è costituita da uno spesso astuccio di sostanza compatta che delimita la cavità midollare in diretta comunicazione con gli spazi della spugnosa. Le ossa piatte del cranio sono costituite da due strati superficiali di osso compatto (tavolati interno ed esterno) che racchiudono osso spugnoso (diploe).

Nel tessuto osseo compatto ed in quello spugnoso, la struttura di 2° ordine è differente poiché non è uguale l'organizzazione delle loro lamelle.

Nella diafisi della ossa lunghe, in corrispondenza della superficie esterna, si trovano lamelle sovrapposte in più strati che decorrono parallelamente alla superficie, il sistema delle lamelle limitanti esterne o sottoperiostee; al pari in corrispondenza del canale midollare si trova il sistema delle lamelle limitanti interne o perimidollari. Altri sistemi lamellari, ad orientamento concentrico, sono disposti attorno ai singoli canali vascolari che costituiscono i sistemi lamellari concentrici detti anche sistemi di Havers od osteoni. Gli spazi tra gli osteoni sono colmati dai sistemi di lamelle interstiziali (breccia dell'osso) variamente orientati. Osteoni e sistemi interstiziali sono delimitati da strati di sostanza non fibrillare: le "linee cementanti"; queste presentano un andamento festonato e si distinguono dalle "linee di deposizione", intercalate tra le lamelle concentriche dell'osteone, e non festonate, che rappresentano momenti di pausa nel processo di apposizione delle lamelle stesse<sup>11</sup>.

Gli osteoni possono avere decorso parallelo od obliquo all'asse maggiore dell'osso e sono formati dal canale di Havers posto al centro di un sistema di lamelle ad esso concentriche (**Fig. 10.1**<sup>12</sup>).

I canali di Havers contengono vasi che originano dalle reti vasali periostali. Rami vascolari secondari decorrono nei canali di Volkmann che hanno direzione obliqua o perpendicolare alla superficie dell'osso, attraversano i sistemi di lamelle e sono in co-

---

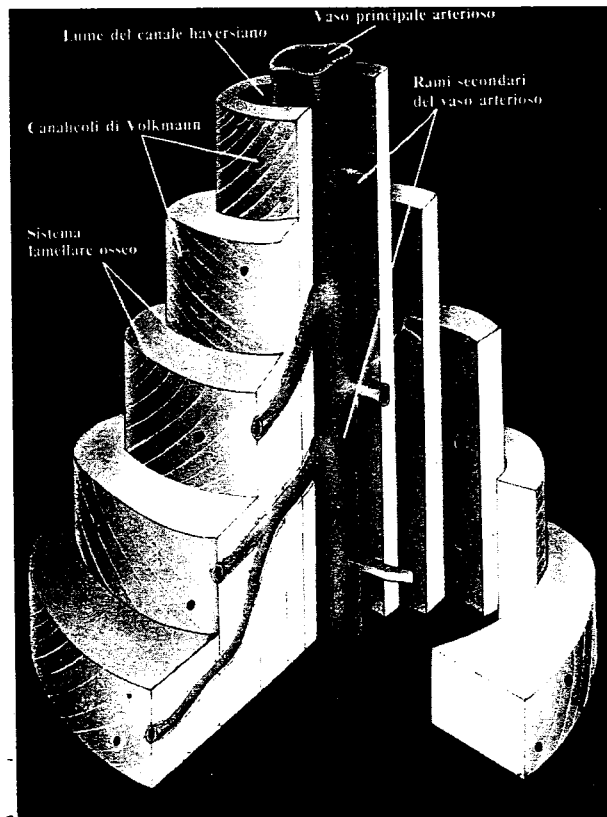


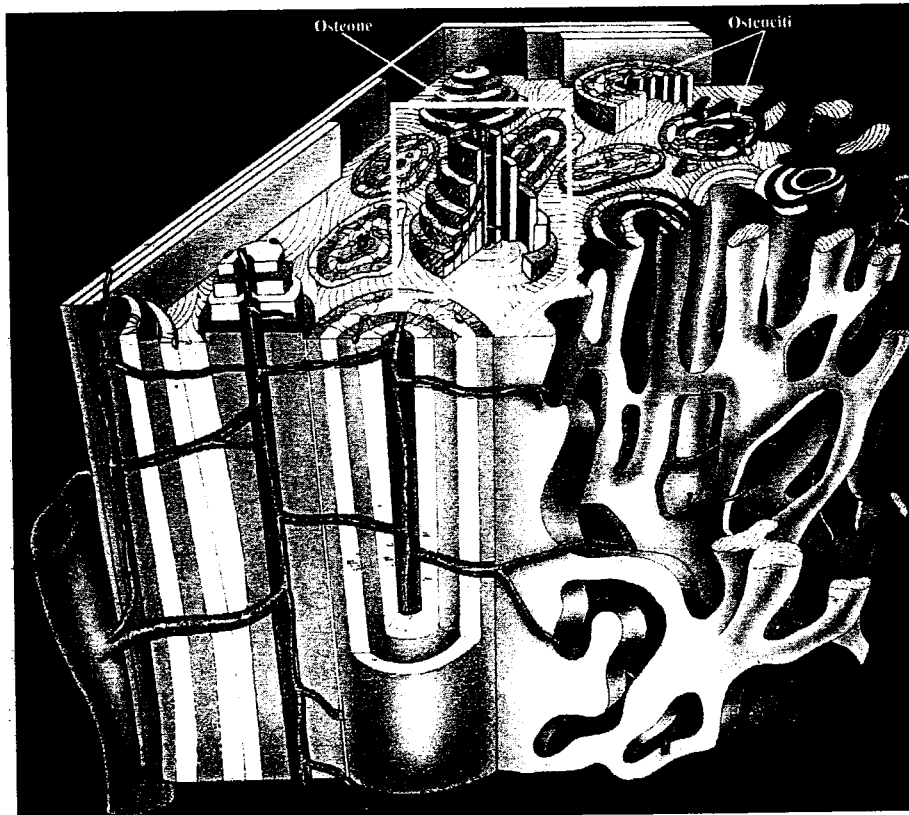
Fig. 10.1 - Rappresentazione di un osteone (da Gennari-Avioli, 1991).

municazione con i canali di Havers<sup>13</sup>. Nelle sezioni istologiche i canali di Volkmann si differenziano da quelli di Havers per il diverso orientamento e perché privi di lamelle concentriche (Fig. 10.2<sup>12</sup>).

La componente spugnosa del tessuto osseo presenta una organizzazione trabecolare; quando le trabecole sono molto sottili queste risultano dalla sovrapposizione di più lamelle ossee, quando sono più spesse possono anche contenere osteoni.

Per quanto riguarda le cellule del tessuto osseo, gli osteoblasti, cellule di derivazione mesenchimale e deputate alla rigenerazione dell'osso, sono presenti immediatamente al di sotto del periostio, dell'endostio e sulle pareti dei canali di Havers<sup>14</sup>. Dagli osteoblasti derivano gli osteociti dotati di prolungamenti che si anastomizzano con quelli degli osteociti vicini e di osteociti di lamelle contigue. Gli osteoclasti sono le cellule deputate alla distruzione del tessuto osseo, sono situate nelle zone in cui ha luogo il riassorbimento osseo e accolte nelle *lacune di Howship*<sup>15</sup>.

La struttura di 3° ordine del tessuto osseo prende in considerazione l'orientamento, nel contesto delle singole lamelle, delle fibre collagene. Queste sono orientate nella stessa direzione in una stessa lamella e in direzioni differenti in lamelle contigue. Nell'osteone, per esempio, nell'ambito di ogni lamella concentrica, le fibre collage-



**Fig. 10.2** - Schema di osso trabecolare e corticale; nel riquadro un osteone (da Gennari-Avioli, 1991).

ne presentano un andamento elicoidale rispetto all'asse longitudinale del canale di Havers. Tale andamento è alternativamente destrorso o sinistrorso nella successione delle lamelle<sup>10</sup>.

Per quanto riguarda la struttura di 4° ordine, la matrice intercellulare è composta da fibre collagene, glicosamminoglicani (GAG), proteoglicani (PG) e cristalli di calcio-apatite. Le fibre collagene costituiscono la maggior parte della componente organica dell'osso ed il loro spessore varia a seconda della sede anatomica e dell'età dell'individuo; il loro spessore aumenta durante l'accrescimento fino al raggiungimento di un valore soglia differenziato per età e segmento scheletrico.

La matrice inorganica è costituita principalmente da fosfato e carbonato di calcio e rappresenta circa il 65% del peso secco dell'osso<sup>11</sup>.

### **Modificazioni della struttura dell'osso in rapporto all'età**

Fin dai primi del novecento, alcuni Autori<sup>16,17</sup> avevano evidenziato che il tessuto osseo è soggetto ad imponenti modificazioni a partire dai primi anni di vita.



Nel 1936 Amprino e Bairati<sup>1</sup> condussero uno studio volto a definire le varie componenti presenti nell'osso e le loro modificazioni quali-quantitative in rapporto all'età. In tale studio furono esaminati campioni di osso non decalcificato, appartenenti a soggetti di età compresa tra l'ottavo mese di vita fetale ed il novantaquattresimo anno, che consentirono agli Autori di individuare cinque fasi dell'accrescimento dell'osso corrispondenti ai seguenti periodi:

- dalla prima formazione dell'osso al 1° anno di vita,
- dal 1° al 15° anno,
- dal 15° al 35° anno,
- dal 35° al 55° anno,
- oltre il 55° anno.

In un lavoro successivo, gli stessi Autori affermarono che le componenti dell'osso nelle varie età subiscono trasformazioni che permettono all'osservatore di dedurre, con una certa approssimazione, l'età scheletrica dell'individuo a cui la struttura ossea appartiene in vita<sup>9</sup>.

Tali Autori dimostrarono che nel primo anno di vita, nella sostanza compatta delle ossa lunghe l'osso lamellare sostituisce l'osso a fibre intrecciate; la deposizione di lamelle fondamentali ha luogo al di sotto del periostio e sulla parete della cavità midollare, così da formare i sistemi di lamelle fondamentali interne ed esterne.

Allo stesso tempo i vasi sottoperiosteali sono inglobati dall'osso, attorno ad essi, le lamelle fondamentali si incurvano a doccia disponendosi concentricamente. Si formano così osteoni appena abbozzati, molto piccoli e con la tipica struttura degli osteoni primari (ovvero senza linea cementante). Fino al quinto-settimo anno di vita, il processo di apposizione di sistemi lamellari esterni prevale sulle modificazioni interne della struttura della compatta, favorendo l'accrescimento della compatta. Contemporaneamente ha luogo l'erosione dell'osso preesistente a partire dalla parete della cavità midollare che quindi aumenta di diametro e, per azione degli osteoclasti e dei vasi provenienti dal midollo, si scavano lacune nel contesto dei sistemi lamellari fondamentali. Le lacune vengono riempite da osso di nuova formazione che, depositandosi concentricamente, dà origine ai sistemi haversiani secondari. Attorno agli spazi di Havers neoformati, per deposizione concentrica di lamelle, si formano gli osteoni secondari, di grandi dimensioni, che in questa fase sono numericamente scarsi ed hanno direzione disordinata.

In seguito il numero degli osteoni aumenta, il loro decorso si fa sempre più regolare, i sistemi lamellari interposti diminuiscono, mentre procede l'apposizione di sistemi fondamentali sottoperiosteali che continua fin oltre il trentesimo anno di età.

Nella porzione interna della compatta, i processi di erosione e di deposizione di lamelle concentriche proseguono fino a tarda età e, poiché i sistemi concentrici che si formano dopo il secondo decennio si originano nel contesto di un osso costituito per la maggior parte da osteoni, l'ulteriore formazione di lacune e la deposizione di sistemi concentrici favoriscono la formazione della componente denominata *breccia dell'osso* (secondo v. Heuler).

Dopo il quinto decennio i fenomeni di erosione si fanno più intensi, soprattutto in corrispondenza della parete della cavità midollare. Ciononostante la deposizione di nuovo tessuto, pur continuando, non è più in grado di compensare l'erosione, si produce in tal modo il tipico quadro dell'osteoporosi senile.

In sintesi la microstruttura ossea tipica del primo decennio di vita, è caratterizzata dalla prevalenza dei sistemi delle lamelle fondamentali, interrotti da grandi ed irregolari sistemi haversiani; nel secondo decennio, gli osteoni sono più numerosi ma il loro decorso è ancora irregolare, le lamelle fondamentali diminuiscono, i singoli sistemi concentrici sono circondati lungo parte del loro perimetro da altri sistemi concentrici, incompleti, e non separati dall'osteone da linee cementanti. Tuttavia linee cementanti separano osteoni e mantelli lamellari dal tessuto lamellare circostante, formando la struttura che gli Autori definiscono "a zolle" tipica degli individui del secondo decennio e della prima metà del terzo decennio.

Nel terzo-quarto decennio la struttura ossea si presenta più regolare, il sistema di lamelle fondamentali esterne ed interne è più sottile, tra gli osteoni le lamelle interstiziali sono scarse e prevalgono osteoni cilindrici con lume centrale.

Raramente la formazione di lamelle fondamentali esterne continua dopo il quarantacinquesimo anno di età; pertanto gli osteoni e la breccia giungono quasi a contatto del periostio. A questa stessa età ai fenomeni di accrescimento si associano fenomeni di riassorbimento non compensati da ulteriore apposizione ossea che possono generare cavità non colmate da nuovi sistemi concentrici. Tali fenomeni hanno luogo inizialmente in prossimità della cavità midollare e si estendono verso la periferia della compatta. In questo modo si viene a formare tessuto spugnoso con lacune molto ampie, mentre la compatta si riduce ad uno strato estremamente sottile (8° e 9° decennio).

L'intensità dei fenomeni considerati è estremamente variabile in relazione a fattori individuali costituzionali. È possibile, infatti, che ossa di individui relativamente giovani mostrino caratteri istologici tipici dell'osso dell'adulto e viceversa: talora, infatti, intorno al trentacinquesimo anno di età possono ancora essere riconoscibili nidi di tessuto osseo a fibre intrecciate; per contro, verso il quinto decennio di vita possono essere accentuati i fenomeni di riassorbimento osseo mentre gli stessi possono essere trascurabili in alcuni individui ultraoctagenari. Ne consegue che tali fenomeni evolvono con modalità ed intensità differenti nei diversi soggetti con ripercussioni negative sulla possibilità di utilizzare i metodi istomorfometrici per la corretta definizione dell'età scheletrica. È necessario ricordare che mentre la successione dei fenomeni di comparsa delle varie componenti istologiche è la stessa per tutte le ossa, i primi osteoni e le lamelle fondamentali appaiono più tardivamente in alcuni segmenti ossei, soprattutto nelle falangi<sup>1,9,18</sup>.

Nel 1960, Jowsey, esaminando la diafisi di femore, al terzo medio, descrisse l'aspetto microradiografico dell'osso normale e tentò di correlare le variazioni di struttura osservate con l'età dei soggetti esaminati. I risultati ottenuti evidenziarono che individui non ancora adulti mostravano intensi fenomeni di formazione e di riassorbimento osseo con elevato rimaneggiamento. Il rimaneggiamento tuttavia era modesto in giovani adulti ed aumentava con l'età: in particolare, oltre i 50 anni, aumentavano soprattutto il riassorbimento dell'osso "endostale" nonché il numero degli osteoni incompleti; dopo i 60 anni diventavano numerosi gli osteoni con canale haversiano chiuso per tre quarti. Con l'avanzare dell'età, inoltre, si accentuavano porosità e grado di mineralizzazione dell'osso<sup>2</sup>.

Alcune delle affermazioni della Jowsey furono contestate da Ortner (1975) il quale sostenne che, con il progredire dell'età dell'individuo, non aumentava il riassorbimento osseo, ma piuttosto tendeva a ridursi l'apposizione di nuovo tessuto: si man-

terrebbe dunque costante l'attività osteoclastica mentre si ridurrebbe invece quella degli osteoblasti<sup>19</sup>.

### **Metodi istomorfometrici**

La determinazione dell'età mediante l'analisi istologica quantitativa da resti scheletrici ha inizio nel 1911 con le indagini di Balthazar e Lebrun. Tali Autori calcolarono su 200 campioni ossei prelevati dalla diafisi della tibia, il valore medio del diametro dei canali haversiani al fine di verificare l'esistenza di una correlazione con l'età. Le misurazioni furono effettuate con micrometro oculare su sezioni di osso non decalcificato e fu rilevato che il valore del diametro medio dei canali di Havers era direttamente proporzionale all'età dell'individuo<sup>20</sup>.

Tali conclusioni, tuttavia, vennero criticate da Deslypere e Baert i quali, dopo aver riesaminato lo stesso campione studiato dai due Autori francesi, utilizzando la medesima metodica, ne dimostrarono l'inefficacia in quanto i risultati ottenuti nelle due indagini erano discordanti. Confortati anche dalle osservazioni di Amprino e Bairati<sup>1</sup> sulla esistenza di una estrema variabilità individuale delle dimensioni dei canali haversiani, e pur riconoscendo a Balthazar e Lebrun il merito di aver dimostrato che il tessuto osseo non fosse una struttura statica, sconsigliarono l'impiego di tale metodo nelle indagini antropologiche di interesse medico-legale<sup>21</sup>.

Un corretto approccio morfometrico al rimaneggiamento dell'osso nelle varie età dell'individuo fu messo a punto da Kerley<sup>3</sup>, da Ahlquist e Damsten<sup>7</sup>, da Sing e Gumberg<sup>4</sup> e da Thompson<sup>6</sup> i quali studiarono le microstrutture ossee di soggetti con dati antropometrici (sesso ed età) e clinici noti. I risultati ottenuti nelle predette indagini furono sottoposti ad analisi statistica. In tal modo si ottennero curve di regressione in grado di rappresentare la correlazione esistente tra l'età (variabile dipendente) dell'individuo e le variazioni del singolo parametro o dei parametri (variabile indipendente) presi in esame, fornendo quindi un valido schema operativo per la determinazione dell'età su resti scheletrici.

### **Metodo di Kerley**

Nel 1965 E.R. Kerley tentò di standardizzare un metodo di valutazione istomorfometrica per la determinazione dell'età studiando sezioni di tessuto osseo (126 sezioni di osso non decalcificato) appartenenti ad un campione di 88 maschi, 29 femmine e 9 soggetti di sesso non precisato, rappresentativo dei decenni, dalla nascita fino al novantacinquesimo anno di età. Si trattava di soggetti per lo più di razza caucasica e dei quali era nota la storia clinica che non rivelava patologie recenti.

Il metodo si basava sulla valutazione di pochi parametri istologici ed il campione, a causa della modesta entità, non era diversificato per sesso e razza di appartenenza.

Il metodo di Kerley si basava sull'impiego di una sezione completa della diafisi di femore, tibia e fibula, prelevata in corrispondenza del terzo medio dell'osso.

Le sezioni, non decalcificate, erano quindi esaminate con un microscopio ottico equipaggiato con obiettivo 10x ed oculare 10x.

Il metodo prevedeva di valutare quattro campi circolari del diametro di 1.25 mm

---

posizionati lungo la circonferenza della sezione, nella porzione corrispondente al terzo esterno della corticale, in sede anteriore, posteriore, mediale e laterale (**Fig. 10.3**).

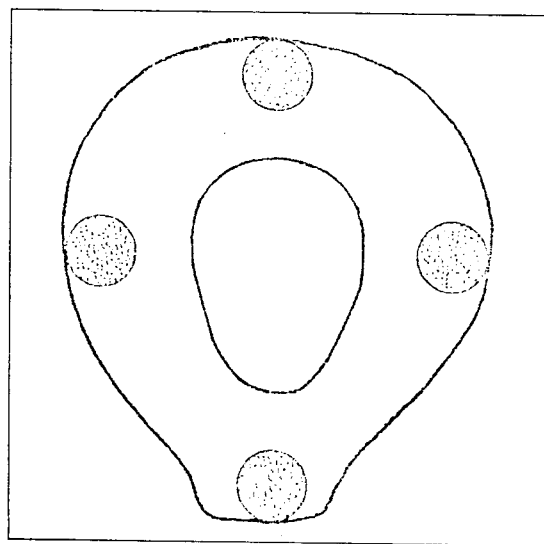
I parametri considerati erano i seguenti:

- numero di osteoni secondari,
- frammenti di osteoni secondari,
- area percentuale di osso lamellare circonferenziale,
- numero di canali non haversiani.

Ricordiamo, ai fini di una migliore comprensione della metodica proposta, come ciascun parametro fu definito da Kerley:

**a. Osteoni.** L'osteone o sistema haversiano è un canale vascolare circondato da lamelle concentriche contenenti osteociti, più o meno uniformemente distanziati, nelle lacune. Attorno all'intera periferia dell'osteone vi è una linea cementante ("reversal line") che delimita l'area dove il riassorbimento osteoclastico si è fermato ed è stato seguito da apposizione di nuovo osso. Al fine di differenziare gli osteoni dai frammenti di osteoni, spesso difficilmente distinguibili fra loro nella pratica, Kerley propose di considerare osteoni quelle strutture caratterizzate da un canale intatto e complete per circa l'80%; in caso contrario si sarebbe trattato di frammenti di osteoni.

**b. Frammenti di vecchi osteoni (breccia dell'osso).** L'escavazione degli osteoclasti a carico dell'osso haversiano produce la formazione di frammenti di vecchi osteoni che possono circondare il margine del canale e persistere quando termina il riassorbimento ed inizia la sostituzione dell'osso. Il numero di questi frammenti aumenta con l'età man mano che vecchi osteoni sono parzialmente distrutti.



**Fig. 10.3** - Campi microscopici posti lungo la circonferenza dell'osso considerati da Kerley per la valutazione dei parametri istologici (da Kerley, 1965).

**c. Osso lamellare circonferenziale.** È costituito da lamelle ossee che sono disposte parallelamente nella parte esterna della corteccia. Sono birifrangenti in luce polarizzata e possono essere distinte per la presenza di lunghe fibre collagene parallele. L'osso lamellare circonferenziale è presente prevalentemente nell'infanzia.

**d. Canali non haversiani.** Sono costituiti da tutti gli spazi vascolari che si sono formati per inclusione di piccoli vasi sanguigni periferici nell'osso per la rapida espansione del diametro della corticale; sono compresi nella definizione anche quelli delimitati in maniera incompleta da lamelle concentriche e che formano gli osteoni primari o sistemi pseudo-Haversiani.

Le valutazioni istomorfometriche vengono effettuate sulla base delle predette definizioni. In pratica si contano e si sommano tutti gli osteoni, inclusi quelli parzialmente compresi nel campo istologico, in modo da ottenere un unico valore finale rappresentativo del numero di osteoni per quella particolare sezione. La stessa procedura è utilizzata anche per i frammenti di osteoni e per i canali non haversiani. Per quanto riguarda l'osso lamellare circonferenziale l'Autore suggerisce di calcolare la percentuale presente in ognuno dei quattro campi e di ottenerne il valore medio rappresentativo dell'osso lamellare nella zona esterna della corticale.

Il valore di ciascuno dei predetti parametri è quindi inserito nelle equazioni di regressione (Tab. 10.1) ottenute dall'Autore e specifiche per parametro ed osso considerati. Si ottiene quindi un valore numerico finale che corrisponde all'età dell'individuo e del quale sono anche noti il coefficiente di correlazione e l'errore standard.

Tab. 10.1 - Equazioni di regressione per la stima dell'età (Y) dai parametri valutati (X) da Kerley 1965, modificata).

| PARAMETRI                       | EQUAZIONI DI REGRESSIONE                     | CORRELAZIONE   | E.S.  |
|---------------------------------|--|----------------|-------|
| <b>Femore</b>                   |  |                |       |
| osteoni                         | $Y = 3.473 + 0.144X + 0.003X^2$              | $\rho = 0.922$ | 9.39  |
| frammenti di osteoni            | $Y = 8.786 + 0.834X$                         | $r = 0.864$    | 12.19 |
| osso lamellare circonferenziale | $Y = 79.455 - 2.427X + 0.023X^2$             | $\rho = 0.870$ | 11.78 |
| canali non haversiani           | $Y = 57.811 - 1.728X + 0.013X^2$             | $\rho = 0.815$ | 13.85 |
| <b>Tibia</b>                    |  |                |       |
| osteoni                         | $Y = -10.82 + 0.634X$                        | $r = 0.925$    | 6.69  |
| frammenti di osteoni            | $Y = -7.061 + 0.931X + 2.210X^2 - 2.538X^3$  | $\rho = 0.947$ | 7.78  |
| osso lamellare circonferenziale | $Y = 76.338 - 1.794X + 0.011X^2$             | $\rho = 0.816$ | 13.62 |
| canali non haversiani           | $Y = 70.270 - 10.944X + 0.647X^2 - 0.011X^3$ | $\rho = 0.790$ | 9.63  |
| <b>Fibula</b>                   |  |                |       |
| osteoni                         | $Y = 2.366 - 0.538X + 0.048X^2 - 0.001X^3$   | $\rho = 0.922$ | 8.83  |
| frammenti di osteoni            | $Y = 1.328 - 0.058X + 0.034X^2$              | $\rho = 0.974$ | 5.27  |
| osso lamellare circonferenziale | $Y = 69.108 - 2.208X + 0.015X^2$             | $\rho = 0.881$ | 10.85 |
| canali non haversiani           | $Y = 55.241 - 4.300X + 0.050X^2$             | $\rho = 0.879$ | 10.70 |

E.S. = Errore Standard

L'accuratezza della stima dell'età scheletrica è ovviamente migliore qualora siano disponibili i dati ottenuti dallo studio della corticale di due o delle tre ossa lunghe

dell'arto inferiore. Al riguardo Kerley mise a punto uno schema sinottico (*profile chart*) nel quale inserire i dati relativi ai singoli parametri nelle sezioni esaminate (vedi Fig. 10.4), come di seguito indicato:

- si conta il numero degli osteoni, dei frammenti di osteoni o dei canali non haversiani e si determina la percentuale di osso lamellare circonferenziale presente nei quattro campi della diafisi dell'osso considerato;
- si riporta tale numero sull'asse delle ordinate del grafico specifico (Figg. 10.5-10.7);
- si traccia una linea orizzontale che interseca i due lati della curva che indica il range dell'età;
- da tali intersezioni, si tracciano linee a decorso verticale che a loro volta intersecano l'asse delle ascisse: in tal modo si individua il range di età corrispondente al numero di osteoni;

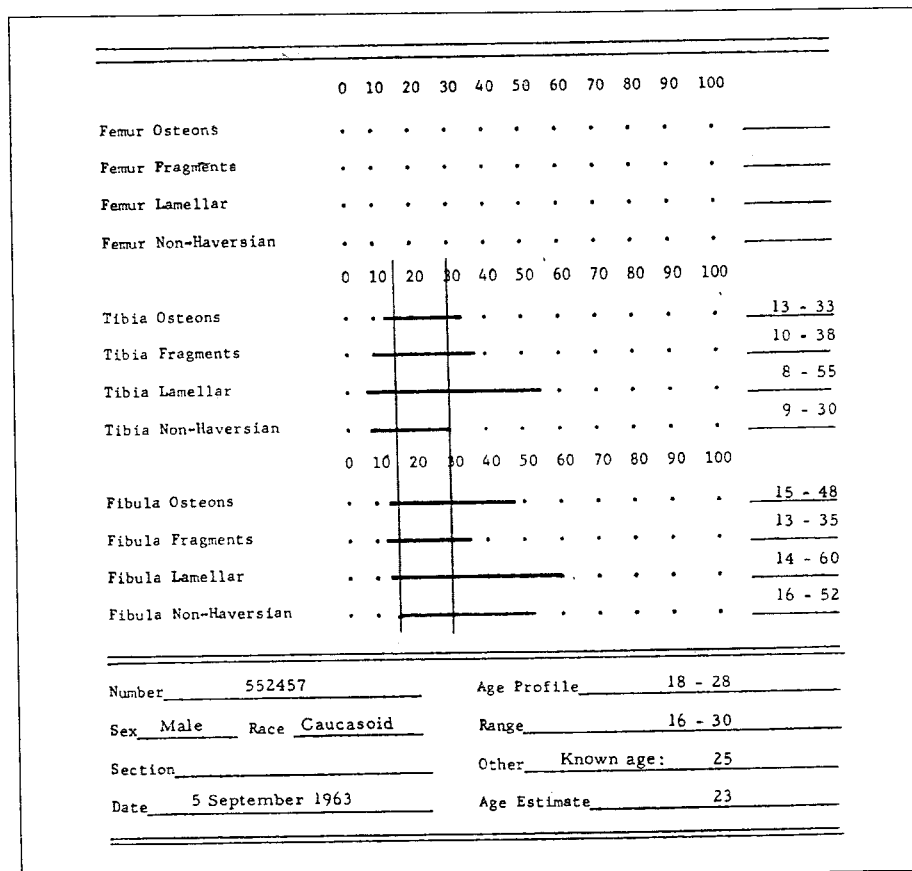


Fig. 10.4 - Mappa dei profili per illustrare il metodo per la stima dell'età per quattro componenti corticali della tibia e della fibula di un maschio caucasico (da Kerley, 1965).

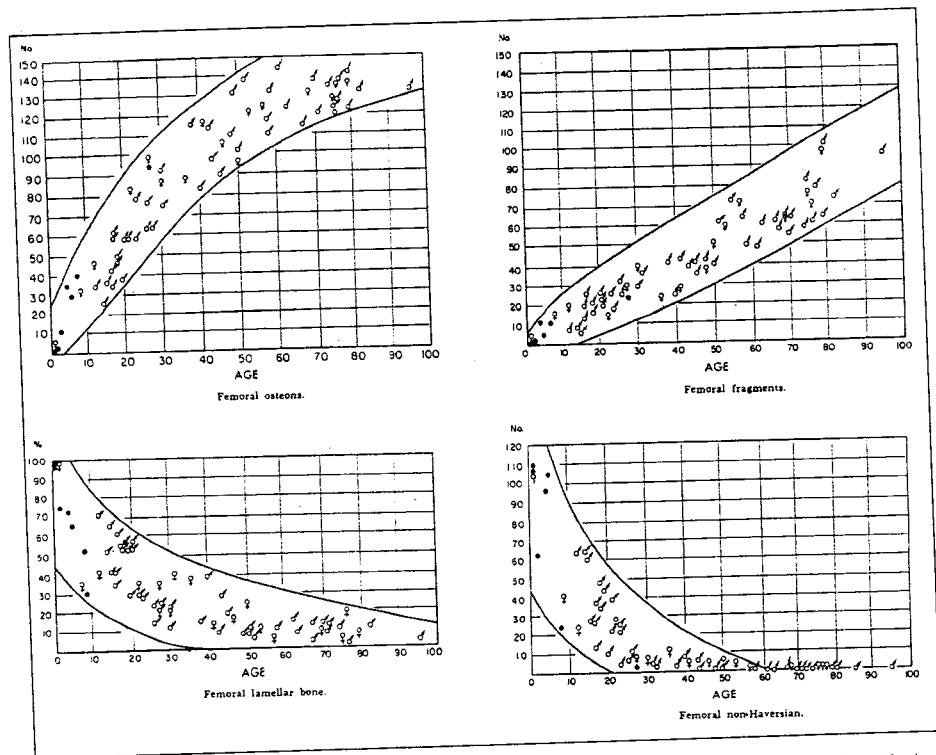


Fig. 10.5 - Curve dell'intervallo di età per le quattro componenti corticali del femore (da Kerley, 1965).

- si riporta tale range di età sotto forma di linea orizzontale nella *profile chart* in corrispondenza del parametro impiegato;
- quindi si tracciano due linee verticali di cui l'una passante per l'età minima più elevata e l'altra per l'età massima meno elevata; l'intervallo delimitato da tali linee verticali rappresenta il range di età al quale corrispondono i valori di tutte le componenti dell'osso esaminate.

Poniamo il caso che il numero di osteoni ottenuto nei quattro campi del terzo esterno della corticale della tibia siano ad esempio 60; riportiamo tale valore sull'asse delle ordinate del corrispondente grafico (Fig. 10.6) e tracciamo una linea orizzontale che partendo da questo punto intersechi la curva di regressione fornita da Kerley. Dalle intersezioni così ottenute si tracciano due linee verticali che intersecano l'asse delle ascisse, nell'esempio corrispondenti ai valori 13 e 33. Questi rappresentano gli estremi del range dell'età stimata per quel segmento osseo utilizzando il parametro prescelto (numero di osteoni). Questi valori vengono riportati nella *profile chart* sia come valori numerici sia tracciati sotto forma di linea orizzontale nella scala di età fornita. Quindi si procede analogamente anche per gli altri parametri disponibili. Nell'esempio di Kerley riportato nella *profile chart*, l'età stimata varia da 18 a 28 anni con una media pari a 23 anni.

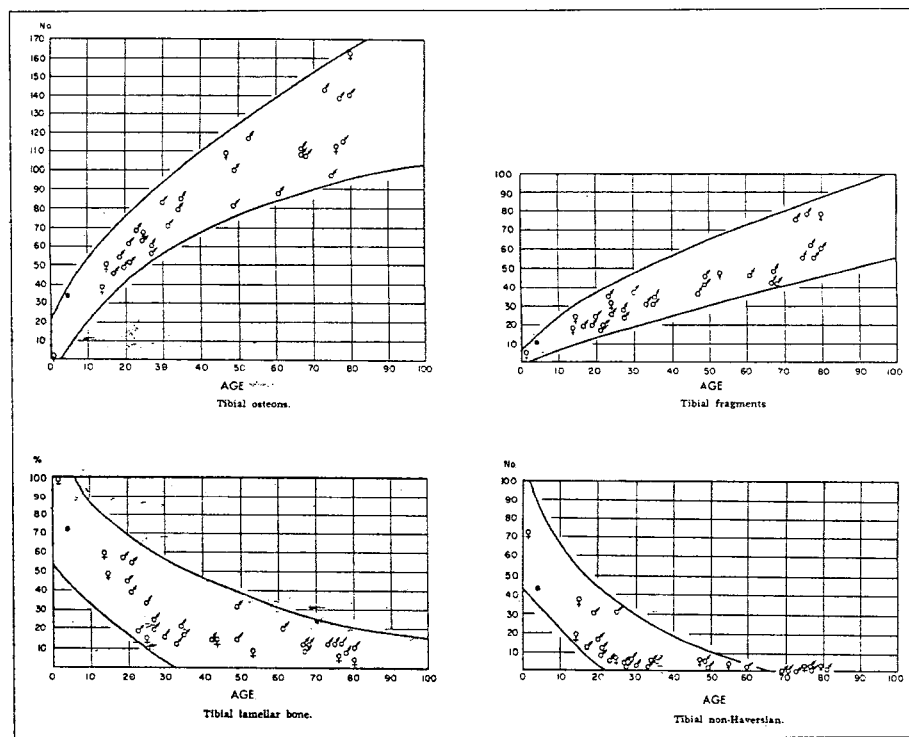


Fig. 10.6 - Curve dell'intervallo di età per le quattro componenti corticali della tibia (da Kerley, 1965).

Kerley sottolineò, inoltre, l'utilità della *profile chart* in casi particolari: ad esempio la coesistenza di notevoli contrasti nella distribuzione degli intervalli di età ottenuti con i quattro parametri avrebbe indicato la natura patologica dell'osso e quindi la necessità della sua esclusione dal calcolo dell'età. Così come, sostanziali discrepanze tra i valori di valutazione dell'età ottenuti dallo studio di due differenti segmenti ossei, avrebbero dovuto indurre il sospetto di una commistione di resti scheletrici.

Kerley sperimentò la propria *profile chart* su un ulteriore campione di 56 soggetti, di età nota (0-82 anni) rilevando che nella maggior parte dei casi la stima dell'età variava di  $\pm 10$  anni rispetto all'età reale del soggetto. Tale variazione si riduceva a circa  $\pm 5$  anni suddividendo il campione in due gruppi di età, al di sopra ed al di sotto dei 30 anni. Questo risultato sottolineava la possibilità che l'età influisse sulla accuratezza della valutazione.

In considerazione dei risultati ottenuti, Kerley concluse che i parametri istologici e le loro modificazioni utilizzati nel metodo proposto, non erano suscettibili di variazioni correlate al sesso ed alla razza del soggetto.

Successivamente rilevando che a seconda del tipo di microscopio, a parità di oculare (10x) e di obiettivo (10x) utilizzati il diametro dei campi microscopici variava da 1,2 a 2 mm, Kerley segnalò che l'uso di microscopi con campi di dimensioni differenti, anche solo per frazioni dell'unità, avrebbe potuto indurre errori di stima, ren-



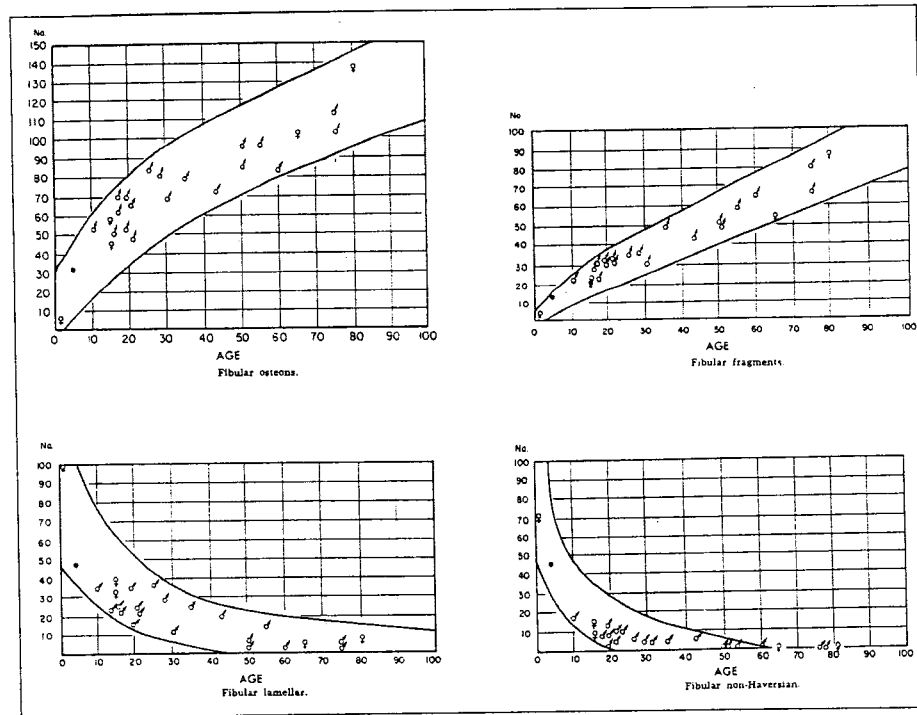


Fig. 10.7 - Curve dell'intervallo di età per le quattro componenti corticali della fibula (da Kerley, 1965).

dedo impossibile il "trasferimento" delle valutazioni e quindi dei dati da un laboratorio all'altro<sup>3</sup>.

Il problema fu risolto da Kerley e Ubelaker che effettuarono nuove misurazioni, sulle sezioni originali di osso, adoperando un campo microscopico di dimensioni calibrate; dal confronto con le valutazioni originali emerse che il diametro del campo microscopico in base al quale erano stati ottenuti i risultati originali dello studio di Kerley era di 1,62 mm e non di 1,25 mm.

Pertanto gli Autori segnalano la necessità di riportare i diversi valori del diametro di campo dipendenti dal tipo di microscopio usato a quello di riferimento adoperato da Kerley: ad esempio, la superficie di sezione osservata con un campo microscopico circolare all'ingrandimento lineare di 100x, dovrebbe essere preliminarmente misurata con una griglia micrometrica; tale valore dovrebbe essere diviso per il valore dell'area (2,06 mm<sup>2</sup>) usata da Kerley e Ubelaker e corrispondente al campo microscopico di 1,62 mm di diametro. È necessario quindi moltiplicare per il fattore di correzione tutti i valori ottenuti contando gli osteoni, i frammenti di osteone o i canali non haversiani. Per quel che riguarda la percentuale di osso lamellare, non è necessaria alcuna correzione.

Alla luce di tali osservazioni, Kerley ed Ubelaker riesaminarono il campione istologico proponendo nuove equazioni di regressione adeguatamente corrette (Tab. 10.2)<sup>22</sup>.

**Tab. 10.2** – Equazioni di regressione per la valutazione dell'età al momento del decesso (Y) dai parametri valutati (X) (da Kerley ed Ubelaker, 1978. modificata)

| PARAMETRI                          | EQUAZIONI<br>DI REGRESSIONE                    | E.S.  |
|------------------------------------|--|-------|
| <b>Femore</b>                      |  |       |
| osteoni                            | $Y = 2.278 + 0.187X + 0.00226X^2$              | 9.19  |
| frammenti di osteoni               | $Y = 5.241 + 0.509X + 0.017X^2 - 0.00015X^3$   | 6.98  |
| osso lamellare<br>circonferenziale | $Y = 75.017 - 1.790X + 0.0114X^2$              | 12.52 |
| canali non haversiani              | $Y = 58.39 - 3.184X + 0.0628X^2 - 0.00036X^3$  | 12.12 |
| <b>Tibia</b>                       |  |       |
| osteoni                            | $Y = -13.4218 + 0.660X$                        | 10.53 |
| frammenti di osteoni               | $Y = -26.997 + 2.501X - 0.014X^2$              | 8.42  |
| osso lamellare<br>circonferenziale | $Y = 80.934 - 2.281X + 0.019X^2$               | 14.28 |
| canali non haversiani              | $Y = 67.872 - 9.070X + 0.440X^2 - 0.0062X^3$   | 10.19 |
| <b>Fibula</b>                      |  |       |
| osteoni                            | $Y = -23.59 + 0.74511X$                        | 8.33  |
| frammenti di osteoni               | $Y = -9.89 + 1.064X$                           | 3.66  |
| osso lamellare<br>circonferenziale | $Y = 124.09 - 10.92X + 0.3723X^2 - 0.00412X^3$ | 10.74 |
| canali non haversiani              | $Y = 62.33 - 9.776X + 0.5502X^2 - 0.00704X^3$  | 14.62 |

E.S. = Errore Standard

### Metodo di Ahlqvist e Damsten

J. Ahlqvist e O. Damsten (1969), partendo dal presupposto che col progredire della età nell'area subperiosteale del terzo medio della diafisi delle ossa lunghe aumenta il numero di osteoni e di frammenti di osteoni mentre si riducono l'osso circonferenziale lamellare e il numero dei canali non haversiani, suggerirono una esemplificazione del metodo di Kerley.

Studiando sezioni di 20 femori appartenenti a soggetti di età compresa tra 4 ed 89 anni, gli Autori presero in considerazione gli stessi parametri utilizzati da Kerley suddividendoli in due gruppi principali a seconda che gli stessi aumentassero (osteoni secondari e frammenti di osteoni) o diminuissero (osso lamellare e canali non haversiani) con l'avanzare dell'età dell'individuo. Inoltre, essendo difficoltoso differenziare ciascun parametro all'interno dei gruppi indicati (osteoni e frammenti di osteoni; osso lamellare circonferenziale e canali non haversiani), suggerirono di misurare complessivamente l'area occupata dai parametri costituenti ciascun gruppo, ritenendo tale valore rappresentativo dei rapporti esistenti tra le varie componenti istologiche della sezione.

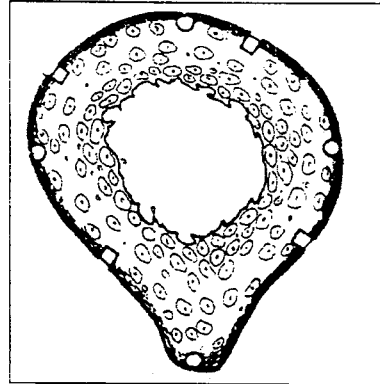
Le sezioni di femore o di altre ossa lunghe furono condotte al terzo medio della diafisi e prevedevano un trattamento differente in base alle esigenze:

- sezioni di osso non decalcificato, dello spessore di 30-50  $\mu\text{m}$ , ottenute per abrasione, nel caso di materiale di studio particolarmente fragile come ossa antiche o di interesse archeologico;
- osso decalcificato in sezioni dello spessore di 25  $\mu\text{m}$ , quando si trattava di resti scheletrici in buono stato di conservazione.

Rispetto alla metodica di Kerley, gli Autori

- spostarono la sede dei quattro campi esaminati su cui effettuare le misurazioni (Fig. 10.8) evitando la linea aspera che è caratterizzata da una variabilità strutturale non dipendente in maniera esclusiva dall'età ma anche da sollecitazioni meccaniche dovute alle inserzioni muscolari;
- adottarono campi di forma quadrata.

In concreto il metodo richiedeva di segnare sul vetrino coprioggetto il punto in cui dovevano essere eseguite le misurazioni. Si procedeva quindi alle stesse con un microscopio a luce polarizzata dopo aver inserito all'interno dell'oculare un reticolo a 100 maglie (10×10) che sul piano ottico formava un quadrato con i lati della lunghezza di 1 mm (Fig. 10.9) a livello della sezione in esame. Si contava quindi il numero delle maglie di reticolo occupate per oltre la metà da osteoni o da frammenti di osteoni presenti nelle quattro aree esaminate ed il valore totale di tali formazioni era diviso per quattro in modo da calcolare il valore medio percentuale.



**Fig. 10.8** - Nel metodo di Kerley le determinazioni sono effettuate nei campi circolari, nel metodo di Ahlqvist e Damsten a livello dei quadratini (da Ahlqvist e Damsten, 1969).



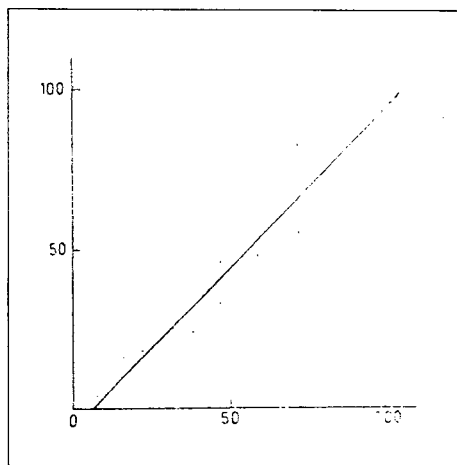
**Fig. 10.9** - Microfotografia in luce polarizzata (da Ahlqvist e Damsten, 1969).

Elaborando i dati così ottenuti furono ricavate le seguenti equazioni di regressione lineare e di regressione polinomiale di secondo grado idonee a rappresentare la correlazione con l'età (Y) dell'individuo:

$$y = 0,991x - 4,96 \pm 6,71 \quad (p = 0,965)$$

$$y = 0,00206x^2 + 0,783x - 0,99 \pm 6,79 \quad (p = 0,962)$$

dove x è uguale al valore medio percentuale di osteoni e frammenti di osteoni nei quattro campi esaminati (**Fig. 10.10**).



**Fig. 10.10** - Correlazione lineare ( $y = 0,991x - 4,96 \pm 6,71$ ) esistente tra età dell'individuo e percentuale di osteoni e frammenti di osteoni rilevati nelle sezioni.

In accordo con Kerley, i parametri esaminati non mostravano variazioni correlate al sesso: nella stima dell'età, con tale metodo, non era pertanto necessario effettuare preventivamente la determinazione del sesso scheletrico.

In base ai risultati ottenuti gli Autori ritennero che le modifiche suggerite erano idonee a semplificare il metodo di Kerley ed a ridurre l'incidenza della soggettività nelle valutazioni delle sezioni<sup>7</sup>.

Nel 1977 Bouvier e Ubelaker misero a confronto la metodica di Kerley con quella di Ahlqvist e Damsten studiando sezioni di 40 femori di un campione scheletrico con dati antropometrici noti. Dalle rilevazioni effettuate con il metodo

di Kerley si ottenevano stime dell'età con errore standard di circa  $\pm 8,20$  anni, del tutto prossimo al valore di 9,39 anni già segnalato da Kerley. Con il metodo di Ahlqvist e Damsten l'errore standard risultò pari a  $\pm 9,50$  anni, del tutto differente dal valore di  $\pm 6,71$  indicato nei lavori originali.

Inoltre, dopo aver suddiviso il campione esaminato in due fasce differenti per età, risultò che nei soggetti tra i 20 e 45 anni l'errore standard era pari a  $\pm 13,87$  con il metodo di Ahlqvist e Damsten e di  $\pm 9,93$  con il metodo di Kerley, mentre minore apparve la differenza tra i due valori di errore standard nel gruppo di età compresa tra 45 e 90 anni (E.S.  $\pm 8,05$  metodo di Kerley<sup>3</sup>; E.S.  $\pm 7,50$  metodo di Ahlqvist e Damsten<sup>7</sup>).

Tali risultati quindi orientavano per una non uniforme accuratezza della stima di gruppi di età differenti.

Tali differenze tuttavia furono poste in relazione alla diversa ampiezza del campione esaminato dagli Autori<sup>23</sup>.

## Metodo di Singh e Gunberg

I.J. Singh e D.L. Gunberg nel 1970 hanno esaminato un campione di 59 soggetti, di età compresa tra 39 ed 87 anni, dei quali studiarono sezioni istologiche del diametro di cm 1x1, prelevate dalla regione anteriore del terzo medio diafisario del femore e della tibia nonché dalla mandibola, a livello del bordo posteriore del ramo in prossimità della lingula.

Gli Autori, selezionando in modo random due campi di osservazione in corrispondenza del terzo periosteale dell'osso, misurarono tre parametri:

- numero degli osteoni secondari ( $x_1$ ),
- media di lamelle per osteone ( $x_2$ ),
- diametro medio dei canali di Havers ( $x_3$ ).

I risultati ottenuti furono sottoposti ad analisi statistica che permise di elaborare equazioni di regressione lineare ad una, due o tre variabili (Tab. 10.3).

**Tab. 10.3** – Equazioni di regressione per la stima dell'età da frammenti istologici di sezioni di tessuto osseo (da Singh e Gunberg, 1970, modificata).

| Equazioni di regressione multipla         | Errore standard |
|---|-----------------|
| <b>Mandibola</b>                          |                 |
| $Y = 20.82 + 0.85x_1 + 0.87x_2 - 0.22x_3$ | 2.55            |
| $Y = -18.99 + 1.13x_1 + 1.76x_2$          | 2.69            |
| $Y = 32.23 + 0.92x_1 - 0.30x_3$           | 2.58            |
| $Y = 74.73 + 1.52x_2 - 0.45x_3$           | 3.04            |
| $Y = -28.24 + 1.68x_1$                    | 3.02            |
| $Y = 5.31 + 5.00x_2$                      | 3.83            |
| $Y = 103.99 - 0.63x_3$                    | 3.16            |
| <b>Femore</b>                             |                 |
| $Y = 27.65 + 0.65x_1 + 0.78x_2 - 0.26x_3$ | 3.24            |
| $Y = -14.69 + 1.13x_1 + 1.11x_2$          | 3.55            |
| $Y = 29.59 + 0.79x_1 - 0.28x_3$           | 3.25            |
| $Y = 61.25 + 1.74x_2 - 0.44x_3$           | 3.52            |
| $Y = 16.10 + 1.38x_1$                     | 3.60            |
| $Y = 2.00 + 5.16x_2$                      | 5.01            |
| $Y = 89.01 - 0.62x_3$                     | 3.82            |
| <b>Tibia</b>                              |                 |
| $Y = 43.52 + 0.29x_1 + 1.47x_2 - 0.34x_3$ | 3.02            |
| $Y = -3.40 + 0.67x_1 + 2.27x_2$           | 3.93            |
| $Y = 48.61 + 0.53x_1 - 0.38x_3$           | 3.22            |
| $Y = 54.79 + 2.19x_2 - 0.4x_3$            | 3.12            |
| $Y = -4.76 + 1.15x_1$                     | 4.33            |
| $Y = 5.10 + 4.88x_2$                      | 4.59            |
| $Y = 91.32 - 0.64x_3$                     | 3.88            |

$x_1$ : numero di osteoni

$x_2$ : numero medio delle lamelle

$x_3$ : media del diametro dei canali haversiani

$y$ : età da stimare

Le formule di regressione che offrivano la migliore correlazione tra i parametri istologici e l'età scheletrica risultarono quelle ottenute impiegando sezioni di mandibola<sup>4</sup>.

### Metodo di Thompson

Tra i metodi più recenti vi è la *core technique* messa a punto da D.D. Thompson nel 1979 su un campione costituito da 116 individui (64 maschi e 52 femmine) di età anagrafica nota, compresa fra 30 e 97 anni, dei quali era nota la causa del decesso. Di alcuni erano anche note storia clinica e patologie preesistenti. Il campione fu, pertanto, suddiviso in un due gruppi: soggetti normali: soggetti con patologie note (insufficienza renale, diabete, etc.) in grado di influenzare il rimodellamento dell'osso prima dell'exitus.

La *core technique* prevede l'esame di un nucleo di osso corticale (*core*) del diametro di 4 mm prelevato, per carotaggio mediante estrattore montato su trapano verticale ad alta velocità (trapano di Dremel), dalle seguenti sedi:

- regione anteriore della diafisi femorale,
- regione diafisaria mediale della tibia,
- regione diafisaria mediale dell'omero, a livello della tuberosità deltoidea,
- regione laterale dell'ulna ad un terzo dall'estremità distale.

Nelle sezioni ottenute si valutano 19 parametri di cui 5 non istologici e 14 istologici, come indicato nella **tabella 10.4**.

Lo spessore della corticale è misurato sul core mediante un calibro con l'approssimazione di 0.05 mm, dopo aver eliminato il midollo ed il periostio ad esso aderenti. Il nucleo è levigato all'estremità endostale con carta al carborundum #800 in modo da ottenere un cilindro. Il peso del core è misurato con approssimazione di 0,0001 g. La densità della corticale (espressa in g/cm<sup>3</sup>) si ottiene dividendo il peso del core per il suo volume. Il contenuto minerale (g/cm) è determinato dall'analisi dell'assorbimento fotonico dello <sup>125</sup>I. L'indice minerale (g/cm<sup>2</sup>) si calcola dividendo il contenuto minerale per la lunghezza del nucleo osseo. Diametro e lunghezza del nucleo osseo sono determinati con una approssimazione di 0,005 mm.

Da ogni core si ottiene una sezione, dello spessore di 90 µm, ortogonale all'asse longitudinale di tale cilindro. La sezione non deve essere sottoposta a processi di decalcificazione, ma deve essere molata sino allo spessore di 80 µm e pulita mediante ultrasuoni. Le sezioni così allestite sono montate su vetrino coprioggetto per mezzo di resina sintetica.

I parametri istologici sono valutati mediante micrometro oculare, montato su un microscopio a contrasto di fase, provvisto di griglia 10×10 che misura 0,992 mm<sup>2</sup> all'ingrandimento lineare di 100x.

Thompson misurò osteoni secondari e canali di Havers con le seguenti procedure di morfometria stereologica<sup>24,25,26</sup>.

1. L'area del campo istologico esaminato e contenente gli osteoni fu ottenuta sommando le aree totali delle lamelle degli osteoni secondari e dei canali di Havers. Il totale delle lamelle degli osteoni e dei canali di Havers furono valutati in quat-
-

**Tab. 10.4** – Variabili utilizzate da Thompson per l'analisi di regressione e loro abbreviazioni (da Thompson, 1979, modificata).

| Variabili non istologiche                         | Abbreviazioni | Descrizione delle variabili   |
|---|---------------|---|
| 1. spessore della corticale in mm                 | CTHICK        | Misurato dal core intatto con un calibro                                |
| 2. peso del core in g                             | COREWT        | Peso secco dopo rifinitura  |
| 3. densità della corticale in g/cm <sup>3</sup>   | CDEN          | Peso del core per unità di volume del core                              |
| 4. contenuto minerale in g/cm                     | CMC           | Misurato nel core con analizzatore minerale dell'osso                   |
| 5. indice minerale in g/cm <sup>2</sup>           | CMCC          | Contenuto minerale / lunghezza del core dopo rifinitura                 |
| <b>Variabili istologiche</b>                      |               |   |
| 6. % dell'area totale delle lamelle degli osteoni | OSTA          | Percentuale dell'area del campo contenente lamelle degli osteoni        |
| 7. % dell'area dei canali haversiani              | HCA           | Percentuale dell'area del campo contenente i canali haversiani          |
| 8. % dell'area degli osteoni                      | OSTHC         | Area di tutte le lamelle degli osteoni più area dei canali haversiani   |
| 9. numero degli osteoni secondari                 | NUMOST        | Numero degli osteoni secondari nel campo                                |
| 10. numero dei canali haversiani                  | NUMHC         | Numero dei canali e degli osteoni primari in un campo                   |
| 11. % dell'area delle lamelle per osteone         | INDOSTA       | Area delle lamelle degli osteoni / numero degli osteoni secondari       |
| 12. % dell'area di ogni canale haversiano         | INDHCA        | Area dei canali haversiani / numero dei canali haversiani               |
| 13. perimetro totale degli osteoni in mm          | OSTBA         | Perimetro totale degli osteoni nel campo                                |
| 14. perimetro dei canali haversiani in mm         | HCBA          | Perimetro totale dei canali haversiani nel campo                        |
| 15. perimetro di ogni osteone in mm               | IOSTBA        | Perimetro degli osteoni / numero degli osteoni                          |
| 16. perimetro di ogni canale haversiano in mm     | IHCBA         | Perimetro dei canali haversiani / numero dei canali haversiani          |
| 17. rapporto 1                                    | RATIOA        | Area dei canali haversiani / area delle lamelle degli osteoni secondari |
| 18. rapporto 2                                    | RATIOB        | Perimetro dei canali haversiani / perimetro degli osteoni               |
| 19. rapporto 3                                    | RATIOC        | Perimetro di ogni canale / perimetro di ogni osteone                    |

tro campi adiacenti nella zona subperiosteale delle sezioni con il metodo della conta dei punti descritto da Frost<sup>24</sup>;

- il numero degli osteoni secondari e dei canali di Havers fu stimato nei quattro campi subperiosteali suddetti. Gli osteoni primari furono inclusi nel conteggio dei canali haversiani. Gli osteoni ed i canali di Havers intersecati dal perimetro esterno della griglia e quindi solo in parte compresi all'interno di questa, furono conteggiati in maniera alterna, contando la prima struttura trovata ed escludendo la successiva e così di seguito;
- il totale dei perimetri degli osteoni secondari e dei canali di Havers ( $B_A$ ) fu quantificato mediante la formula:

$$B_A = (\pi/2) I_L$$

dove  $I_L$  è il numero delle intersezioni fra perimetro della struttura da misurare (osteone secondario o canale di Havers) ed unità di lunghezza della linea di test. Nello studio di Thompson ogni linea della griglia misurava 0,992 mm e la griglia adoperata (10×10) conteneva 22 linee. La lunghezza totale delle *linee di test* era quindi di 21,82 mm. Il valore di  $I_L$  fu calcolato sommando il numero di intersezioni tra la linea test e le linee cementanti degli osteoni secondari e tra la linea test ed i perimetri dei canali haversiani, dividendo ciascun valore per 21,82.

I valori  $I_L$  furono poi moltiplicati per  $\pi/2$  per ottenere i perimetri totali degli osteoni secondari e dei canali haversiani (inclusi gli osteoni primari) in ognuno dei quattro campi istologici considerati.

Furono quindi valutate le medie dei perimetri, delle aree e dei numeri delle predette strutture che furono sottoposte ad analisi di regressione.

Le aree ed i perimetri di ogni osteone secondario e di ogni canale haversiano furono calcolate dividendo la media delle aree e dei perimetri totali di ogni sezione per il rispettivo numero di osteoni secondari e di canali di Havers ivi rilevati.

Dalle misure effettuate, furono calcolati tre rapporti:

- il primo ottenuto dalla divisione tra la media del totale delle aree dei canali di Havers e la media del totale delle lamelle degli osteoni secondari per ogni sezione;
- il secondo ricavato dividendo la media del totale dei perimetri dei canali haversiani per la media del totale dei perimetri degli osteoni secondari;
- il terzo risultato dalla divisione del perimetro di ogni canale haversiano per il perimetro di ogni singolo osteone.

Le 19 variabili ricavate da ogni core furono sottoposte, per ciascun gruppo del campione esaminato, ad analisi di regressione lineare multipla per individuare la variabile o la combinazione di variabili che fossero in grado di stimare l'età scheletrica al momento del decesso con il più basso errore standard e con il più alto coefficiente di determinazione.

Nella **tabella 10.5** sono elencate le equazioni di regressione lineare multipla proposte da Thompson con le quali è possibile determinare l'età scheletrica del campione in esame, con valori di errore standard diversificati a seconda delle variabili adoperate<sup>6</sup>.

In un lavoro successivo lo stesso Autore evidenziò, con la stessa tecnica, la ricorrenza di errori nelle stime nel caso in cui il tessuto osseo avesse subito rimaneggiamento di natura patologica e la scarsa attendibilità delle valutazioni effettuate sull'omero<sup>7</sup>.

Nel 1983, Thompson si servì di un sistema computerizzato in grado di effettuare con precisione e rapidità, in maniera semiautomatica, misurazioni morfometriche dello spessore e della densità della corticale, del peso del *core*, del numero e dell'area degli osteoni secondari, del perimetro e dell'area dei canali di Havers. Dallo studio del campione esaminato (tibiae di 53 soggetti con dati antropometrici noti, 48 maschi e 5 femmine di età compresa tra 17-53 anni, di cui 41 caucasici e 12 negri) emerse che gli osteoni secondari della tibia appaiono più grandi e con maggiore variabilità

---



Tab. 10.5 - Equazioni di regressione per la determinazione dell'età da sezioni istologiche di tessuto osseo (da Thompson 1979, modificata).

| N° analisi statistica | Gruppo       | Osso      | n   | Regressioni | Variabili considerate | Equazioni di regressione ottenute                          | Coeff. di corr. multipla | Coefficiente determinazione | Errore standard |
|-----------------------|--------------|-----------|-----|-------------|-----------------------|--|--------------------------|-----------------------------|-----------------|
| 1                     | Intera serie | Femore sn | 91  | 1           | OSTHC                 | $y=6.677+101.936x_1$                                       | 0.7734                   | 0.5982                      | 8.6455          |
|                       |              |           |     | 2           | CTHICK                | $y=20.969+95.278x_1-2.314x_2$                              | 0.8063                   | 0.6502                      | 8.1124          |
|                       |              |           |     | 3           | IOSTBA                | $y=47.644+96.394x_1-2.457x_2-47.590x_3$                    | 0.8276                   | 0.6849                      | 7.7438          |
|                       |              |           |     | 4           | OSTBA                 | $y=72.059+127.853x_1-1.797x_2-83.949x_3-2.739x_4$          | 0.8551                   | 0.7312                      | 7.1929          |
|                       |              |           |     | 5           | NUMOST                | $y=28.978+128.557x_1-1.796x_2-7.543x_3-7.633x_4+2.688x_5$  | 0.8624                   | 0.7437                      | 7.0651          |
| 2                     | Intera serie | Femore dx | 113 | 1           | OSTHC                 | $y=12.409+91.936x_1$                                       | 0.7887                   | 0.6221                      | 7.8789          |
|                       |              |           |     | 2           | IOSTBA                | $y=30.473+94.172x_1-34.688x_2$                             | 0.8014                   | 0.6422                      | 7.7007          |
|                       |              |           |     | 3           | CTHICK                | $y=42.175+91.588x_1-41.134x_2-1.399x_3$                    | 0.8147                   | 0.6638                      | 7.4992          |
| 3                     | Intera serie | Tibia sn  | 112 | 4           | OSTBA                 | $y=52.063+102.082x_1-54.796x_2-1.183x_3-1.003x_4$          | 0.8196                   | 0.6718                      | 7.4438          |
|                       |              |           |     | 5           | NUMOST                | $y=35.747+100.985x_1-26.752x_2-1.194x_3-2.791x_4+1.058x_5$ | 0.8250                   | 0.6807                      | 7.3760          |
|                       |              |           |     | 1           | OSTHC                 | $y=20.835+82.235x_1$                                       | 0.7036                   | 0.4950                      | 9.5163          |
|                       |              |           |     | 2           | IOSTBA                | $y=45.616+88.260x_1-51.541x_2$                             | 0.7351                   | 0.5403                      | 9.1209          |
|                       |              |           |     | 3           | NUMOST                | $y=94.199+130.361x_1-137.057x_2-1.549x_3$                  | 0.7714                   | 0.5950                      | 8.6008          |
| 4                     | Intera serie | Tibia dx  | 113 | 4           | CMC                   | $y=100.361+118.566x_1-130.198x_2-1.296x_3-54.397x_4$       | 0.7857                   | 0.6174                      | 8.3989          |
|                       |              |           |     | 1           | OSTHC                 | $y=20.632+82.475x_1$                                       | 0.7441                   | 0.5537                      | 8.6822          |
|                       |              |           |     | 2           | IOSTBA                | $y=42.986+88.917x_1-47.830x_2$                             | 0.7707                   | 0.5939                      | 8.3187          |
|                       |              |           |     | 3           | OSTBA                 | $y=73.750+129.529x_1-94.988x_2-3.146x_3$                   | 0.8061                   | 0.6498                      | 7.7603          |
|                       |              |           |     | 4           | CMCC                  | $y=104.964+120.319x_1-95.279x_2-3.000x_3-68.935x_4$        | 0.8180                   | 0.6692                      | 7.5778          |

Continua

| Analisi numerica | Gruppo | Osso      | n  | Regressioni | Variabili considerate | Equazioni di regressione ottenute  | Coeff. di corr. moltiplo | Coefficiente determinazione | Errore standard |
|------------------|--------|-----------|----|-------------|-----------------------|--|--------------------------|-----------------------------|-----------------|
| 5                | Maschi | Femore sn | 53 | 1           | OSTHC                 | $y = 8.387 + 100.133x_1$   | 0.7873                   | 0.6199                      | 8.2167          |
|                  |        |           |    | 2           | CTHICK                | $y = 25.014 + 93.735x_1 - 2.610x_2$  | 0.8199                   | 0.6723                      | 7.7058          |
|                  |        |           |    | 3           | IOSTBA                | $y = 53.989 + 95.112x_1 - 2.922x_2 - 51.114x_3$                              | 0.8467                   | 0.7168                      | 7.2354          |
|                  |        |           |    | 4           | OSTBA                 | $y = 73.137 + 120.584x_1 - 2.619x_2 - 80.433x_3 - 2.070x_4$                  | 0.8586                   | 0.7373                      | 7.0418          |
|                  |        |           |    | 5           | NUMOST                | $y = 20.732 + 116.813x_1 - 2.501x_2 + 12.810x_3 - 7.735x_4 + 3.031x_5$       | 0.8699                   | 0.7567                      | 6.8479          |
| 6                | Maschi | Femore dx | 63 | 1           | OSTHC                 | $y = 18.413 + 84.646x_1$   | 0.8061                   | 0.6499                      | 7.0675          |
|                  |        |           |    | 2           | IOSTBA                | $y = 39.056 + 89.825x_1 - 42.502x_2$   | 0.8303                   | 0.6894                      | 6.7118          |
|                  |        |           |    | 3           | CTHICK                | $y = 50.783 + 90.256x_1 - 49.121x_2 - 1.680x_3$                              | 0.8461                   | 0.7159                      | 6.4733          |
|                  |        |           |    | 4           | CDEN                  | $y = 82.772 + 90.273x_1 - 53.212x_2 - 1.558x_3 - 16.403x_4$                  | 0.8523                   | 0.7265                      | 6.4061          |
| 7                | Maschi | Tibia sn  | 62 | 1           | OSTHC                 | $y = 19.450 + 84.929x_1$   | 0.7054                   | 0.4977                      | 9.2687          |
|                  |        |           |    | 2           | IOSTBA                | $y = 43.351 + 89.082x_1 - 49.070x_2$   | 0.7338                   | 0.5384                      | 8.9594          |
|                  |        |           |    | 3           | NUMOST                | $y = 89.861 + 132.473x_1 - 132.573x_2 - 1.515x_3$                            | 0.7617                   | 0.5802                      | 8.6178          |
|                  |        |           |    | 4           | CMC                   | $y = 102.007 + 126.336x_1 - 136.646x_2 - 1.467x_3 - 48.648x_4$               | 0.7738                   | 0.5988                      | 8.4985          |
|                  |        |           |    | 5           | COREWT                | $y = 106.027 + 125.897x_1 - 141.415x_2 - 1.596x_3 - 163.603x_4 + 211.389x_5$ | 0.7847                   | 0.6157                      | 8.3916          |
| 8                | Maschi | Tibia dx  | 63 | 1           | OSTHC                 | $y = 24.982 + 77.260x_1$   | 0.7126                   | 0.5078                      | 8.4488          |
|                  |        |           |    | 2           | RATIOA                | $y = 17.383 + 75.131x_1 + 45.816x_2$   | 0.7463                   | 0.5570                      | 8.0821          |
|                  |        |           |    | 3           | IOSTBA                | $y = 38.002 + 81.605x_1 + 49.204x_2 - 46.756x_3$                             | 0.7705                   | 0.5936                      | 7.8063          |
|                  |        |           |    | 4           | HCBA                  | $y = 53.997 + 116.335x_1 + 84.131x_2 - 79.992x_3 - 6.612x_4$                 | 0.8010                   | 0.6416                      | 7.3994          |
|                  |        |           |    | 5           | CMCC                  | $y = 81.153 + 115.322x_1 + 75.997x_2 - 82.491x_3 - 7.136x_4 - 55.734x_5$     | 0.8087                   | 0.6539                      | 7.3293          |

*Continua*

| Analisi numerica | Gruppo         | Osso   | n      | Regressioni | Variabili considerate | Equazioni di regressione ottenute                              | Coeff. di corr. moltiplica | Coeff. di determinazione | Errore standard |
|------------------|----------------|--|--------|-------------|-----------------------|--|----------------------------|--------------------------|-----------------|
| 9                | Femmine        | Femore sn  | 38     | 1           | OSTHC                 | $y=4.097+104.755x_1$   | 0.7597                     | 0.5771                   | 9.3665          |
|                  |                |  |        | 2           | CTHICK                | $y=24.239+93.309x_1-3.475x_2$                                  | 0.8255                     | 0.6814                   | 8.2451          |
|                  |                |  |        | 3           | OSTBA                 | $y=27.727+112.093x_1-2.829x_2-1.851x_3$                        | 0.8450                     | 0.7140                   | 7.9250          |
|                  |                |  |        | 4           | IOSTBA                | $y=66.568+126.957x_1-1.978x_2-3.077x_3-69.156x_4$              | 0.8693                     | 0.7557                   | 7.4356          |
|                  |                |  |        | 5           | INDOSTA               | $y=82.386+118.387x_1-1.485x_2-2.552x_3-139.660x_4+751.730x_5$  | 0.8795                     | 0.7734                   | 7.2712          |
| 10               | Femmine        | Femore dx  | 50     | 1           | OSTHC                 | $y=1.829+105.431x_1$   | 0.7976                     | 0.6361                   | 8.4788          |
|                  |                |  |        | 2           | CMC                   | $y=24.721+87.001x_1-84.051x_2$                                 | 0.8445                     | 0.7131                   | 7.6086          |
|                  |                |  |        | 3           | COREWT                | $y=24.792+84.664x_1-246.216x_2-298.093x_3$                     | 0.8585                     | 0.7370                   | 7.3641          |
| 11               | Femmine        | Tibia sn   | 50     | 4           | HCBA                  | $y=27.255+93.251x_1-248.505x_2+300.873x_3-2.010x_4$            | 0.8641                     | 0.7467                   | 7.3062          |
|                  |                |  |        | 5           | RATIOB                | $y=15.846+104.218x_1-246.828x_2+326.837x_3-4.047x_4+24.388x_5$ | 0.8702                     | 0.7572                   | 7.2236          |
|                  |                |  |        | 1           | OSTHC                 | $y=22.075+79.674x_1$   | 0.7029                     | 0.4940                   | 9.9859          |
|                  |                |  |        | 2           | CTHICK                | $y=36.611+76.231x_1-3.975x_2$                                  | 0.7712                     | 0.5948                   | 9.0309          |
|                  |                |  |        | 3           | IOSTBA                | $y=54.718+82.759x_1-3.471x_2-41.605x_3$                        | 0.7861                     | 0.6179                   | 8.8642          |
| 12               | Femmine        | Tibia dx   | 50     | 4           | NUMOST                | $y=88.248+113.313x_1-2.617x_2-105.021x_3-1.159x_4$             | 0.8052                     | 0.6484                   | 8.5973          |
|                  |                |  |        | 1           | OSTHC                 | $y=14.169+90.306x_1$   | 0.7877                     | 0.6205                   | 8.8445          |
|                  |                |  |        | 2           | IOSTBA                | $y=37.308+95.174x_1-46.375x_2$                                 | 0.8103                     | 0.6566                   | 8.5026          |
|                  |                |  |        | 3           | NUMHC                 | $y=123.205+141.522x_1-180.706x_2-2.238x_3$                     | 0.8649                     | 0.7481                   | 7.3608          |
| 13               | Non patologico | Femore sn  | 68     | 4           | CTHICK                | $y=131.231+123.466x_1-170.266x_2-1.837x_3-3.082x_4$            | 0.8822                     | 0.7782                   | 6.9831          |
|                  |                |  |        | 1           | OSTHC                 | $y=8.169+100.523x_1$   | 0.7684                     | 0.5904                   | 8.5335          |
|                  |                |  |        | 2           | IOSTBA                | $y=40.643+101.645x_1-58.800x_2$                                | 0.8035                     | 0.6456                   | 7.9984          |
|                  |                |  |        | 3           | OSTBA                 | $y=72.761+131.471x_1-97.270x_2-3.031x_3$                       | 0.8453                     | 0.7145                   | 7.2349          |
| 4                | CMC            | $y=82.223+118.533x_1-97.736x_2-2.469x_3-41.586x_4$ | 0.8589 | 0.7376      | 6.9905                |  |                            |                          |                 |

Continua

| Analisi numerica | Gruppo                | Osso      | n  | Regressioni | Variabili considerate | Equazioni di regressione ottenute                    | Coeffic. di corr. multipla | Coeffic. di determinazione | Errore standard |
|------------------|-----------------------|-----------|----|-------------|-----------------------|--|----------------------------|----------------------------|-----------------|
| 14               | Non patologico        | Femore dx | 90 | 1           | OSTHC                 | $y=13.271+91.028x_1$                                 | 0.7879                     | 0.6208                     | 7.9270          |
|                  |                       |           |    | 2           | IOSTBA                | $y=37.943+94.930x_1-47.458x_2$                       | 0.8098                     | 0.6558                     | 7.5963          |
|                  |                       |           |    | 3           | CTHICK                | $y=48.416+92.826x_1-52.250x_2-1.446x_3$              | 0.8238                     | 0.6787                     | 7.3813          |
|                  |                       |           |    | 4           | OSTBA                 | $y=57.761+102.746x_1-64.648x_2-1.169x_3-1.014x_4$    | 0.8285                     | 0.6865                     | 7.3345          |
| 15               | Non patologico        | Tibia sn  | 89 | 1           | OSTHC                 | $y=23.277+79.089x_1$                                 | 0.7243                     | 0.5246                     | 8.9768          |
|                  |                       |           |    | 2           | IOSTBA                | $y=49.582+87.092x_1-56.225x_2$                       | 0.7622                     | 0.5810                     | 8.4764          |
|                  |                       |           |    | 3           | CTHICK                | $y=57.423+85.044x_1-56.176x_2-1.816x_3$              | 0.7815                     | 0.6107                     | 8.2182          |
|                  |                       |           |    | 4           | NUMOST                | $y=80.431+107.697x_1-99.519x_2-1.449x_3-0.822x_4$    | 0.7909                     | 0.6256                     | 8.1076          |
| 16               | Non patologico        | Tibia dx  | 90 | 1           | OSTHC                 | $y=21.129+82.517x_1$                                 | 0.7597                     | 0.5771                     | 8.5209          |
|                  |                       |           |    | 2           | IOSTBA                | $y=47.746+91.086x_1-57.471x_2$                       | 0.7958                     | 0.6333                     | 7.9796          |
|                  |                       |           |    | 3           | NUMHC                 | $y=98.576+118.566x_1-135.701x_2-1.352x_3$            | 0.8197                     | 0.6720                     | 7.5914          |
|                  |                       |           |    | 4           | CMCC                  | $y=132.876+113.857x_1-144.623x_2-1.441x_3-64.463x_4$ | 0.8298                     | 0.6886                     | 7.4391          |
| 17               | Maschi non patologici | Femore sn | 41 | 1           | OSTHC                 | $y=12.207+95.775x_1$                                 | 0.7799                     | 0.6083                     | 7.6888          |
|                  |                       |           |    | 2           | CTHICK                | $y=24.399+94.460x_1-2.367x_2$                        | 0.8106                     | 0.6571                     | 7.2883          |
|                  |                       |           |    | 3           | IOSTBA                | $y=55.167+91.446x_1-2.705x_2-49.406x_3$              | 0.8404                     | 0.7063                     | 6.8359          |
|                  |                       |           |    | 4           | OSTBA                 | $y=75.209+113.167x_1-2.470x_2-78.530x_3-1.899x_4$    | 0.8532                     | 0.7280                     | 6.6686          |
| 18               | Maschi non patologici | Femore dx | 54 | 1           | OSTHC                 | $y=21.450+80.749x_1$                                 | 0.7966                     | 0.6346                     | 7.1509          |
|                  |                       |           |    | 2           | IOSTBA                | $y=43.071+85.641x_1-43.766x_2$                       | 0.8221                     | 0.6758                     | 6.8017          |
|                  |                       |           |    | 3           | CTHICK                | $y=55.007+87.496x_1-50.457x_2-1.920x_3$              | 0.8429                     | 0.7105                     | 6.4914          |
|                  |                       |           |    | 4           | RATIOA                | $y=52.905+84.523x_1-51.962x_2-1.530x_3-15.421x_4$    | 0.8504                     | 0.7232                     | 6.4119          |

Continua

| Analisi numerica | Gruppo                  | Osso   | n      | Regressioni   | Variabili considerate | Equazioni di regressione ottenute                              | Coeff. multiplo | Coeff. determinaz. | Errore standard |
|------------------|-------------------------|--|--------|---|-----------------------|--|-----------------|--------------------|-----------------|
| 19               | Maschi non patologici   | Tibia sn   | 53     | 1   | OSTHC                 | $y=25.966+75.930x_1$   | 0.6776          | 0.4592             | 8.9151          |
|                  |                         |  |        | 2   | IOSTBA                | $y=49.829+82.248x_1-51.346x_2$                                 | 0.7125          | 0.5077             | 8.5909          |
|                  |                         |  |        | 3   | NUMOST                | $y=81.711+113.586x_1-109.548x_2-1.071x_3$                      | 0.7298          | 0.5326             | 8.4551          |
|                  |                         | 4  | CMC    | $y=92.420+109.446x_1-113.752x_2-1.029x_3-46.780x_4$ | 0.7415                | 0.5498   | 8.3842          |                    |                 |
| 20               | Maschi non patologici   | Tibia dx   | 53     | 1   | OSTHC                 | $y=24.198+80.061x_1$   | 0.7386          | 0.5455             | 8.1695          |
|                  |                         |  |        | 2   | RATIOA                | $y=17.507+77.288x_1+43.201x_2$                                 | 0.7703          | 0.5934             | 7.8037          |
|                  |                         |  |        | 3   | IOSTBA                | $y=38.808+84.359x_1+47.842x_2-49.155x_3$                       | 0.7945          | 0.6312             | 7.5077          |
|                  |                         |  |        | 4   | HCBA                  | $y=52.755+113.896x_1+80.281x_2-77.410x_3-5.874x_4$             | 0.8187          | 0.6702             | 7.1731          |
| 21               | Femmine non patologiche | Femore sn  | 27     | 1   | OSTHC                 | $y=1.867+107.922x_1$   | 0.7703          | 0.5933             | 9.6974          |
|                  |                         |  |        | 2   | IOSTBA                | $y=56.419+119.377x_1-105.965x_2$                               | 0.8272          | 0.6842             | 8.7217          |
|                  |                         |  |        | 3   | NUMHC                 | $y=97.554+135.035x_1-144.530x_2-1.719x_3$                      | 0.8772          | 0.7694             | 7.6127          |
|                  |                         |  |        | 4   | C DEN                 | $y=38.923+155.491x_1-153.174x_2-2.198x_3+31.911x_4$            | 0.8918          | 0.7952             | 7.3352          |
|                  |                         |  |        | 5   | INDOSTA               | $y=57.731+142.082x_1-198.058x_2-1.848x_3+26.584x_4+624.278x_5$ | 0.8998          | 0.8097             | 7.2381          |
| 22               | Femmine non patologiche | Femore dx  | 36     | 1   | OSTHC                 | $y=-5.096+115.048x_1$  | 0.8279          | 0.6854             | 8.1828          |
|                  |                         |  |        | 2   | CMC                   | $y=18.500+94.504x_1-77.156x_2$                                 | 0.8635          | 0.7457             | 7.4678          |
| 23               | Femmine non patologiche | Tibia sn   | 36     | 1   | OSTHC                 | $y=20.182+82.333x_1$   | 0.7752          | 0.6010             | 9.2005          |
|                  |                         |  |        | 2   | CTHICK                | $y=36.241+76.432x_1-3.902x_2$                                  | 0.8388          | 0.7036             | 8.0492          |
|                  |                         |  |        | 3   | IOSTBA                | $y=51.959+83.325x_1-3.238x_2-38.220x_3$                        | 0.8484          | 0.7198             | 7.9469          |
| 24               | Donne sane              | Tibia dx   | 37     | 4   | OSTBA                 | $y=60.843+102.872x_1-2.187x_2-54.720x_3-1.428x_4$              | 0.8553          | 0.7316             | 7.9027          |
|                  |                         |  |        | 1   | OSTHC                 | $y=13.904+90.166x_1$   | 0.8087          | 0.6540             | 8.6731          |
|                  |                         |  |        | 2   | IOSTBA                | $y=45.250+96.260x_1-60.748x_2$                                 | 0.8408          | 0.7069             | 8.0983          |
|                  |                         |  |        | 3   | INDOSTA               | $y=71.433+90.164x_1-172.232x_2+1280.636x_3$                    | 0.8762          | 0.7677             | 7.3180          |
|                  |                         |  |        | 4   | NUMHC                 | $y=112.576+120.351x_1-216.410x_2-948.448x_3-1.438x_4$          | 0.8917          | 0.7951             | 6.9798          |
| 5                | CTHICK                  | $y=121.636+107.367x_1-199.594x_2-779.054x_3-1.268x_4-2.553x_5$ | 0.9033 | 0.8160  | 6.7199                |  |                 |                    |                 |

Continua

| Analisi numerica | Gruppo              | Osso     | n  | Regressioni | Variabili considerate | Equazioni di regressione ottenute   | Coeff. di corr. moltiplica | Coefficiente determinazione | Errore standard |
|------------------|---------------------|----------|----|-------------|-----------------------|---|----------------------------|-----------------------------|-----------------|
| 25               | Estremità superiori | Omero sn | 29 | 1           | OSTHC                 | $y = -22.800 + 146.978x_1$  | 0.7867                     | 0.6189                      | 8.5181          |
|                  |                     |          |    | 2           | COREWT                | $y = -2.221 + 135.459x_1 - 174.605x_2$                                    | 0.8784                     | 0.7716                      | 6.7196          |
|                  |                     |          |    | 3           | IHCBA                 | $y = -2.765 + 136.934x_1 - 181.158x_2 - 24.053x_3$                        | 0.8874                     | 0.7874                      | 6.6115          |
|                  |                     |          |    | 4           | CDEN                  | $y = 48.004 + 132.876x_1 - 163.090x_2 - 22.056x_3 - 34.855x_4$            | 0.8975                     | 0.8055                      | 6.4550          |
|                  |                     |          |    | 5           | OSTBA                 | $y = 69.399 + 177.554x_1 - 138.258x_2 - 29.309x_3 - 82.086x_4 - 2.722x_5$ | 0.9095                     | 0.8273                      | 6.2135          |
| 26               | Estremità superiori | Omero dx | 31 | 1           | OSTHC                 | $y = -22.785 + 146.989x_1$  | 0.7295                     | 0.5322                      | 9.4605          |
|                  |                     |          |    | 2           | COREWT                | $y = -9.854 + 145.074x_1 - 158.701x_2$                                    | 0.7883                     | 0.6214                      | 8.6617          |
|                  |                     |          |    | 3           | RATIOC                | $y = -26.389 + 148.269x_1 - 145.483x_2 + 36.305x_3$                       | 0.8087                     | 0.6540                      | 8.4305          |
|                  |                     |          |    | 4           | RATIOA                | $y = -35.652 + 146.910x_1 - 139.160x_2 + 117.071x_3 - 106.455x_4$         | 0.8420                     | 0.7090                      | 7.8804          |
| 27               | Estremità superiori | Ulna sn  | 31 | 1           | OSTHC                 | $y = -6.060 + 122.880x_1$   | 0.6992                     | 0.4889                      | 10.1675         |
|                  |                     |          |    | 2           | IOSTBA                | $y = 54.102 + 109.575x_1 - 90.145x_2$                                     | 0.7619                     | 0.5805                      | 9.3747          |
|                  |                     |          |    | 3           | NUMHC                 | $y = 141.925 + 192.489x_1 - 241.510x_2 - 3.122x_3$                        | 0.8287                     | 0.6867                      | 8.2507          |
|                  |                     |          |    | 4           | CDEN                  | $y = 188.895 + 198.287x_1 - 237.737x_2 - 3.344x_3 - 26.201x_4$            | 0.8510                     | 0.7242                      | 7.8883          |
| 28               | Estremità superiori | Ulna dx  | 31 | 1           | OSTHC                 | $y = -1.575 + 118.104x_1$   | 0.6540                     | 0.4277                      | 10.5699         |
|                  |                     |          |    | 2           | OSTBA                 | $y = 0.550 + 194.184x_1 - 5.235x_2$                                       | 0.7251                     | 0.5258                      | 9.7966          |
|                  |                     |          |    | 3           | IOSTBA                | $y = 66.925 + 230.010x_1 - 8.836x_2 - 96.633x_3$                          | 0.7587                     | 0.5757                      | 9.4327          |
|                  |                     |          |    | 4           | COREWT                | $y = 74.264 + 223.558x_1 - 8.560x_2 - 94.535x_3 - 138.297x_4$             | 0.7724                     | 0.5965                      | 9.3731          |

$x_1$  = superficie totale delle lamelle e dei canali di Havers;

$x_2$  = perimetro medio del singolo osteone;

$x_3$  = spessore della corticale;

$x_4$  = perimetro dell'insieme degli osteoni;

$x_5$  = numero degli osteoni secondari.

dimensionale nei soggetti di età inferiore ai 35 anni rendendo quindi inaccurate le stime dell'età effettuate con le equazioni di regressione che utilizzano il valore dell'area dell'osteone. Il numero degli osteoni appare il parametro più preciso per la stima dell'età nei soggetti al di sotto dei 55 anni mentre il calcolo dell'area degli osteoni pare fornire valori accurati negli individui al di sopra dei 55 anni<sup>28</sup>.

### Metodo di Hauser

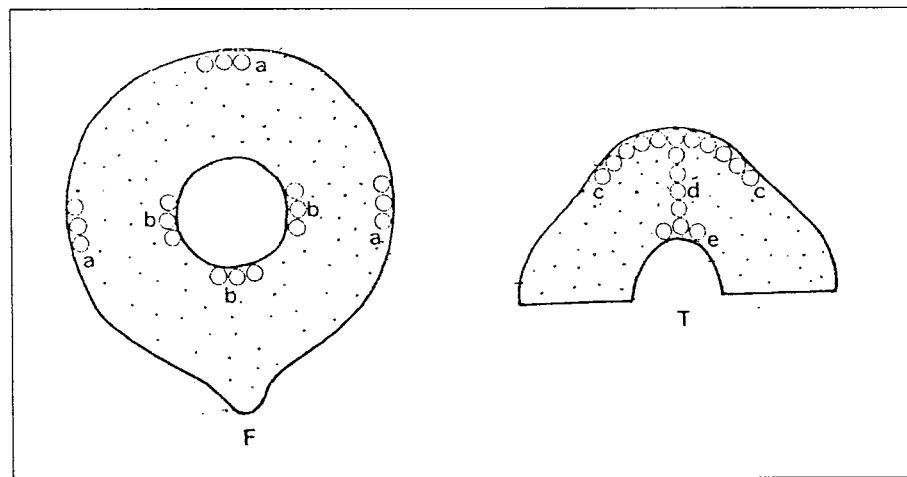
R. Hauser e coll. (1980) hanno studiato 31 tibie di soggetti di età compresa tra 18 e 88 anni e 96 femori di individui di età compresa fra 27 ed 87 anni di cui erano noti l'altezza ed il peso, nonché la causa del decesso, mentre mancavano informazioni sulla pregressa storia clinica.

La metodica prevedeva l'esame di sezioni trasverse a tutto spessore condotte al terzo medio diafisario del femore e di sezioni comprendenti solo la metà anteriore del terzo medio diafisario della tibia (vedi Fig. 10.11).

Da ciascuna sezione, dell'altezza di 5 cm, si ottenevano mediante una "sega a disco" ulteriori fettine dello spessore di 100  $\mu\text{m}$  ridotte per abrasione a 10-20  $\mu\text{m}$ .

Le valutazioni istomorfometriche, effettuate sulle sezioni non colorate e montate in resina, ad ingrandimento lineare di 100x, con campi microscopici di 1,16 mm di diametro, furono condotte per quel che riguarda la tibia:

- nel territorio sottoperiosteale (10 campi istologici);



**Fig. 10.11** - Rappresentazione schematica delle sezioni istologiche esaminate e delle zone di valutazione morfometrica (da Hauser, 1980).

a=zona subperiosteale del femore  
 b=zona juxta-medollare del femore  
 c=zona subperiosteale della tibia  
 d=raggio massimo della tibia  
 e=zona juxta-medollare della tibia  
 F (femore); T (tibia).

- lungo il raggio massimo compreso tra la cresta tibiale e la cavità midollare (da 5 ad 11 campi istologici);
- nella zona juxta-midollare (3 campi istologici);

e per quel che riguarda il femore:

- nel territorio sottoperiosteale (9 campi istologici);
- nella zona juxta-midollare (9 campi istologici).

Nei suddetti campi istologici furono misurati:

- la densità degli osteoni,
- i diametri dei canali di Havers,
- il rapporto tra la superficie totale e quella dei canali di Havers.

Al fine di evitare artefatti dovuti alla presenza di sezioni oblique, le misure dei diametri furono effettuate valutando la dimensione minore.

I risultati sottoposti ad analisi statistica consentirono l'elaborazione delle seguenti formule di regressione:

**Tab. 10.6** – Formule di regressione per la determinazione della età (y) mediante il calcolo della densità (x) e del diametro (x<sub>1</sub>) dei canali di Havers (da Hauser e coll., 1980, modificata).

| TIBIA                    |   |             |            |
|--------------------------|---|-------------|------------|
| Zona iuxta-midollare     | $y = 4,97x - 2,94 (\pm 13,45 \text{ anni})$   | $r = 0,646$ | $p = 0,01$ |
| Regione sottoperiosteale | $y = 2,38x + 10,44 (\pm 16,02 \text{ anni})$  | $r = 0,422$ |            |
|                          | $y = 1,16x_1 - 3,79 (\pm 15,48 \text{ anni})$ | $r = 0,482$ |            |
| FEMORE                   |   |             |            |
| Zona iuxta-midollare     | $y = 7,94x - 45,49 (\pm 10,67 \text{ anni})$  | $r = 0,803$ |            |
| Regione sottoperiosteale | $y = 4,86x - 22,22 (\pm 11,38 \text{ anni})$  | $r = 0,772$ | $p = 0,01$ |
|                          | $y = 1,16x_1 - 3,79 (\pm 15,48 \text{ anni})$ |             |            |

r = coefficiente di correlazione

p: significatività statistica

x = densità dei canali per mm<sup>2</sup>

x<sub>1</sub> = diametro dei canali haversiani in μm

I risultati ottenuti evidenziarono l'esistenza di una stretta correlazione tra l'età dell'individuo e la densità ed il diametro degli osteoni nelle regioni juxta-midollari rispetto a quelle subperiosteali nelle ossa lunghe degli arti inferiori<sup>8</sup>.



## Metodo di Ericksen

M.F. Ericksen sottopose ad esame istologico sezioni di femori appartenuti a 328 soggetti, di cui 174 maschi e 154 femmine, con composizione eterogenea dal punto di vista razziale e prevalenza di bianchi. Nel predetto campione l'Autore incluse sezioni di 30 individui affetti da patologie note (diabete mellito, alcoolismo, malattie renali croniche, ecc.) ritenendo necessario che un metodo per la valutazione istologica dell'età dovesse tener conto di eventuali patologie del soggetto anche in assenza di notizie sulla pregressa storia clinica.

Il metodo prevedeva l'impiego di sezioni condotte al terzo medio diafisario del femore sottoposte a lavaggio e a trattamento con solventi dei grassi; dalla zona corticale anteriore della sezione diafisaria, in sede opposta alla linea aspera, era prelevata una fetta di osso di almeno 1 cm di ampiezza.

Dalle fette si ottenevano, per smerigliatura, sezioni dello spessore di 100  $\mu\text{m}$  che, senza essere decalcificate né colorate, erano sistemate direttamente su vetrini porta oggetto per evitare distorsioni o fenomeni di coartazione; prima del montaggio, con una punta di diamante si provvedeva a marcare sulla sezione il punto opposto alla linea aspera. A partire da questo segno centrale, con un pennarello, sul coprioggetto, erano posti segni a 0,5 cm da ogni lato; successivamente tra il segno centrale e quello laterale posto a 0,5 cm di distanza, erano tracciati, da ciascun lato, altri due segni.

Tale procedimento consentiva di individuare i cinque campi da studiare: questi erano fotografati in immediata prossimità del margine periostale con un ingrandimento di 32,5x. Ognuno dei campi fotografici, di forma rettangolare, misurava 0,886  $\text{mm}^2$ ; complessivamente l'area da studiare, riferita ai cinque campi, corrispondeva a circa 4,43  $\text{mm}^2$ .

Quindi era possibile:

- individuare con precisione le zone esaminate,
- rintracciare lo stesso campo microscopico ripetutamente anche da parte di differenti operatori,
- segnare le strutture da contare o misurare, senza mai "perdere il campo microscopico",
- cambiare ingrandimento per meglio definire strutture di dubbia interpretazione,
- individuare le linee cementanti sui fotogrammi (evidenziabili meglio che all'osservazione microscopica diretta).

Le microstrutture valutate da Ericksen furono le seguenti (Fig. 10.12):

Osteoni secondari ( $x_1$ ): sono delimitati da una linea cementante ed hanno canali haversiani intatti e non interrotti da spazi di riassorbimento né dalla parete di osteoni di nuova formazione. Sono compresi gli osteoni maturi e quelli in via di completamento, nonché in accordo con Kerley, i canali di Volkmann "correlati alle diramazioni angolate dell'albero di osteoni"<sup>3</sup>. Gli osteoni con il canale di Havers completamente al di fuori del campo fotografico non sono contati, ma segnati con una "x" per una successiva conta.

Osteoni di secondo tipo ( $x_2$ ): sono il risultato di una fase di riassorbimento lungo un tratto limitato del canale di Havers di un osteone maturo. Il nuovo spazio di rias-

sorbimento è relativamente piccolo, provvisto di una linea cementante e riempito di nuove lamelle a formare una struttura definita "osteone in osteone". Questi osteoni devono essere distinti dagli *osteoni con frammenti di osteoni* osservando che la linea cementante più interna non tocchi mai quella più esterna.

**Frammenti di osteoni ( $x_3$ ):** sono resti di osteoni e variano da schegge sottili a "osteoni morti" di dimensioni normali, i cui canali di Havers mostrano lacune di Howship, il che indica che il riassorbimento è iniziato a partire dai loro vasi sanguigni. I frammenti sono contati anche se parzialmente compresi nel campo.

**Spazi di riassorbimento ( $x_4$ ):** rappresentano la prima tappa della formazione di un nuovo osteone; distruggono il vecchio tessuto per far spazio all'apposizione di nuovo tessuto. Sono distinti per i loro margini festonati, formati da lacune di Howship; si presentano sia come sottili fessure dovute alla penetrazione di un vaso nell'osso lamellare non rimodellato o in un canale di Havers sia come grossolane cavità di riassorbimento, tipiche dei soggetti anziani.

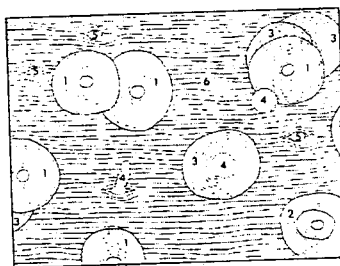
**Canali non haversiani ( $x_5$ ):** canali vascolari incorporati durante la deposizione di lamelle circonfenziali periosteali e quindi caratteristici di tessuto osseo non rimodellato. Canali non haversiani molto ampi possono essere delimitati da 1 o 2 strati di lamelle concentriche. Le strutture che ne risultano possono essere distinte dai veri osteoni per la mancanza di linea cementante e per il fatto che le lamelle circonfenziali non rimodellate non sono interrotte ma decorrono intorno ai canali non haversiani.

Dividendo i totali dei conteggi effettuati a carico di ogni microstruttura per il totale dell'area costituita dai cinque campi ( $4.43 \text{ mm}^2$ ), l'Autore otteneva il loro numero per  $\text{mm}^2$ .

In considerazione delle difficoltà di quantificare l'osso circonfenziale lamellare non rimodellato, l'Autore suggerì di utilizzare una modifica al metodo di Ahlqvist e Damsten sovrapponendo ai fotogrammi un reticolo costituito da 100 maglie e di conteggiare, per ogni maglia, la microstruttura predominante. In tale modo si sarebbero ottenute altre tre variabili:

- l'osso circonfenziale non rimodellato ( $x_6$ ),
- l'osso osteonale ( $x_7$ ) che comprende gli osteoni ed i canali di Volkmann, gli osteoni di II tipo e gli osteoni periferici indicati con la lettera x nella precedente conta,
- l'osso frammentale ( $x_8$ ).

Sotto ponendo quindi tutte le 8 variabili istologiche ad analisi di regressione statistica furono calcolate le equazioni di regressione utili per la stima dell'età con il metodo proposto da Erickson (Tabb. 10.7, 10.8).



**Fig. 10.12** - Illustrazione schematica dei vari tipi di microstrutture dell'osso.

1: osteone; 2: osteone di II tipo; 3: frammenti di osteone; 4: spazio di riassorbimento; 5: canale non haversiano; 6: osso circonfenziale non rimodellato; X: osteone il cui canale haversiano è al di fuori del campo microscopico (da Erickson, 1991).

**Tab. 10.7** – Regressione lineare tra età (come variabile indipendente) e parametri istologici (da Ericksen, 1991, modificata).

| Variabile   | Gruppo           | Statistica di regressione |          |                 |         |
|---|------------------|---------------------------|----------|-----------------|---------|
|   |                  | Intercetta                | Pendenza | Coeff. di corr. | F       |
| x <sub>1</sub> - Osteoni /mm <sup>2</sup>                         | Entrambi i sessi | 4.91                      | 0.11     | 0.49            | 101.71* |
|   | Femmine          | 6.29                      | 0.09     | 0.40            | 29.11*  |
|   | Maschi           | 3.26                      | 0.14     | 0.58            | 87.24*  |
| x <sub>2</sub> - Osteoni tipo II/mm <sup>2</sup>                  | Entrambi i sessi | -0.94                     | 0.04     | 0.55            | 141.47* |
|   | Femmine          | -0.81                     | 0.04     | 0.59            | 80.04*  |
|   | Maschi           | -1.05                     | 0.04     | 0.52            | 62.34*  |
| x <sub>3</sub> - Frammenti di osteoni/mm <sup>2</sup>             | Entrambi i sessi | -16.19                    | 0.60     | 0.71            | 323.09* |
|   | Femmine          | -16.82                    | 0.66     | 0.73            | 177.89* |
|   | Maschi           | -12.77                    | 0.49     | 0.69            | 156.52* |
| x <sub>4</sub> - Aree di riassorbimento/mm <sup>2</sup>           | Entrambi i sessi | 2.66                      | 0.01     | 0.17            | 9.48**  |
|   | Femmine          | 2.47                      | 0.02     | 0.21            | 6.90*** |
|   | Maschi           | 2.82                      | 0.01     | 0.13            | 3.20    |
| x <sub>5</sub> - Canali non-Haversiani/mm <sup>2</sup>            | Entrambi i sessi | 7.56                      | -0.10    | -0.66           | 248.40* |
|   | Femmine          | 7.41                      | -0.10    | -0.69           | 137.49* |
|   | Maschi           | 7.73                      | -0.10    | -0.63           | 112.75* |
| x <sub>6</sub> - Valore medio percentuale di osso non rimodellato | Entrambi i sessi | 84.44                     | -0.96    | -0.72           | 342.80* |
|   | Femmine          | 85.68                     | -0.99    | -0.78           | 229.37* |
|   | Maschi           | 82.94                     | -0.94    | -0.66           | 130.32* |
| x <sub>7</sub> - Valore medio percentuale di osso osteonale       | Entrambi i sessi | 25.90                     | 0.28     | 0.36            | 47.51*  |
|   | Femmine          | 25.87                     | 0.25     | 0.34            | 19.32*  |
|   | Maschi           | 24.19                     | 0.34     | 0.41            | 34.13*  |
| x <sub>8</sub> - Valore medio percentuale di osso frammentale     | Entrambi i sessi | -10.09                    | 0.64     | 0.69            | 292.53* |
|   | Femmine          | -10.56                    | 0.67     | 0.73            | 175.95* |
|   | Maschi           | -7.98                     | 0.57     | 0.63            | 114.70* |

\* P<0.0001

\*\* P<0.002

\*\*\* P<0.01

La maggior parte delle equazioni presentava un errore standard della stima approssimativamente di  $\pm 10$  anni, valore che appare comparabile con quello ottenuto da Thompson su un campione di minori dimensioni.

L'Autore suggerì, sulla base della propria esperienza, di utilizzare le equazioni contrassegnate dai nn. 8, 18, 26, per ottenere risultati soddisfacenti sia per soggetti di sesso noto sia per quelli in cui il sesso non era determinabile. Le equazioni che utilizzano una o due variabili apparivano spesso inefficaci; quelle comprendenti tutte le variabili comportavano notevole difficoltà nella loro applicazione.

Lo studio di Ericksen inoltre permise di valutare la relazione esistente tra il rimangiamento delle varie componenti strutturali dell'osso diafisario del femore, il sesso e l'età dell'individuo. I dati di tale valutazione sono riportati nella **tabella 10.9**.

Sulla scorta di tali rilievi emerge che il numero degli osteoni di II tipo aumentano con l'età, mentre le aree di riassorbimento mostrano un andamento stazionario in entrambi i sessi; analogamente i canali non Haversiani diminuiscono e si riduce anche l'area di tessuto osseo non rimodellata, soprattutto dopo il quarto decennio di vita in entrambi i sessi. Come riportato in tabella, gli osteoni e i frammenti di osteoni mostrano un andamento diversificato nei due sessi poiché nei maschi gli osteoni aumentano di numero ad ogni decennio, nelle donne il numero di osteoni mostra una fase stazionaria dopo i cinquanta anni. I frammenti di osteone aumentano con l'età specie

**Tab. 10.8** – Equazioni ottenute dall'analisi di Regressione multipla della relazione fra età e otto variabili istologiche (in ordine crescente di  $r^2$ ) (da Ericksen 1991, modificata)<sup>1</sup>.

| Equazione di regressione   | $r^2$ | S.E.  |
|--|-------|-------|
| Entrambi i sessi (N=328)   |       |       |
| 1. $y = 75.49 - 0.53x_6$   | 0.51  | 12.21 |
| 2. $y = 60.45 + 0.47x_2 - 0.32x_8$   | 0.59  | 11.20 |
| 3. $y = 53.12 + 0.60x_2 - 2.67x_5$   | 0.63  | 10.66 |
| 4. $y = 44.06 + 0.68x_1 + 0.60x_3 - 2.05x_5$   | 0.65  | 10.43 |
| 5. $y = 43.54 + 0.61x_1 + 2.01x_2 + 0.52x_3 - 1.97x_5$   | 0.66  | 10.25 |
| 6. $y = 38.11 + 0.80x_1 + 2.22x_2 + 0.31x_3 - 1.54x_5 + 0.23x_8$                                 | 0.66  | 10.17 |
| 7. $y = 40.77 + 1.02x_1 + 2.34x_2 + 0.24x_3 - 1.76x_5 - 0.11x_7 + 0.26x_8$                       | 0.67  | 10.15 |
| 8. $y = 67.43 + 1.11x_1 + 2.46x_2 + 0.20x_3 - 1.57x_5 - 0.30x_6 - 0.39x_7$                       | 0.67  | 10.08 |
| 9. $y = 94.98 + 1.10x_1 + 2.48x_2 + 0.24x_3 - 1.50x_5 - 0.58x_6 - 0.65x_7 - 0.34x_8$             | 0.67  | 10.07 |
| 10. $y = 92.42 + 1.07x_1 + 2.50x_2 + 0.25x_3 + 0.30x_4 - 1.52x_5 - 0.57x_6 - 0.61x_7 - 0.35x_8$  | 0.67  | 10.08 |
| Femmine (N=154)  |       |       |
| 11. $y = 77.91 - 0.61x_6$  | 0.60  | 11.58 |
| 12. $y = 62.90 + 0.40x_3 - 0.40x_8$  | 0.66  | 10.65 |
| 13. $y = 52.63 + 0.58x_2 - 2.98x_5$  | 0.68  | 10.45 |
| 14. $y = 50.69 + 0.40x_2 + 0.50x_3 - 2.77x_5$  | 0.69  | 10.25 |
| 15. $y = 56.54 + 2.38x_2 + 0.39x_3 - 1.75x_5 - 0.19x_6$  | 0.70  | 10.10 |
| 16. $y = 53.12 + 2.89x_2 + 0.32x_3 + 1.28x_4 - 1.83x_5 - 0.19x_6$                                | 0.71  | 10.00 |
| 17. $y = 50.01 - 0.19x_1 + 2.85x_2 + 0.33x_3 + 1.38x_4 - 1.69x_5 - 0.18x_6$                      | 0.71  | 10.02 |
| 18. $y = 63.39 + 0.55x_1 + 3.12x_2 + 0.20x_3 + 0.92x_4 - 1.57x_5 - 0.31x_6 - 0.24x_7$            | 0.71  | 10.00 |
| 19. $y = 111.69 + 0.65x_1 + 2.89x_2 + 0.24x_3 - 1.38x_5 - 0.79x_6 - 0.72x_7 - 0.50x_8$           | 0.72  | 9.98  |
| 20. $y = 102.45 + 0.53x_1 + 3.00x_2 + 0.27x_3 + 0.93x_4 - 1.44x_5 - 0.72x_6 - 0.60x_7 - 0.51x_8$ | 0.72  | 9.96  |
| Maschi (N=174)   |       |       |
| 21. $y = 44.37 + 0.97x_3$  | 0.48  | 12.04 |
| 22. $y = 51.94 + 0.70x_3 - 2.30x_5$  | 0.59  | 10.70 |
| 23. $y = 40.02 + 0.97x_1 + 0.66x_2 - 1.54x_5$  | 0.62  | 10.24 |
| 24. $y = 39.68 + 0.93x_1 + 1.66x_2 + 0.56x_3 - 1.49x_5$  | 0.64  | 10.11 |
| 25. $y = 44.40 + 1.15x_1 + 1.65x_2 + 0.53x_3 - 1.85x_5 - 0.14x_7$                                | 0.64  | 10.06 |
| 26. $y = 57.98 + 1.36x_1 + 1.90x_2 + 0.32x_3 - 1.62x_5 - 0.17x_6 - 0.33x_7$                      | 0.64  | 10.05 |
| 27. $y = 60.25 + 1.38x_1 + 1.89x_2 + 0.31x_3 - 0.18x_4 - 1.61x_5 - 0.19x_6 - 0.36x_7$            | 0.64  | 10.08 |
| 28. $y = 59.23 + 1.38x_1 + 1.88x_2 + 0.30x_3 - 0.18x_4 - 1.61x_5 - 0.18x_6 - 0.35x_7 + 0.01x_8$  | 0.65  | 10.11 |

<sup>1</sup>: Vedi nel testo per la definizione delle variabili  
S.E.: errore standard della determinazione dell'età

nel sesso femminile in cui, dopo i cinquant'anni sono più rappresentati quantitativamente rispetto agli osteoni; nel sesso maschile invece i frammenti di osteone superano in estensione l'area occupata dagli osteoni solo dopo i sessant'anni.

L'osso osteonale e quello frammentale appaiono ugualmente rappresentati in entrambi i sessi anche nelle età avanzate<sup>29</sup>.

## Osservazioni di Lynnerup

N. Lynnerup e coll. (1998) hanno condotto un'indagine volta a valutare la variabilità "intra ed inter-observer" nella quantificazione del dato istologico con le metodiche istomorfometriche per la determinazione dell'età da resti scheletrici.

**Tab. 10.9** – Valori relativi al rimodellamento istologico della corteccia anteriore del femore in entrambi i sessi (da Ericksen, 1991, modificata).

| Età (anni)     | N  | Osteoni         |      | Frammenti       |       | O. osteonale |       | O. frammentale |       |
|----------------|----|-----------------|------|-----------------|-------|--------------|-------|----------------|-------|
|                |    | mm <sup>2</sup> | s.d. | mm <sup>2</sup> | s.d.  | %            | s.d.  | %              | s.d.  |
| <b>Femmine</b> |    |                 |      |                 |       |              |       |                |       |
| 14-19          | 5  | 2.75            | 3.70 | 1.17            | 1.67  | 12.24        | 21.45 | 2.48           | 3.74  |
| 20-29          | 5  | 5.46            | 3.85 | 3.02            | 2.59  | 20.08        | 21.13 | 7.96           | 7.86  |
| 30-39          | 6  | 7.34            | 2.81 | 4.66            | 3.46  | 27.40        | 11.92 | 9.73           | 8.64  |
| 40-49          | 9  | 11.39           | 3.04 | 14.17           | 6.20  | 44.62        | 9.87  | 22.02          | 11.68 |
| 50-59          | 25 | 13.16           | 3.00 | 16.46           | 8.94  | 47.01        | 9.35  | 25.18          | 12.14 |
| 60-69          | 38 | 13.71           | 3.94 | 24.05           | 10.94 | 47.78        | 11.38 | 31.39          | 13.75 |
| 70-79          | 32 | 12.15           | 2.94 | 32.12           | 10.97 | 41.33        | 10.15 | 41.41          | 11.12 |
| 80-89          | 27 | 12.34           | 2.94 | 40.82           | 14.10 | 43.28        | 9.83  | 47.45          | 10.01 |
| 90-94          | 7  | 12.45           | 2.81 | 51.37           | 18.84 | 40.31        | 12.90 | 49.48          | 13.59 |
| <b>Maschi</b>  |    |                 |      |                 |       |              |       |                |       |
| 16-19          | 4  | 1.69            | 1.19 | 1.41            | 0.87  | 8.30         | 7.18  | 5.05           | 4.16  |
| 20-29          | 6  | 4.96            | 4.17 | 1.58            | 1.58  | 21.27        | 19.36 | 3.23           | 3.41  |
| 30-39          | 9  | 7.35            | 4.13 | 3.26            | 2.53  | 34.07        | 22.66 | 10.96          | 9.79  |
| 40-49          | 17 | 11.78           | 3.96 | 10.75           | 6.94  | 50.59        | 13.50 | 20.58          | 10.26 |
| 50-59          | 39 | 12.14           | 3.17 | 12.20           | 6.57  | 46.02        | 14.19 | 21.37          | 11.28 |
| 60-69          | 38 | 12.30           | 2.92 | 18.80           | 10.74 | 48.13        | 7.73  | 30.31          | 13.58 |
| 70-79          | 40 | 14.19           | 2.85 | 23.34           | 8.04  | 48.02        | 7.71  | 35.07          | 12.28 |
| 80-89          | 19 | 14.33           | 3.78 | 31.95           | 12.78 | 47.43        | 9.27  | 39.44          | 13.08 |
| 90-97          | 2  | 15.69           | 1.75 | 31.60           | 2.55  | 50.50        | 1.56  | 38.20          | 0.85  |

Scopo del lavoro non è stato quello di valutare la variazione fra età reale al momento del decesso ed età calcolata con le varie metodiche, ma piuttosto il tentativo di definire le variazioni insite in tutti i metodi istologici che si basano sulla valutazione quantitativa di osteoni e frammenti di osteoni.

Lo studio ha preso pertanto in considerazione la conta degli osteoni secondari, dei frammenti di osteoni e dei canali di Havers, partendo dal presupposto che, oltre i primi due, anche questi ultimi possano essere misurati in maniera affidabile.

La casistica era costituita complessivamente da 430 casi, di cui 29 estrapolati in maniera casuale ed esaminati da tre distinti ricercatori. Dai 29 predetti casi ne sono stati scelti 10 in maniera randomizzata per l'analisi intra-observer.

I frammenti ossei delle dimensioni di almeno 4 cm prelevati al terzo medio diafisario del femore sinistro sono stati bolliti per circa 4-5 ore e ripuliti grossolanamente con un comune detersivo. Dai frammenti sono state ottenute, con un microtomo a lama circolare a bassa velocità, sezioni dello spessore di 100 µm che, dopo essere state immerse in alcool al 96%, sono state montate su vetrino porta oggetto senza essere colorate. Per ogni caso sono state ottenute tre microfotografie: una ripresa nella regione anteriore, in un punto diametralmente opposto alla linea aspera, e le altre due nelle porzioni più laterali della predetta sezione. L'area coperta da ogni fotogramma misurava 1,5 mm<sup>2</sup>. Su di ogni fotogramma è stato applicato un foglio di plastica trasparente in maniera tale da consentire di segnare le strutture da contare: osteoni secondari, frammenti di osteoni e canali di Havers. L'intervallo di tempo occorso tra due letture successive effettuate dallo stesso esaminatore è stato mediamente di circa 2 mesi.

Tutte le valutazioni sono state eseguite in assenza dei dati relativi all'età, dei risultati di precedenti osservazioni o dei risultati di altri osservatori.

Gli esaminatori avevano tutti una esperienza pluriennale in antropologia e patologia forense.

Sulla base dei conteggi effettuati sono stati ottenuti grafici relativi alla concordanza inter ed intra-observer che includevano la così detta "linea di concordanza", cioè la linea sulla quale giacciono tutti i punti se vi è completa corrispondenza tra le osservazioni.

La concordanza è stata ulteriormente analizzata riportando in un grafico la differenza rilevata confrontando le medie. I risultati sono stati sottoposti al test di Wilcoxon per valutare le differenze dei conteggi *intra-observer* ed al test di Friedman per valutare le differenze di quelle *inter-observer*<sup>30</sup>.

I risultati dell'analisi statistica hanno evidenziato, in sintesi, che le discordanze maggiori si riscontravano nelle valutazioni dei frammenti di osteoni eseguite da differenti operatori *inter-observer*, mentre non vi erano significative differenze tra la prima e la seconda misurazione effettuate dallo stesso osservatore *intra-observer*; costantemente diversi apparvero invece i valori dei conteggi *inter-observer* dei canali di Havers a rappresentare la difficoltà nella definizione e nella individuazione degli stessi.

Ne consegue che le formule di regressione che utilizzano i frammenti di osteoni, il cui conteggio è spesso fonte di errori, può giustificare altrettanti errori nella stima dell'età.

La maggiore variabilità dei conteggi dimostrata dal confronto dei risultati ottenuti dai vari Autori è dovuta, secondo Lynnerup e coll., ai seguenti fattori:

- inadeguata sperimentazione delle metodiche;
- impossibilità di differenziare le strutture (osteoni/frammenti di osteoni) in situazioni limite;
- soggettività nell'interpretazione delle strutture;
- mancata uniformità nella standardizzazione dei vari campioni;
- influenza sul campione delle condizioni etnico-sociali-ambientali;
- diversa composizione relativamente alla razza, all'età e al sesso;
- insufficienza statistica del solo coefficiente di regressione.

In base alle osservazioni effettuate, gli Autori conclusero che solo gli osteoni secondari possono essere contati in maniera affidabile; pertanto i metodi istologici che utilizzano formule di regressione comprendenti il conteggio di frammenti di osteoni, dovrebbero essere utilizzati con estrema prudenza.

Devono quindi essere evitati i metodi privi di una adeguata verifica, di standardizzazione e della preventiva analisi statistica ed è necessario sviluppare descrizioni adeguate, uniformi e quindi affidabili delle strutture istologiche da analizzare (definizione di frammento di osteone/osteone secondario, ad esempio), nonché degli standard di riferimento, con precisa definizione della localizzazione topografica delle strutture da esaminare<sup>31</sup>.

In conclusione, emerge dalle osservazioni di Lynnerup e coll., che uno degli ostacoli più importanti all'utilizzazione dei metodi istologici è quello del campionamento e del metodo scelto per l'analisi. Infatti, le equazioni di regressione tendono a porre un determinato campione all'interno dell'insieme dei dati utilizzati per la formulazione del metodo stesso. Si presume infatti che le modificazioni dell'osso legate al-

l'età nella popolazione presa in esame per definire il metodo siano identiche a quelle del campione da esaminare. Ciò comporta due possibili fonti di errore: da un lato non è noto come il campione di cui è necessario valutare l'età si correli con l'insieme dei dati a disposizione; dall'altro, quali siano le differenze tra le diverse popolazioni circa l'invecchiamento. C'è da chiedersi quale sia l'applicabilità di un metodo, ottenuto mediante dati relativi ad una determinata popolazione, ad un campione che provenga da una popolazione diversa. Un'altra possibilità di errore è rappresentata dalla difficoltà di stimare gli effetti di una serie di fattori sulle modificazioni a cui va incontro l'osso, quali l'attività fisica, l'immobilizzazione in seguito a traumi, il tipo di dieta, patologie, etc.

È necessario pertanto, allo stato attuale, creare banche-dati molto ampie usando metodi oggettivi, su popolazioni diverse, in maniera tale da poter confrontare, in caso di indagini forensi, un campione con una attendibile popolazione di riferimento. Allo stesso tempo è necessario introdurre metodi nuovi, obbiettivi e di semplice e rapida applicazione che consentano di ottenere livelli di accuratezza sempre maggiori anche da parte di esaminatori non particolarmente esperti nelle tecniche istologiche sull'Uomo<sup>32</sup>.

### **Fattori esogeni che possono influenzare la valutazione istologica dell'osso**

L'applicazione dei metodi istologici richiede l'adeguata preservazione delle strutture da valutare.

In particolari condizioni i resti scheletrici possono conservarsi in buono stato per migliaia di anni; per contro l'azione di sostanze presenti nel terreno di inumazione e la colonizzazione dell'osso da parte di funghi e batteri può deteriorare resti anche relativamente recenti. Fondamentali quindi, ai fini della conservazione dei resti, appare la conoscenza delle caratteristiche del terreno di inumazione o di eventuali sostanze contaminanti in esso presenti<sup>33</sup>.

La maggior parte dei metodi istologici utilizza punti di repere siti in prossimità della superficie periostale, regione di solito a contatto con i contaminanti ambientali; quindi in questa sede può avere luogo il deterioramento della struttura dei tessuti, con ripercussioni negative sulla valutazione istomorfologica con i metodi precedentemente considerati.

I resti ossei, dunque, possono essere modificati ed alterati dall'azione di fattori chimico-fisici e da agenti biologici.

Studi sugli effetti della esposizione dell'osso agli agenti chimico-fisici hanno evidenziato che la distruzione dell'osso avviene per complessi processi chimici influenzati dal pH del terreno del sito di inumazione e dalle condizioni di umidità che inducono la decomposizione chimica dell'osso generando microfissurazioni e piccole fratture.

Indagini microscopiche su osso non decalcificato osservato in luce polarizzata hanno consentito di individuare anche alterazioni strutturali prodotte dall'azione di batteri e funghi sull'osso inumato. Gli uni e gli altri invadono l'osso e lo erodono in profondità formando cavità e canalicoli che, dopo la morte e la decomposizione dei microrganismi stessi, appaiono come aree otticamente vuote<sup>34</sup>.

18. Amprino R., Bairati A., Ricerche sulle trasformazioni della sostanza compatta della diafisi del femore nell'accrescimento e nella senescenza, *Monitore Zoologico Italiano*, XLV, 272, 1935.
  19. Ortener D.J., Aging effects on osteon remodelling. *Calc. Tiss. Res.*, 18, 27, 1975.
  20. Balthazar R., Lebrun R., Les canaux de Havers de l'os humain in aux differentes âges. *Ann. d'Hyg. Méd. Lég.*, 144, 1911.
  21. Deslypere P., Baert H., Assesment of age by the measurement of the havers canals of human bones. A critical study of the Balthazard and Lebrun method, *J. Forensic Sci.*, 5, 1958.
  22. Kerley E. R., Ubelaker D. H., Revision in the microscopic method of estimating age at death in human cortical bone, *Am. J. Phys. Anthropol.*, 49, 545, 1978.
  23. Bouvier M., Ubelaker D. H., A comparison of two methods for the microscopic determination of age at death, *Am. J. Phys. Anthropol.*, 46, 391, 1977.
  24. Frost H.M., *Henry Ford Hospital Medical Bulletin*, 10, II, 267, 1962. Citato da [6].
  25. Elias H., Pauli J. E., *Human Microanatomy*. F. A. Davis, Philadelphia, 1966.
  26. Weibel W. R., *Int Rev Citol.*, 26, 235, 1969. Citato da [6].
  27. Thompson D. D., Microscopic determination of age death in an autopsy series. *J. Forensic Sci.*, 26, 470, 1981.
  28. Tomphson D. D., Galvin C.A., Estimation of age at death by tibial osteon remodelling in an autopsy series. *Forensic Sci. Int.*, 22, 203, 1983.
  29. Erickson M. F., Histologic estimation of age at death using the anterior cortex of the femur, *Am. J. Phys. Anthropol.*, 84, 171, 1991.
  30. Wilkinsón L., *The system for statistics*, Systat inc. Evanston Illinois, 1989.
  31. Lynnerup N., Thomsen J. L., Frolich B., Intra- and inter-observer variation in histological criteria used in age at death determination based on femoral cortical bone, *Forensic Sci. Int.*, 91, 219, 1998.
  32. Ubelaker D., Estimation of age at death from histology of human bone, dating and age determination of biological materials, *Zimmerman and Lawrence Angel*, 240, 1986.
  33. Stout S., Simmons D.J., Use of histology in ancient bone research. *Yearbook of Physical Anthropology*, 22, 228, 1979.
  34. Perotti B., Biological and enviromental agents in the preservation of ancient human remains, *J. Biol. Res. Boll. Soc. It. Biol. Sper.*, 1-2, 1, 1998.
  35. Hackett C. J., Microscopical focal destruction (tunnels) in exumed human bones. *Med. Sci. Law*, 21, 243, 1981.
  36. Dell'Erba A., Caretto L., La osteodiagnosi dell'epoca della morte. Aspetti istologici di resti scheletrici interrati da oltre un millennio. *Atti delle Giornate di Medicina Legale Infortunistica e Tossicologia*, Maccari Editore, Parma, 1957.
  37. Samsun D., Braningan K., A new method of estimating age at death from fragmentary and weathered bone, in Bodington A., Garland N., Janaway R.C., *Death, Decay and Reconstruction. Approaches to Archaeology and Forensic Science*. Manchester University Press, 101, 1987.
-