

**Univerzita Karlova**  
**Přírodovědecká fakulta**

Studijní program: Biologie  
Studijní obor: Antropologie a genetika člověka



**Bc. Kristýna Pytlíčková**

**Cementochronologie a její význam ve forenzní antropologii a  
bioarcheologii: srovnání mezi jedinci různých klimatických zón**

Cementochronology and its importance in forensic anthropology and  
bioarchaeology: a comparison between individuals of different climatic zones

**Diplomová práce**

Vedoucí práce: prof. RNDr. Jaroslav Brůžek, PhD.

Konzultant: Mgr. Eliška Zazvonilová

Praha, 2022

## **Prohlášení**

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, dne 3.1.2022

.....

## **Poděkování**

Velmi ráda bych poděkovala svému školiteli prof. RNDr. Jaroslavu Brůžkovi, PhD. za vedení této diplomové práce, cenné rady, připomínky, věnovaný čas a trpělivost. Zároveň děkuji své konzultantce Mgr. Elišce Zazvonilové za podporu a odbornou pomoc při práci na praktické části. V neposlední řadě děkuji celé své rodině za všestrannou podporu a trpělivost během celého studia.

## Abstrakt

Na poli forenzní antropologie i bioarcheologie dochází k neustálému hledání vhodnějších a spolehlivějších metod, které by umožnily odhad věku a sezonality v době úmrtí jedinců. Tato práce je věnována metodě cementochronologie. Je to metoda, která pracuje s kontinuálně rostoucí zubní tkání - cementovou vrstvou, jejíž pravidelné periodické přirůstání úzce koreluje s přibývajícím věkem. Diplomová práce se opírá o 2 soubory zubů jedinců známého věku a sezóny extrakce, které pocházejí z různých geograficky odlišných populací – české a malajské. Soubor české populace obsahuje celkem 21 zubů, soubor malajské populace obsahuje 11 zubů. Z těchto vzorků byly zhotoveny histologické preparáty a od každého jedince bylo analyzováno 5 řezů, u kterých byly počítány přírůstkové linie cementové vrstvy kořene a pro odhad sezonality charakter poslední přírůstkové linie.

Námi dosažené výsledky odhadu věku se u obou souborů, české i malajské populace, blížily věku chronologickému daného jedince. U vzorků souboru české populace byl průměrný rozdíl mezi těmito věky 1,15 roku, přičemž častěji docházelo k nadhodnocování výsledků.

U souboru vzorků malajské populace byl průměrný rozdíl (-1,68) roku a zde je pozorován trend podhodnocování výsledků. Také sezonalita odečtena na základě charakteru poslední přírůstkové linie odpovídala u osmi z devíti případů hodnotám ze záznamů.

Díky zkoumání vzorků odlišného původu můžeme konstatovat, že cementochronologie je vhodnou metodou jak pro odhad věku, tak i sezonality. Naše výsledky naznačují, že cementochronologie je metodou odhadu věku, která může být použita bez ohledu na geografický původ jedince nebo na původ vzorku, tedy zda se jedná o zuby populace recentní či archeologické.

**Klíčová slova:** forenzní antropologie, bioarcheologie, cementochronologie, věk dožití, sezonalita

## Abstract

In the field of forensic anthropology and bioarchaeology, there is a constant search for more suitable and reliable methods that would allow the estimation of age and seasonality at the time of death of individuals. This work is devoted to the method of cementochronology. It is a method that works with continuously growing dental tissue – a cement layer, whose regular periodic growth is closely correlated with increasing age. The diploma thesis is based on 2 sets of teeth of individuals of known age and extraction season, which come from different geographically different populations – Czech and Malaysian. The group of the Czech population contains a total of 21 teeth, the group of the Malaysian population contains 11 teeth. Histological specimens were prepared from these samples and 5 sections were analyzed from each individual, in which the incremental lines of the root cement layer were counted and the nature of the last incremental line to estimate seasonality.

The results of age estimation achieved by us in both groups, the Czech and Malaysian populations, were close to the chronological age of the individual. The average difference between these ages in the samples of the Czech population was 1,15 years, with the results being overestimated more often. The average difference in the sample of the Malaysian population was (-1,68) years, and a trend of underestimating the results is observed here. The seasonality subtracted from the nature of the last incremental line also corresponded to the values in the records in eight of the nine cases.

Thanks to the examination of samples of different origin, we can state that cementochronology is a suitable method for estimating both age and seasonality. Our results suggest that cementochronology is an age estimation method that can be used regardless of the geographical origin of the individual or the origin of the sample, ie whether the teeth are recent or archaeological.

**Key words:** forensic anthropology, bioarchaeology, cementochronology, life expectancy, seasonality

# Obsah

1 Úvod.....	1
2 Odhad věku dožití podle znaků na kostře .....	2
2.1 Odhad věku u nedospělých jedinců .....	3
2.2 Odhad věku u dospělých jedinců.....	5
2.2.1 Lebeční švy .....	6
2.2.2 Sternální konec žeber .....	7
2.2.3 Spona stydká .....	9
2.2.4 Facies auricularis pánevní kosti .....	10
2.2.5 Acetabulum .....	12
2.2.6 Dentice .....	14
3 Cementochronologie .....	16
4 Cíle a hypotézy.....	20
4.1 Cíle.....	20
4.2 Hypotézy.....	20
5 Materiál a metoda.....	21
5.1 Materiál.....	21
5.2 Metoda .....	24
5.2.1 Příprava histologických preparátů.....	24
5.2.2 Odhad věku metodou cementochronologie.....	25
5.2.3 Odhad sezonality metodou cementochronologie .....	26
5.2.4 Statistické zpracování.....	28
6 Výsledky.....	30
6.1 Odhad věku dožití podle apozice cementu .....	30
6.1.1 Cementochronologie v českém souboru .....	30

6.1.2	Cementochronologie v malajském souboru .....	34
7	Diskuse .....	42
8	Závěr .....	48
9	Seznam literatury .....	49
10	Seznam webových stránek .....	57

# 1 Úvod

Odhad věku dožití patří do takzvané „velké čtyřky“ při stanovení biologického profilu jedince, kam jsou řazeny také odhad pohlaví, výšky a biogeografického původu (Spradley et al. 2008). Odhad věku dožití společně se sezonalitou jsou u lidských pozůstatků důležitým determinanem ve forenzní antropologii i bioarcheologii. Stanovení odhadu těchto dvou parametrů v době úmrtí může v případě forenzní analýzy značně usnadnit identifikaci lidských ostatků. V bioarcheologii může znalost věku a sezonality v době úmrtí vést k objasnění období úmrtnosti i změn v lidském chování u minulých populací (Wedel 2015).

Cementochronologie je rychle se rozvíjející metoda, díky které jsme schopni poměrně přesně odhadnout věk jedince a navíc nám umožňuje odhadnout i roční období v době úmrtí. Je to histologická metoda, využívající periodické přirůstání světlých a tmavých cementových linií v oblasti kořene zubu (Wedel 2007). Častým připodobněním přirůstáním cementových linií jsou letokruhy stromů. Tyto dva typy linií se vytvářejí na základě rozdílné mineralizace, která je způsobená odlišnou aktivitou cementových buněk (Wittwer-Backofen 2012). Příčina této odlišné aktivity cementových buněk není dosud jasně známá. Mezi možné faktory, ovlivňující sezónní aktivitu, mohou patřit například biorytmy člověka, změny ve složení stravy nebo změny sezónních ekologických podmínek (Lieberman 1994; Stott et al. 1982).

V této diplomové práci se věnujeme odhadu věku a sezonality u dvou geograficky odlišných populací. Díky spolupráci s profesorem Pukhabarem z Malajsie máme možnost zkoumat zuby jedinců odlišného zeměpisného pásma, než je Česká republika. Malajsie patří do pásma tropického klimatu, oproti České republice, která leží v mírném klimatickém pásmu severní polokoule. Pro nás bude klíčové, zda se výsledky odhadu věku a sezonality mezi soubory české a malajské populace budou navzájem lišit.



## 2 Odhad věku dožití podle znaků na kostře

Stanovení věku jednotlivce je jedním z klíčových znaků biologického profilu jedince. V oboru bioarcheologie navíc umožňuje zjištěný věk jedinců osvětlit demografii celých populací a umožňuje vhléd do života minulých populací (Ellingham et al. 2019). Forenzní antropologie i bioarcheologie využívají celou řadu metod pro odhad věku dožití z kosterních pozůstatků, přičemž rozeznáváme tři hlavní skupiny metod: morfologické, histologické (mikroskopické) či chemické. Nejčastěji se setkáváme s metodami morfologickými, založenými na sledování změn určitých indikátorů na kostře, souvisejících s růstem a vývojovými změnami nebo se stárnutím a degenerativními procesy. Nejspolehlivější a nejpřesnější metody odhadu věku jsou založeny na kosterních indikátorech se silnou korelací s chronologickým věkem (Langley et al. 2017).

Při určování dožitého věku z kosterního materiálu rozlišujeme dvě kategorie věku.

Jedná se o biologický věk (kostní věk, zubní věk), který odpovídá stavu zrání a senescence jedince (Christensen et al. 2014) a chronologický neboli kalendářní věk, který vyjadřujeme v jednotkách času. Biologický věk určuje stupeň vývoje organismu - týká se fyziologického stavu jedince a charakterizuje tak celkový stav vývoje a růstu (Dirkmaat 2012). Oproti tomu chronologický věk je udáván podle data narození (Ries et al. 1984). Při odhadu věku z kosterních pozůstatků je odhadován věk biologický, díky kterému je, po porovnání studovaných vzorků s referenčními vzorky, odhadnut věk chronologický (Dirkmaat 2012). Vztah mezi biologickým a chronologickým věkem je bližší u mladších jedinců a s postupujícím věkem se tento vztah rozvolňuje (Acsádi et al., 1970; Nawrocki 2010; Christensen et al., 2014). Biologický věk je totiž ovlivněn mnoha různými faktory, kterými jsou například různá onemocnění, fyzická aktivita nebo strava jedince (Langley et al. 2017).

U koster nedospělých jedinců je odhad založen na anatomických změnách pozorovatelných na kostře, ke kterým dochází postupně během vývoje. Jakmile dojde k dovršení maturace kostry, růst a vývoj se zastaví a začnou převažovat procesy degenerativní. Odhad věku se pak stává mnohem obtížnější (İşcan et al. 2013). Chronologický věk se neustále kontinuálně zvyšuje a není ovlivněn žádnými faktory (Nikita 2017). Konkrétní metodu pro odhad věku volíme podle toho, zda se jedná o nedospělého jedince nebo dospělého a podle částí kostry zachovalých pro věkový odhad (Langley et al. 2017).

## 2.1 Odhad věku u nedospělých jedinců

U nedospělých jedinců se celá kostra mění v závislosti na růstu a načasování jednotlivých fází vývoje je známé a dobře předvídatelné (Langley et al. 2017; Nikita 2017). Proces vývoje zahrnuje výskyt osifikačních center a jejich fúzování, spojení epifýz s příslušnými diafýzami a také vývoj dentice. Tyto události jsou využívány pro odhad věku u nedospělých jedinců (Ubelaker et al. 2019).

Hlavním problémem spojeným s odhadem věku je referenční materiál používaný pro srovnávací účely. Existuje pouze omezený počet sbírek pozůstatků mladých jedinců a z tohoto důvodu jsou i přes variabilitu mezi populacemi tyto metody aplikovány na různé skupiny i na obě pohlaví (Black et al. 2011).

Pro zjištění kostního věku nedospělého jedince je nutné identifikovat stupeň tří základních charakteristik - čas, ve kterém se nachází osifikační centrum, velikost a morfologický vzhled centra a čas sloučení centra s jiným středem osifikace. V nejranějších stádiích vývoje jsou od sebe nerozeznatelné a jsou identifikovány spíše díky anatomické poloze, než výrazné morfologii (Cunningham et al. 2016).

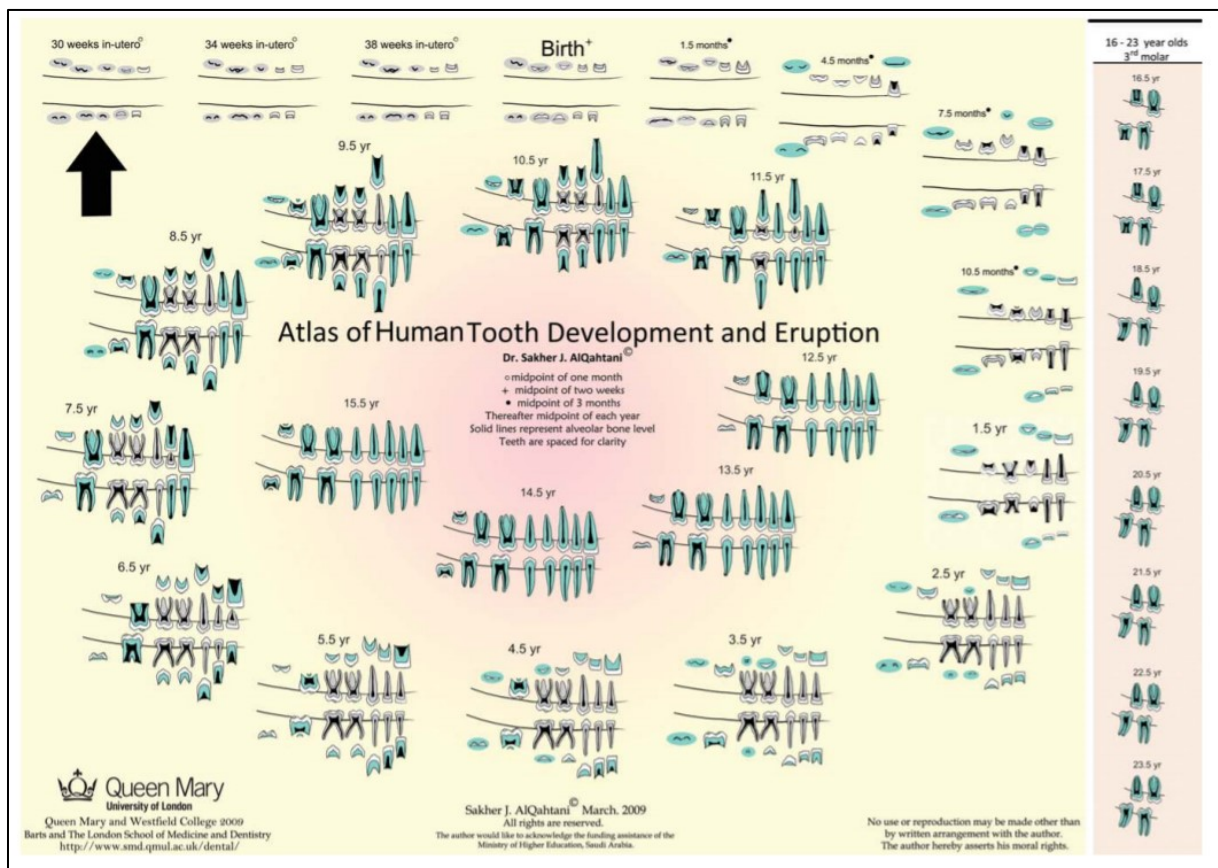
Z hlediska odhadu kostního věku bereme v úvahu odlišné znaky u jednotlivých stádií nedospělého vývoje. V prenatalním období vývoje vykazuje vysokou korelaci s chronologickým věkem délka diafýz dlouhých kostí (Franklin 2010).

U novorozenců se odhad věku provádí převážně podle délky diafýz a podle osifikačních center. U adolescentů se využívá chronologie vzniku osifikačních center a jejich fúze, přirůstání epifýz a délka dlouhých kostí (Cunningham et al. 2016).

Za nejvhodnější znak pro odhad věku je obecně považována dentice, v rámci které se za spolehlivé znaky považují mineralizace a stupeň erupce zubů. Zubní kalcifikace je striktně geneticky podmíněna a celkový vývoj dentice je minimálně ovlivněn enviromentálními faktory (Thesleff et al. 1997; Merwin et al. 1998; Nikita 2017). K vývoji, kalcifikaci a erupci lidského chrupu dochází pravidelně ve známých časových intervalech, což usnadňuje konstrukci postupu pro odhad věku na základě absence, částečné přítomnosti nebo úplné přítomnosti zubních prvků a erupci do dutiny ústní (Cunningham et al. 2016). U jedinců v rozmezí 0 až 12 let má vývoj a formování dentice velmi dobře definované fáze, jenž ukazují silnou korelaci s chronologickým věkem. Proto lze tento vztah s velkou mírou přesnosti použít pro odhad věku u takto mladých jedinců. Tato metoda se však stává obtížnější v případě odhadu věku u starších dětí, mladistvých a zejména dospělých (Dias et al. 2010). Pro vyhodnocení stupně erupce dentice jsou vypracovány atlasy, kde jsou znázorněna

jednotlivá stádia erupce zubů (Obr. č. 1). Nevýhodou těchto atlasů je, že neodpovídají přesně každému jedinci a může se stát, že stupeň erupce pozorovaného jedince odpovídá mezistupni mezi dvěma diagramy z atlasu. Pak je potřeba provést kvalitativní posouzení a vybrat nejvhodnější diagram ke sledovanému vzorku. Existuje zde vysoké riziko chyby (Blenkin et al. 2012).

Nejčastěji používané standardy pro odhad věku na základě mineralizace a erupce dentice popsal Moorrees a kolektiv. Jejich metoda popisuje tvorbu korunky, kořene a vrcholu dočasných i trvalých zubů. Tato metoda může být použita pro odhad věku od čtyř měsíců prenatalního vývoje po 25. rok života (Moorrees et al. 1963). AlQahtani a kolektiv (2010) vypracovali atlas pro odhad věku na základě vývoje zubů a alveolární erupce pro jednotlivce od 28 týdnů in utero do 23 let (AlQahtani et al. 2010).



Obr. č. 1: Jednotlivá stádia zubní erupce. Převzato z (AlQahtani et al. 2010).

V prenatálním a časném postnatálním období je odhad věku možný v rámci týdnů až měsíců, u mladších dětí s rozmezím 1-3 roky a později s rozmezím 4 let (İşcan et al. 2013).

Nejvhodnějším přístupem by mělo být posouzení více indikátorů a stanovení odhadu na základě většího množství poznatků (Langley et al. 2017).

## 2.2 Odhad věku u dospělých jedinců

Věk dospělých jedinců lze odhadovat různými metodami – lze použít metody morfologické, histologické a biochemické. Nejčastěji využívané jsou morfologické metody, které jsou finančně a časově nenáročné. Ty hodnotí stupeň opotřebení kostry („wear and tear“) v oblasti kloubních ploch.

Za dospělého jedince považujeme takového, u kterého je plně dokončena maturace kostry, tj. všechny epifyzy dlouhých kostí jsou plně přirostlé, případně lze hodnotit také srůst *synchondrosis sphenooccipitalis*. Za nejčastěji používané věkové ukazatele na kostře dospělého člověka jsou považovány lebeční švy, sternální konec žebra, pubická symfýza, facies auricularis pánevní kosti a acetabulum (Ellingham et al. 2019). Je to z důvodu četnosti jejich použití, kdy metody využívající tyto indikátory podléhají neustálému ověřování a posuzování spolehlivosti použití (Langley et al. 2017).

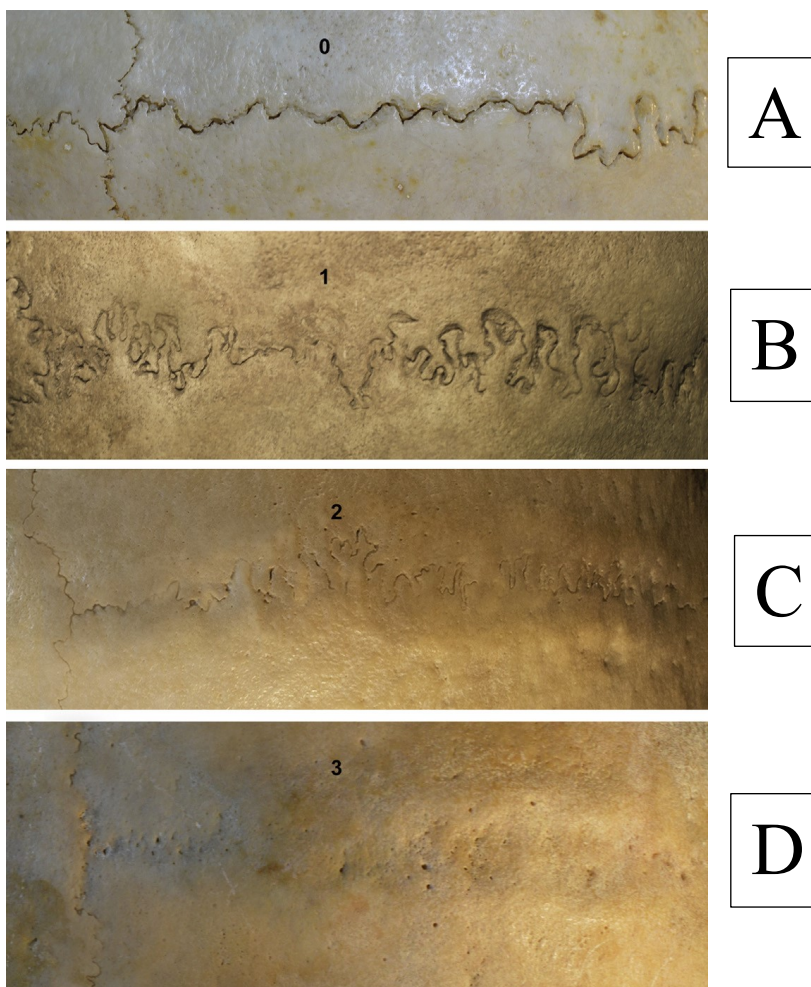
Pomocí těchto indikátorů na kostře se snažíme odhadnout co nejužší věkové rozmezí, což ale není úplně jednoduché z důvodu rozdílné rychlosti stárnutí jednotlivců a kvůli variacím v degenerativních procesech (Dirkmaat 2012). V dospělosti jsou degenerativní procesy ovlivněny vnějšími faktory, jako jsou např. biomechanické zatížení, strava a zdravotní stav (Christensen et al. 2014). K degenerativním změnám dochází různě rychle - tyto změny nejsou navíc u každého jedince stejné kvůli vysoké variabilitě životního stylu mezi populacemi i jedinci (Langley et al. 2017).

V současnosti je s ohledem na omezené možnosti přesného odhadu věku dospělých jedinců vhodné klasifikovat dospělé do širokých věkových skupin (Buk et al. 2012). První skupinou jsou mladí dospělí (20-29 let), druhá skupina zahrnuje věkové rozmezí 30–60 let a třetí skupina zahrnuje jedince 60+ let (Hoppa et al. 1999). U jedinců starších 60 let je odhad věku pomocí morfologických metod dosti nepřesný z toho důvodu, že v takto pokročilém věku jsou patrné značné artrotické změny a horší zachovalost kloubních ploch. Dalším problémem je, že v referenčních populacích daných metod chybí jedinci takto vysokého věku a popis znaků pro starší jedince není kompletní (Mulhern et al. 2005).

Následující kapitoly budou věnovány popisu jednotlivých indikátorů na kostře (a metod je hodnotících), využívaných pro odhad věku dospělých jedinců.

### 2.2.1 Lebeční švy

Lebeční švy jako indikátory věku jsou používány velmi dlouho, ale jejich spolehlivost je neustále diskutována. Mezi prvními, kdo navrhl stupeň uzavírání lebečních švů jako indikátor věku byli Todd a Lyon (1924). Jednotlivé stupně uzavírání lebečních švů lze vidět na Obrázku č. 2. Později byly vytvořeny revidované metody, které byly tradičně využívány jako standardní postupy - Ascádi a Nemskéri (1970), Meindl a Lovejoy (1985) a Mann (1991). Předpojatost a nepřesnost těchto metod vedly k nadhodnocování mladých dospělých a naopak podhodnocování starších jedinců s rozsahem nepřesnosti cca 13-22 let. Výsledky potvrdily, že tyto metody jsou populačně specifické (Ruengdit et al. 2018).



Obr. č. 2: Fáze uzavírání ektokraniálních švů: otevřené (A), minimální uzavření (B), signifikantní uzavření (C), kompletní uzavření (D). Převzato z (Nikita 2017).

Obecně se lebeční švy považují za málo spolehlivé a nepřesné indikátory věku z důvodu slabé korelace s chronologickým věkem. Problémem tohoto indikátoru je, že plně otevřené lebeční švy nemusí s jistotou určovat mladého jedince, a naopak zcela uzavřené švy pouze jedince vyššího věku. Obliterace je totiž ovlivněna mnoha faktory, např. epigenetickými a z důvodu velké variability uzavírání švů lze odvodit pouze široký věkový rozsah (Key et al. 1994). Endokraniální švy lze použít jako determinant věku pouze do cca 50 let. Později je aktivita v tomto typu švu velmi nízká a v případě ektokraniálních švů se objevuje vysoká variabilita mezi mužským a ženským pohlavím (Meindl et al. 1985). V praxi jsou využívány pouze jako doplňkový indikátor k jiným znakům na kostře anebo v případě absence či nemožnosti využití jiných znaků (Garvin et al. 2012; Langley et al. 2017). V současnosti lebeční švy tedy nepatří mezi preferované znaky pro odhad věku dožití (Garvin et al. 2012).

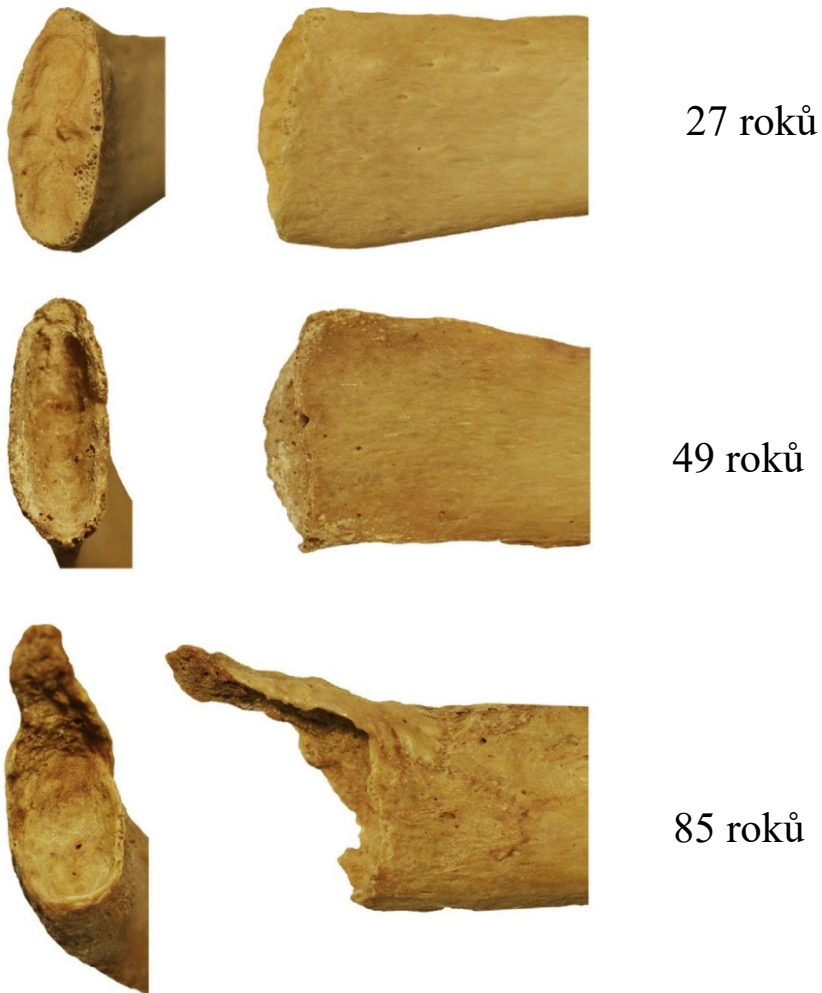
### 2.2.2 Sternální konec žeber

Stejně jako jiná chrupavčitá spojení v těle, tak i kloubní spojení sterna a žebra vykazuje morfologické změny s postupujícím věkem jedince. K největším změnám dochází ve dvou hlavních oblastech – jamce a okraji žebra. U mladých jedinců je okraj hladký, jednotný a zaoblený a jáma je mělká. S postupujícím věkem se okraj stává nepravidelným a začíná se rozšiřovat do tvaru písmene U v důsledku prohlubování jamky (Dirkmaat 2012; Langley et al. 2017; Ellingham et al. 2019). Tyto změny lze pozorovat na Obrázku č. 3.

Prvním, kdo systematicky hodnotil tyto změny s věkem, byl İşcan a kol. (1985), kteří zavedli metodu, jenž zahrnovala celkem devět fází, popisující věkové změny sternálního konce pravého čtvrtého žebra. Pro problematiku intersexuální variability vyvinul İşcan a kol. stejnou devíti-fázovou metodu specifickou pro ženy (İşcan et al. 1985). Později byla metoda rozšířena na další žebra obou stran, protože vykazují stejné morfologické změny v čase (Dudar 1993). V roce 2010 provedla Hartnett revizi této původní metody. Ve svých výsledcích dosáhla nižší inter-observační chyby a dosáhla vyšší korelace s chronologickým věkem v době úmrtí jedince (Hartnett 2010).

Z morfologických změn žebra lze odhadnout mnohem vyšší věkovou hodnotu, než je maximum u metody odhadu ze spony stydké, což činí tento marker vhodnější pro odhad věku. Metoda byla sice popsána jako jednoduchá a spolehlivá a je aplikovatelná na obě dvě pohlaví i různé etnické skupiny, ale již İşcan a kolektiv poukázali na fakt, že inter-observační chyba, lidská variabilita, zdravotní stav jedince a nemoci mohou ovlivnit přesnost odhadu věku na základě tohoto znaku (King 1939; Ontonell et al. 1997; İşcan et al. 2013).

Častým problémem je v případě kosterních ostatků absence, či špatná zachovalost žeber. Z důvodu výše zmíněných nevýhod nepatří ani tento znak mezi příliš preferované pro odhad věku (Merritt 2013).



Obr. č. 3: Morfologické změny pozorovatelné v průběhu vývoje na sternálním konci žebra s narůstajícím věkem. Převzato z (Nikita 2017).

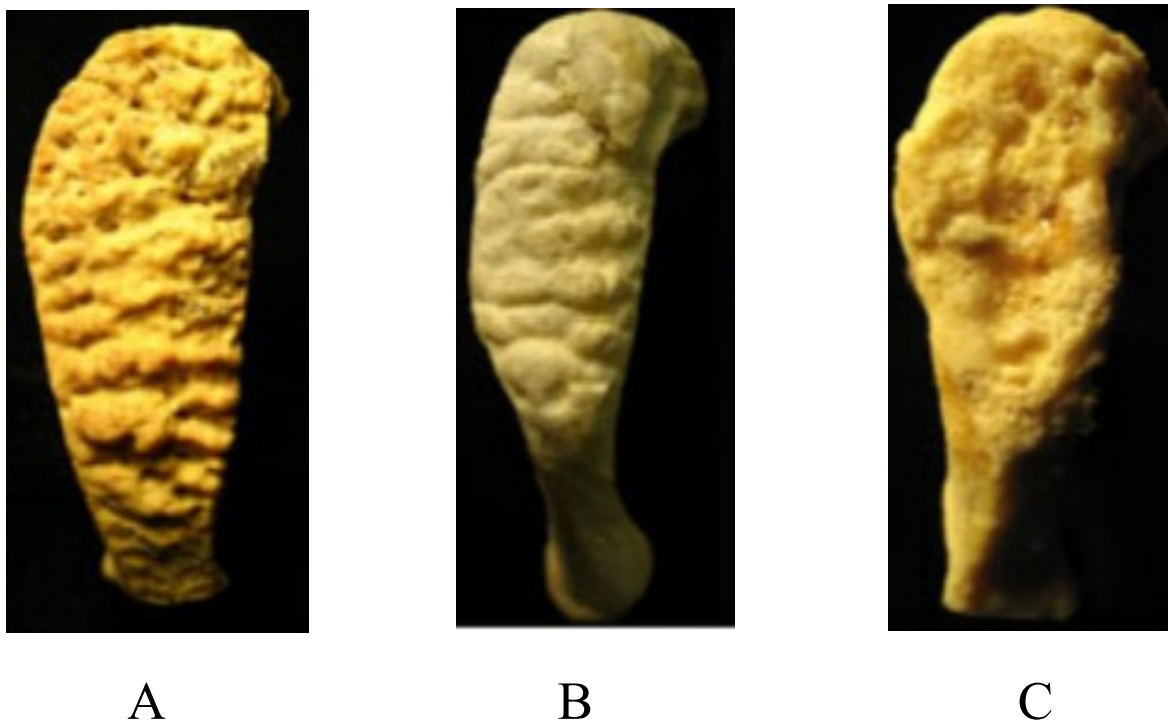
### 2.2.3 Spona stydká

Spona stydká neboli pubická symfýza je chrupavčité spojení s převahou vazivové chrupavky, které se nachází mezi horními rameny stydkých kostí (*ossa pubis*), jež jsou součástí kostí pánevních (*ossa pelvis*). První, kdo popsal morfologické změny na sponě stydké, byl Todd (1920). Následně se objevila celá řada metod, užívajících hodnocení věkových změn na pubické symfýze, nejčastěji (až dodnes) využívaná metoda, tzv. Suchey-Brooks (1990), podle stejnojmenných autorů.

Změny, které pozorujeme na pubické symfýze, jsou reliéf povrchu, ventrální okraj, definice celého okraje a lemování okrajů. V mladém věku je povrch symfýzy zvlněný a nejsou zde zřetelné hranice dvou vrcholů. S postupujícím věkem se povrch vyrovnává a začíná být zjevný vnější okraj symfýzy. S rostoucím věkem se navíc povrch zcela vyhlazuje a symfýza se začíná prohlubovat (Brooks et al. 1990). Výše popsané morfologické změny lze vidět na Obrázku č. 4.

Metoda Suchey-Brooks (1990) je hojně využívána jak v bioarcheologii, tak forenzní antropologii. Nicméně i tato metoda má jistá omezení, a to například nepřesně vymezené hranice mezi po sobě jdoucími (úzkými) fázemi. Tato metoda byla navržena pro evolučně mladou populaci, a proto ji nelze dobře aplikovat na populace minulé. Také bylo zjištěno, že tuto metodu lze aplikovat pouze na jedince do čtyřiceti let, neboť měnící se markery se diferencují do 35. roku života a další změny, které poté nastávají, jsou spíše degenerativního rázu (Buk et al. 2012; Baccino et al. 2014). Pubická symfýza je navíc často silně poškozená vlivem tafonomických faktorů a v kosterních souborech se příliš nezachovává (Nikita 2017).



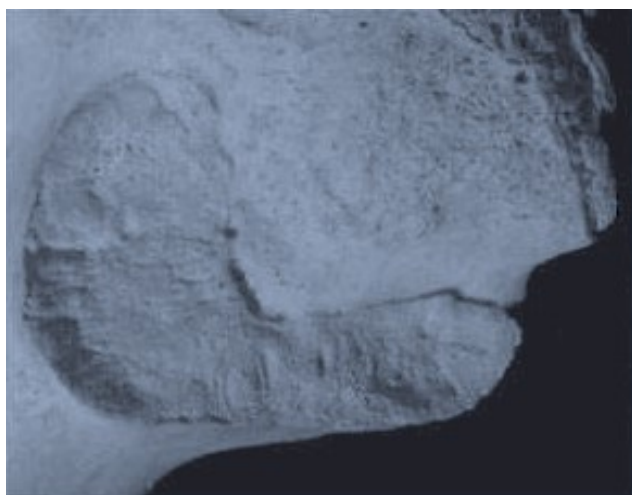


Obr. č. 4: Porovnání morfologických změn pubické symfýzy s rostoucím věkem.  
 Fáze A – pravidelné brázdy, B – nepravidelné mělké brázdy, jemně porózní povrch,  
 C – absence brázd, eroze povrchu. Převzato z (Fleischman 2013).

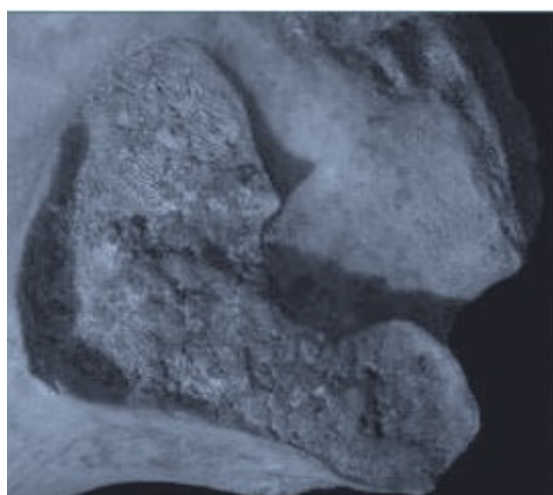
#### 2.2.4 Facies auricularis pánevní kosti

Sakroiliakální kloub je spojení mezi kostí křížovou a kostí pánevní. Je klíčovým nosným kloubem, kde je přenášena hmotnost mezi horním a dolním kvadrantem těla (Langley et al. 2017). Podobně jako u pubické symfýzy i aurikulární povrch kosti pánevní vykazuje remodelaci s postupujícím věkem. Pozorovatelné morfologické změny se týkají celkového vzhledu povrchu aurikulární oblasti, aktivity apexu a změn v retroaurikulární oblasti. S postupujícím věkem původně hladký povrch přechází z jemné granulace k hrubé, ztrácí povrchovou strukturu, transverzální uspořádání a zvyšuje se pórovitost od mikroporozity k následné makroporozitě. Apex je z počátku ostrý a jasně ohraničený, později se ztlušťuje a zřetelné ohraničení mizí. V retroaurikulární oblasti dochází k nárůstu kostních spikul a s postupujícím věkem se tvoří zřetelný vyvýšený val okolo celé aurikulární oblasti (Lovejoy et al. 1985; Osborne et al. 2004). Změny lze vidět na Obrázku č. 5.

A



B



Obr. č. 5: Morfologické změny aurikulární oblasti. Mladý dospělý jedinec – hladký povrch (A), starý dospělý jedinec – makroporozita, hrubá granulace (B). Převzato z (Garvin et al. 2012).

První, kdo popsali morfologické změny aurikulární oblasti pro odhad věku, byli Lovejoy a kolektiv (1985), kteří zaznamenali vysokou korelaci mezi indikátory skeletálního věku a morfologickými změnami aurikulární oblasti. Tyto změny rozdělili do osmi fází s pětiletými rozdíly. Tato metoda byla diskutována z hlediska závislosti na pohlaví a na populační závislosti (Black et al. 2011). Poté došlo k několika revizím a zjednodušení této metody (Bedford et al. 1993; Buckberry et al. 2002; Osborne et al. 2004; Mulhern et al. 2005; Hens et al. 2008). Bylo prokázáno, že aurikulární oblast jako indikátor věku v době úmrtí lze aplikovat na obě pohlaví a je nezávislý na etnickém původu jedince. Lze ji také použít na populace recentní i historické (Osborne et al. 2004; Mulhern et al. 2005; Igarashi et al. 2005; İşcan et al. 2013).

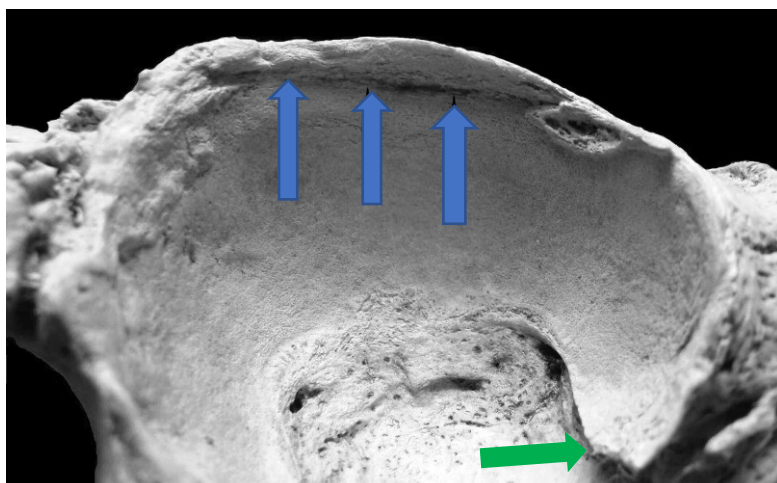
V dnešní době je hojně využívána modifikace původní metody Lovejoy et al. (1985), kterou navrhli Buckberry a Chamberlain (2002). Jedná se o komponentní hodnocení, kdy je určitý věkový indikátor rozdělen na několik komponent, které jsou hodnoceny samostatně. Poté je vytvořeno komponentní skóre. Sleduje celkem 5 znaků – transverzální organizace, textura povrchu, mikroporozita, makroporozita a apikální změny (Buckberry et al. 2002). Hlavní inovací je zapojení tzv. posteriorní pravděpodobnosti, která na rozdíl od původní metody, jenž převádí stádia přímo na kalendářní věk, uvažuje s pravděpodobností, s jakou jedinec patří do té či které věkové kategorie. Jednotlivé znaky jsou nově hodnoceny samostatně, zatímco v případě původní metody byly vždy hodnoceny hromadně, v rámci popisu odpovídajícímu

věkovému intervalu. Z důvodu příliš úzkých věkových hranic jednotlivých fází (Lovejoy) nebo naopak příliš širokých hranic (Buckberry a Chamberlain) a také těžko identifikovatelných morfologických změn se stále debatuje o spolehlivosti a přesnosti této metody (Langley et al. 2017).

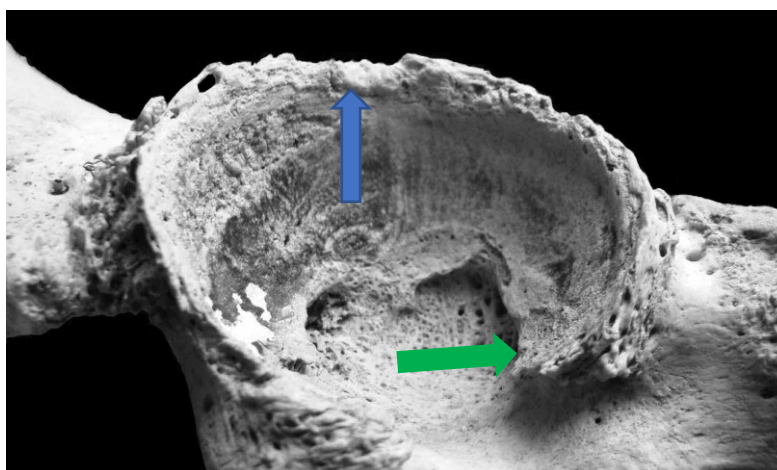
#### 2.2.5 Acetabulum

V poslední době je jako spolehlivý ukazatel věku pozorováno acetabulum na pánevní kosti. Rissech a kol. (2006) identifikovali sedm morfologických znaků, které úzce korelují s věkem. Mezi tyto znaky patří – acetabulární žlábek, tvar acetabulárního okraje a jeho porozita, aktivita apexu, aktivita vnějšího okraje acetabulární jamky, aktivita a porozita jamky. Pozorovatelné morfologické změny lze vidět na Obrázku číslo 6. Rissech a kol. (2006) provedli validační studii na dokumentovaných sbírkách a ve svých výsledcích dosáhli míry přesnosti kolem 83 % (Rissech et al. 2006). Ukázalo se, že přesnost této metody je ovlivněna geografickou vzdáleností zkoumané populace a tím pádem by měla být zvolená referenční populace geograficky blízká zkušebnímu vzorku, aby byla metoda přesná (İşcan et al. 2013). Calce a Rogers (2012) navrhli revidovanou metodu, která používá pouze tři proměnné – acetabulární žlábek, porozitu acetabulárního žlábků a aktivitu apexu a rozděluje jedince do tří širokých věkových rozsahů – mladí (17-39), střední (40-64) a staří (65+) dospělí. Jejich metoda uvádí 81% úspěšnost v odhadu věku (Calce 2012). San-Millán a kol. (2017) měli ve své metodě za cíl lépe definovat proměnné znaky na acetabulární jamce a rozšířit použitelnost na obě pohlaví. Sledovali znaky – acetabulární žlábek, tvar acetabulárního okraje a jeho porozitu a aktivitu apexu. Dále zavedli další tři znaky – aktivita vnějšího okraje jamky, textura a denzita kosti v jamce a aktivita v acetabulární jamce. Ukázalo se, že u obou pohlaví dochází během života ke stejným morfologickým změnám, ale u obou pohlaví procesy probíhají rozdílně, obzvláště ve středních letech. Konkrétně ženy vykazují pomalejší rychlost stárnutí než muži. Tato metoda tedy doporučuje analyzovat obě pohlaví samostatně kvůli rozdílům v míře stárnutí (San-Millán et al. 2017).

A



B



Obr. č. 6: Morfologické změny acetabulární jamky s postupujícím věkem. Modré šipky znázorňují změny acetabulární drážky, zelená šipka ukazuje na změny apexu. A – mladý dospělý jedinec, B – starší dospělý jedinec. Převzato z (İşcan et al. 2013).

Z výše popsaných jednotlivých kosterních indikátorů lze vyvodit, že využitelnost těchto indikátorů se liší u různých věkových kategorií. Pro věkovou skupinu do 30 let i pro věkovou skupinu 30 – 60 let jsou vhodnými indikátory pro odhad věku - sternální konce žeber (İşcan et al. 1985), facies auricularis pánevní kosti (Lovejoy et al. 1985, Buckberry et al. 2002), symfýza (Todd 1920, McKern et al. 1957) a acetabulum (Rougé-Maillart 2009, Calce 2012). Pro skupinu 60+ je nejvhodnější acetabulum (Calce 2012) a facies auricularis (Lovejoy et al. 1985, Buckberry et al. 2002).

V Tabulce č. 1 jsou shrnuty výhody a nevýhody jednotlivých kosterních indikátorů.

Tab. č. 1: Souhrn výhod a nevýhod kosterních indikátorů.

	VÝHODY	NEVÝHODY
LEBEČNÍ ŠVY	<ul style="list-style-type: none"> <li>• zachovalost lebky</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• populační specifita (Ruengdit et al. 2018)</li> <li>• slabá korelace s chronologickým věkem (Brooks et al. 1955)</li> <li>• využití do 50 let (Meindl et al. 1985)</li> </ul>
STERNÁLNÍ KONCE ŽEBER	<ul style="list-style-type: none"> <li>• pohlavně i etnicky specifická (King 1939; Ontonell et al. 1997; İşcan et al. 2013)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• velmi špatná zachovalost</li> </ul>
SPONA STYDKÁ	<ul style="list-style-type: none"> <li>• úzká korelace s chronologickým věkem (Black et al. 2011)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• nelze dobře aplikovat na minulé populace</li> <li>• nepřesně vymezené hranice fází</li> <li>• aplikace do 40 let (Baccino et al. 2014)</li> </ul>
FACIES AURICULARIS	<ul style="list-style-type: none"> <li>• aplikace na obě pohlaví</li> <li>• nezávislost etnické skupiny</li> <li>• populace recentní i minulé (Osborne et al. 2004; Mulhern et al. 2005; İşcan et al. 2013)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• příliš úzké nebo naopak široké věkové hranice (Lovejoy 1985; Buckberry et al. 2002)</li> <li>• těžko identifikovatelné morfologické změny (Langley et al. 2017)</li> </ul>
ACETABULUM	<ul style="list-style-type: none"> <li>• úzká korelace s chronologickým věkem (Rissech et al. 2006)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• nutná geograficky blízká populace (İşcan et al. 2013)</li> <li>• aplikace na ženy a muže zvláště (San-Millán et al. 2017)</li> </ul>

### 2.2.6 Dentice

Dentice nabízí v bioarcheologii i forenzní antropologii velký potenciál v odhadu věku díky své dobré zachovalosti. Existuje řada metod – morfologické (makroskopické) a mikroskopické (histologické), které lze aplikovat jednotlivě i v rámci komplexní metodiky (např. Gustafson 1950) a biochemické (např. racemizace kys. asparagové).

Při morfologických metodách jsou sledovány změny dentice spojené s věkem - například stupeň opotřebení okluzních ploch, tvorba sekundárního dentinu anebo postupné zužování dřevné dutiny zubu (Kvaal et al. 1995).

Mezi nejznámější studie hodnotící morfologické a mikroskopické znaky dentice patří metoda podle Gustafsona (1950). Mezi sledované indikátory, spojené s věkem, v této studii patří atrice, periodontální recese, formace sekundárního dentinu, apozice cementu, resorpce kořene a průsvitnost (transparence) kořene. Každý znak je hodnocen skóre od 0 do 3. Jednotlivé hodnoty skóre jsou poté sečteny a výsledná hodnota je znázorněna formou grafu lineární regrese (Gustafson 1950). V revidované metodě, která byla provedena Kashyapem a kolektivem (1990), byla vyřazena periodontální recese jako sledovaný znak, neboť nevykazuje lineární vztah s chronologickým věkem. Tato revidovaná metoda byla provedena na souboru zubů o velikosti 25 vzorků a ve výsledku byla dosažena chyba odhadu věku 1,59 roků. To znamenalo zlepšení metody, neboť chyba odhadu věku Gustafsonovy metody je 3,63 roků (Kashyap et al. 1990). Další velmi významnou revizi této metody provedl Lamendin (1992). Lamendin snížil počet pozorovaných znaků na pouhé dva – průsvitnost kořene a periodontální recesi. To činí jeho metodu snadněji aplikovatelnou, neboť nevyžaduje histologické zpracování zubu, ale nedoporučuje se u jedinců mladších 40 let (Lamendin et al. 1992). Metody odhadu věku využívající morfologické a mikroskopické změny tvrdé zubní tkáně byly považovány za jednu z nejspolehlivějších metod. I přesto podléhaly řadě kritik, zejména při aplikaci na minulých populacích (Brůžek et al. 1999; Kilian et al. 1984). Výhodou je, že tyto metody zohledňují faktory, které mohou ovlivnit stav jednotlivých znaků během života (Gustafson 1950). Naopak nevýhodou je, že každému znaku je dána stejná důležitost a také nutná extrakce zubu a zhotovení longitudinálního řezu, což činí zub nepoužitelný pro další zkoumání (Solheim et al. 2006).

Při stálém hledání přesnějších metod se v posledních letech dostávají do popředí také biochemické metody, například ty, které zkoumají racemizaci kyseliny asparagové. Bylo zjištěno, že existuje vysoká korelace mezi racemizací ve sklovině a skutečným věkem jedince a že kyselina asparagová má nejvyšší reakční rychlost ze všech aminokyselin (Ohtani et al. 2010). Racemizace je proces, při kterém se čistá, opticky aktivní látka, v tomto případě kyselina asparagová, mění na směs několika enantiomerů. Hlavním bodem této metody je výpočet rychlosti racemizace (Lehninger et al. 2013). Ačkoliv se tato metoda vyznačuje vysokou korelací mezi odhadovaným a chronologickým věkem ( $r = 0.921$ ), objevuje se zde řada důležitých problémů, které činí tuto metodu velmi řídky využívanou.

Mezi hlavní nevýhody patří fakt, že je potřeba několik kontrolních zubů známého věku. Dále je velmi obtížné oddělit pouze dentin od zbytku zubů pro další zpracování (Ohtani et al. 2010).

Při srovnání výše zmíněných metod vychází, že metody založené na morfologii jsou méně přesné a spolehlivé. Poskytují široké věkové intervaly a často dochází k nadhodnocování mladých jedinců a naopak podhodnocování starších jedinců (Milner et al. 2018). Na druhou stranu jsou morfologické metody finančně a časově poměrně málo nákladné a jsou dostupné (Ritz-Timme et al. 2000). Pokud chceme získat přesnější výsledky, je potřeba zvolit jiné metody za cenu větší náročnosti provedení a vyšších nákladů – např. biochemické, histomorfometrické metody. Histomorfometrické metody jsou velice užitečné v případě roztržštěných pozůstatků, kdy jsou jednotlivé části kostry nekompletní a jednotlivé fragmenty jsou izolovány.

Speciální metodou využívanou pro odhad věku je metoda cementochronologie. Tato metoda zkoumá apozici cementových vrstev zubního kořene, která vykazuje lineární vztah s chronologickým věkem a je použitelná pro jedince všech věkových skupin (Ritz-Timme et al. 2000). Tato metoda pracuje s kontinuálně rostoucí tkání, a proto nejsou potřeba další referenční populace. Na rozdíl od kosti, kde po celý život dochází k přestavbám kostní tkáně, vrstvy zubního cementu pouze přirůstají a nepodléhají žádným přestavbám (Naji et al. 2016). Chyba této metody je  $\pm 2-6$  let, což je stále lepší výsledek, než přesnost tradičních morfologických metod (Grosskopf et al. 2011). Jejím bližšímu popisu a využití budou věnovány následující kapitoly.

### 3 Cementochronologie

Cementochronologie je metoda, která hodnotí věkové změny v nebuněčném zubním cementu. Zubní cement je nestejně mineralizovaná pojivová tkáň, která je u plně tvarovaného a fungujícího zubu pevně připojena k vrstvě dentinu a pokrývá celý povrch kořene (Bosshardt et al. 1997) – lze vidět na Obrázku č. 7. Z funkčního hlediska náleží vlastnímu zubu i *periodontiu* (ozubice), což je tkáň sloužící pro spojení zubu a alveolárního lůžka. *Periodontium* vyplňuje prostor mezi kořenem zubu a kostí (Cho et al. 2000). Kolagenní vlákna, která vstupují z *periodontia* do cementové vrstvy, se nazývají Sharpeyova vlákna. (Berkovitz et al. 2009).

Světelná a elektronová mikroskopie umožňuje rozeznávat jednotlivé typy cementu na základě přítomnosti či absence buněk anebo podle zdroje kolagenových vláken. Tato tkáň je charakteristická tím, že je avaskulární, není inervovaná a nepodléhá remodelacím. Tím se cement odlišuje od kostní tkáně (Saygin et al. 2000).

Na základě přítomnosti či absence buněčných elementů jsou rozlišovány dva základní druhy zubního cementu. Jsou jimi primární, označovaný jako acelulární (nebuněčný) a sekundární neboli celulární (buněčný) cement (Bosshardt et al 1997; Salmon et al. 2016).

Acelulární cement se vyznačuje pomalým, pravidelným a trvalým nárůstem vrstev během roku. Rychlost nárůstu je odhadována na 2–3  $\mu\text{m}/\text{rok}$ . Oproti tomu sekundární cement je charakteristický periodickými, nepravidelnými a rychlými nárůsty. Proto je pro cementochronologii vhodnější, již zmíněný, nebuněčný cement (Schroeder 1993).



Obr. č. 7 – Ilustrovaná schématická stavba zubu, popisující jeho jednotlivé části. Šipkou jsou označeny čtyři struktury, které jsou popsány v textu výše. Převzato z URL1.

Periodické změny struktur v zubních tkáních byly pro odhad věku a sezónního období pozorovány několik desítek let nejprve u savců, především kopytníků (Lieberman et al. 1992; Mitchell 1967). Na konci 19. století Magitot (1878) poukázal na korelaci mezi tloušťkou cementové vrstvy a věkem u člověka (Magitot 1878).



Toto tvrzení bylo později potvrzeno i dalšími autory (Kronfeld 1938; Gottlieb 1943). K potvrzení korelace mezi počtem vrstev cementu a věkem jedince došlo až na počátku 80. let 20. století. Přesnost využívání cementových vrstev pro odhad věku byla testována na množství vzorků jedinců známého věku z muzejních sbírek a zubních ordinací (Avadhani et al. 2009; Grosskopf 1990; Charles et al. 1986). Od první validační studie (Stott 1982) bylo vydáno množství protokolů, zahrnujících různé způsoby přípravy vzorků (Colard et al. 2016; Huffman et al. 2018; Wittwer-Backofen 2012).

Při použití světelného mikroskopu se vrstva specifického acelulárního cementu jeví jako střídající se tmavé a světlé proužky obklopující kořen zubu. Toto uspořádání by se dalo připodobnit letokruhům ve kmeni stromu. Pruhování začíná na hranici dentin-cement a pokračuje směrem k vnějšímu povrchu zubu (Wedel 2007). Jedna dvojice pruhů, tedy jeden světlý a jeden tmavý pruh, odpovídá jednomu kalendářnímu roku (Naji et al. 2016; Wittwer-Backofen et al. 2004). Odhad věku se pak vypočítá jako počet těchto dvojic, ke kterému se dále připočítá průměrný věk dokončení mineralizace zubního kořene, ze kterého jsou zhotoveny histologické řezy (Colard et al. 2016).

Ekologické studie mořské i suchozemské fauny předpokládají, že tyto dva typy linií se vytvářejí na základě rozdílné mineralizace závislé na periodických sezónních podmínkách (Colard et al. 2016; Dean et al. 2018; Grosskopf et al. 2011; Stock et al. 2017).

Při použití světelného mikroskopu se tmavé proužky jeví jako hypermineralizované, což způsobuje snížená aktivita cementoblastů v období pozdního podzimu, zimy a brzkého jara. Naopak světlé linie jsou důsledkem hypomineralizace v období jara a léta, kdy je aktivita cementoblastů vysoká (Colard et al. 2016). Tmavé proužky jsou zpravidla tenčí z důvodu snížení aktivity cementoblastů a světlé naopak širší díky jejich vyšší aktivitě (Lieberman 1994). Příčina výše uvedené sezónní aktivity cementoblastů není dosud známá a názorů na etiologii cementových přírůstků je velké množství. S touto skutečností by mohly souviset například vnitřní biorytmy člověka, změna ve složení stravy anebo jiné fyziologické aspekty jedince, jako například zdravotní stav (Lieberman 1994). Mohou to také ovlivnit například biomechanické faktory anebo změny sezónních ekologických podmínek (teplota, ultrafialové záření). Společně s tím by mohla souviset změna aktivity příštítných tělísek a hladiny vitamínu D, které společně regulují hladinu vápníku v krvi (Kagerer et al. 2002; Stott et al. 1982). Vitamín D je tvořen v kůži působením tzv. UVB zářením, které ale neprochází přes oblačnou oblohu. Množství vytvořeného vitamínu D tedy závisí na míře oblačnosti a také na geografické poloze (Lips 2006), protože množství dopadajícího záření na zemský povrch se

mění se zeměpisnou šířkou (URL2). Tím by se dala vysvětlit intenzita mineralizace v závislosti na ročních obdobích a geografické poloze.

### 3.1 Sezonalita

Na základě charakteru cementové vrstvy lze také odhadnout sezónní období. Tomu v době úmrtí odpovídá charakter nejvzdálenějšího cementového přírůstku od dřevové dutiny (Lieberman 1993, 1994). Wedel (2007) ukázala, na základě testování 112 lidských zubů, darovaných zubní ordinací, že při hodnocení poslední přírůstkové linie zubu lze tyto linie rozdělit do dvou skupin – jarní/letní a podzimní/zimní. Tedy že zuby extrahované v období říjen – březen vykazují tmavou poslední přírůstkovou linii a zuby extrahované v období duben – září naopak světlou linii (Wedel 2007). Ralston (2016) provedla studii, hodnotící celkem 143 zubů z kanadské populace. Soubor vzorků obsahoval zuby získané ze zubních ordinací a také zuby ze sbírek zemřelých jedinců. U těchto vzorků bylo známo datum narození, datum extrakce zubu, pohlaví a věk. Ralston tvrdí, že zeměpisná poloha, věk, pohlaví ani typ zubu neovlivňují přesnost metody, avšak výsledky naznačují, že diagenetické změny působící na zubní cement mohou mít vliv na přesnost. Záleží tedy na původu zubu, jestli se jedná o zub recentní nebo archeologický (Ralston 2016). Bohužel existuje pouze málo studií, které by testovaly tuto metodu na jedincích, u kterých došlo k pohřbení a rozkladu ve venkovních podmínkách (Meckel 2016).

Spolehlivost využití cementových přírůstkových linií k odhadu sezónního období by mohla být omezena nedostatkem standardizovaných postupů pro přípravu potřebných histologických řezů a subjektivním zkreslením při hodnocení poslední přírůstkové linie. Bylo konstatováno, že pokud lze provést odhad věku na základě cementových přírůstků, pak lze uvažovat o platnosti této metody i pro odhad sezonality (Meckel 2016; Ralston 2016).

## 4 Cíle a hypotézy

### 4.1 Cíle

- Mezi hlavní cíle této práce patří zjistit vhodnost metody cementochronologie pro odhad věku dožití jedinců české a malajské populace.
- Dalším stěžejním cílem je užít metodu cementochronologii pro odhad sezonality v souboru české populace.
- Posledním našim úkolem je porovnat výsledky odhadu věku metodou cementochronologie u obou souborů jedinců žijících v různých klimatických pásmech a diskutovat výsledky odhadu sezonality.

### 4.2 Hypotézy

- Předpokládáme, že data odhadu věku, která budou odečtena z přírůstkových linií jedinců obou populací, budou odpovídat příslušným hodnotám ze záznamů, které máme k dispozici. Očekáváme tedy vysokou korelaci mezi skutečným a odhadnutým věkem metodou cementochronologie.
- Druhým našim předpokladem je, že na základě pozorování posledních přírůstkových linií cementové vrstvy bude možné rozlišit dvě roční sezóny a že výsledné hodnoty odhadu sezonality budou odpovídat hodnotám ze záznamů.
- Při porovnávání námi dosažených výsledků očekáváme, že přírůstkové linie indikující věk bez závislosti na klimaticky odlišném prostředí se nebudou u obou zkoumaných populací nijak výrazně odlišovat.

## 5 Materiál a metoda

### 5.1 Materiál

Pro účel osvojení a zvládnutí metody cementochronologie byly použity zuby z archeologického materiálu, které poskytla Laboratoř antropologie Archeologického ústavu AV ČR v Praze. Soubor obsahoval celkem deset zubů, které byly využity jako testovací soubor pro přípravu materiálu, práci s pilou s diamantovým kotoučem i samotné zpracování histologických řezů. K nácvičku metody byly zvoleny zuby jedno-kořenové a širokého věkového rozpětí pro lepší pokrytí variability věkových změn. S tímto materiálem již dále nebylo pracováno. Odhad věku a sezonality byl nacvičen na předem zhotovených histologických preparátech vzorků zvířecích zubů, které pro účel této diplomové práce poskytla opět Laboratoř antropologie Archeologického ústavu AV ČR v Praze. Zvířecí zuby byly použity z důvodu nízkého počtu cementových linií a relativně snadné aplikace odhadu věku i sezonality.

Pro účely samotného zkoumání byly využity dva soubory lidských zubů, pocházející z geograficky odlišných populací. Jedná se o populaci českou, žijící v mírném pásu severní polokoule a malajskou, žijící v tropickém pásu jižní polokoule. Obě tyto skupiny se liší nejen podnebím, které převládá v dané oblasti, ale hlavně rozdílem v charakteru a počtu sezón. Jelikož pracujeme s lidským materiálem a zpracováváme data týkající se lidských probandů, museli jsme získat povolení etické komise, které bylo předloženo pracovníkům dentálních ordinací, kteří nám poskytli materiál pro analýzu. Souhlas jsme získali od etické komise Přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy.

**Soubor zubů české populace** obsahuje celkem 21 zubů a z každého zubu je zhotoveno 5 histologických preparátů, které slouží k finální analýze. Soubor těchto vzorků byl shromážděn zubní ordinací Motolské nemocnice v Praze a údaje byly anonymní.

Cementochronologie pracuje s jednokořenovými zuby, tedy jsme použili maxilární a mandibulární řezáky, špičáky a první premoláry. Doporučovány jsou nejčastěji špičáky, a to z důvodu méně častého postižení patologiemi a také jsou tyto zuby lépe polohovatelné pro řezy (Cunha et al. 2017). U každého zubu je známo datum narození a pohlaví donora, datum extrakce konkrétního zubu a typ zubu. Souhrn vzorků české populace je uveden v Tabulce 2.

Tabulka č. 2: Seznam vzorků české populace

číslo vzorku	datum narození	datum extrakce	stáří donora (roky)	stáří zubu (roky)	pohlaví	typ zubu
RC1	01.09.1957	11.06.2019	62	54,5	F	12
RC2	01.09.1957	11.06.2019	62	55,5	F	21
RC3	01.09.1957	11.06.2019	62	55,5	F	11
RC4	28.05.2007	16.07.2019	12	0,5	M	25
RC5	28.05.2007	16.07.2019	12	1,5	M	14
RC6	14.09.1957	16.07.2019	62	55,5	M	42
RC7	01.02.1972	18.07.2019	47	36,5	F	34
RC8	01.11.2007	23.08.2019	12	1,5	F	24
RC9	01.11.2007	23.08.2019	12	1,5	F	14
RC10	17.09.1946	25.10.2019	73	66,5	F	32
RC11	13.04.1959	31.10.2019	60	57,5	F	35
RC12	21.05.1975	21.01.2020	45	33,5	F	15
RC13	23.03.2006	21.02.2020	14	4,5	F	33
RC14	23.03.2006	21.02.2020	14	3,5	F	24
RC15	02.02.1949	22.05.2020	71	60,5	F	24
RC16	02.02.1949	22.05.2020	71	59,5	F	23
RC17	02.02.1949	22.05.2020	71	59,5	F	13
RC18	14.06.1961	11.06.2020	59	48,5	M	24
RC19	14.06.1961	11.06.2020	59	48,5	M	25
RC20	10.04.1947	11.06.2020	73	67,5	M	31
RC21	10.04.1947	11.06.2020	73	67,5	M	41

*[Značení typu zubu je v této diplomové práci podle tzv. Two-digit systému. Jedná se o jednotný systém značení zubů, který byl v roce 1970 zaveden Mezinárodní stomatologickou federací.*

*První číslo udává kvadrant čelisti (1-4) a druhé číslo zubu. V rámci diplomové práce se jedná pouze o zuby trvalé dentice.*

Soubor české populace zahrnuje jedince věkového rozpětí 12 – 73 let.

Z praktických důvodů byli jedinci zařazeni do tří věkových skupin: první věková skupina zahrnující jedince do 30ti let obsahuje celkem šest vzorků, ve skupině 30 – 60 let jsou to čtyři vzorky a poslední skupina jedinců >60 zahrnuje celkem jedenáct vzorků. Soubor 21 zubů od celkem 12 jedinců české populace bude využit pro odhad věku i sezonality.

**Soubor vzorků malajské populace** byl získán ve spolupráci s profesorem Phrabhakaranem Nambiarem z univerzity Mahsa University College v Malajsii.

Původně jsme získali 11 zubů. Jednotlivé zuby, které byly použity pro analýzu, jsou opět převážně řezáky, špičáky a první premoláry. U každého zubu je opět známo datum narození a pohlaví donora, datum extrakce konkrétního zubu a typ. Souhrn vzorků malajské populace a rozptyl stáří jednotlivých vzorků jsou uvedeny v Tabulce č. 3.

Tabulka č. 3: Seznam vzorků malajské populace

číslo vzorku	datum narození	datum extrakce	stáří donora (roky)	stáří zubu (roky)	pohlaví	typ zubu
MA1	23.11.1985	12.04.2019	34	26,5	M	12
MA2	23.11.1952	12.04.2019	67	55,5	M	13
MA3	23.11.1952	12.04.2019	67	59,5	M	22
MA4	08.10.2000	02.05.2019	19	7,5	F	23
MA5	30.06.1996	15.07.2019	23	16,5	F	21
MA6	23.11.1952	12.04.2019	67	61,5	M	31
MA7	23.11.1952	12.04.2019	67	60,5	M	32
MA8	23.11.1952	12.04.2019	67	61,5	M	41
MA9	23.11.1952	12.04.2019	67	60,5	M	42
MA10	23.11.1952	12.04.2019	67	57,5	M	43
MA11	10.07.2001	25.04.2019	18	6,5	F	45

Soubor malajské populace zahrnuje jedince ve věkovém rozpětí 18 – 67 let.

I v tomto případě byli jedinci rozděleni do tří věkových skupin. Věková kategorie jedinců do 30 let obsahuje celkem tři vzorky tohoto souboru, kategorie 30 – 60 let obsahuje pouze jeden vzorek a poslední >60 let zahrnuje celkem sedm vzorků.

Soubor 11 zubů od 4 jedinců bude využit pouze pro odhad věku. Na vzorky tohoto souboru není účelné aplikovat odhad sezonality, neboť zuby jedinců malajské populace byly extrahovány až na výjimky v průběhu měsíce dubna a chybí tak vzorky extrahované v zimních měsících pro porovnání charakteru poslední přírůstkové linie.

## 5.2 Metoda

### 5.2.1 Příprava histologických preparátů

V rámci této diplomové práce byl jako vzor pro přípravu a zpracování vzorků použit protokol, který byl na počátku iniciován Stottem a kolegy (1982). Následně byl tento postup upraven a testován ve Francii (Blondiaux et al. 2006; Colard et al. 2016) a úspěšně validován v nezávislých francouzských laboratořích, např. Douai, Lille, Paris, Caen nebo Marseille (Stott et al. 1982; Najj et al. 2016; Colard et al. 2015). V roce 2013 byl tento protokol pro pracovní postup certifikován podle mezinárodní normy ISO 9001 (Colard et al. 2015).

Cementochronologie je metoda destruktivní, neboť během zpracovávání vzorků dochází k destrukci střední třetiny kořene. Korunka však zůstává nepoškozená a je možné ji využít pro další analýzy.

#### Příprava vzorku

Před samotným řezáním a zhotovováním histologických řezů je nejprve potřeba si vzorky připravit. Každý zub je nutné řádně označit, vyčistit a vysušit. Pro čištění byl používán slabý roztok peroxidu vodíku, ve kterém byly zuby namáčeny několik dní pro vyčištění pozůstatků měkkých tkání a nečistot. Jednotlivé vzorky byly poté sušeny samovolně několik dní na filtračních papírech v laboratoři. Po dokončení této přípravné fáze byly vzorky připraveny pro samotnou fixaci a řezání.

Jako fixační látka byla používána epoxidová pryskyřice, u které probíhá proces polymerizace. Ta probíhá při pokojové teplotě přibližně 12–15 hodin až několik dní. Poté už byl vzorek připraven na samotné řezání.

#### Zhotovení řezů

Pro samotné řezání byla použita přesná pila s diamantovým kotoučem (Buehler, IsoMet 1000), která zajišťuje velmi tenké řezy. Korunka a svrchní třetina zubu byly odstraněny a řezy byly tvořeny ze střední třetiny kořene zubu. Celkem bylo zhotoveno 5 histologických řezů z každého zubu. Řezy bylo potřeba řezat nízkou rychlostí, aby bylo dosaženo optimální šířky a aby se dále se vzorkem nemuselo manipulovat. Šířka jednotlivých řezů je 100  $\mu\text{m}$ .

Po zhotovení řezů následovala příprava histologických preparátů. Na sklíčkách jsou jednotlivé řezy připevněny epoxidovým lepidlem, které slouží k upevnování vzorků mezi podložním a krycím sklem. Zhotovené histologické preparáty byly následně na dobu několik desítek minut vystaveny tlaku, aby došlo k vytlačení nadbytečných vzduchových bublin ze vzorku během zasychání pryskyřice. Po zatvrdnutí lepidla následovala mikroskopická analýza.

### Počítání linií cementu

Mikroskopická analýza byla prováděna na polarizačním mikroskopu (Olympus Bx-51), přičemž byl každý preparát několikrát pozorován (se zvětšením 100x – 400x) a následně vyfotografován pomocí kamery (Olympus DP-71). Fotografie byly následně zpracovány v grafickém programu Fiji, který umožňuje úpravy zhotovených snímků (zaostřování, změna jasu apod.). Upravené snímky sloužily jako materiál pro odhad věku a sezonality.

#### 5.2.2 Odhad věku metodou cementochronologie

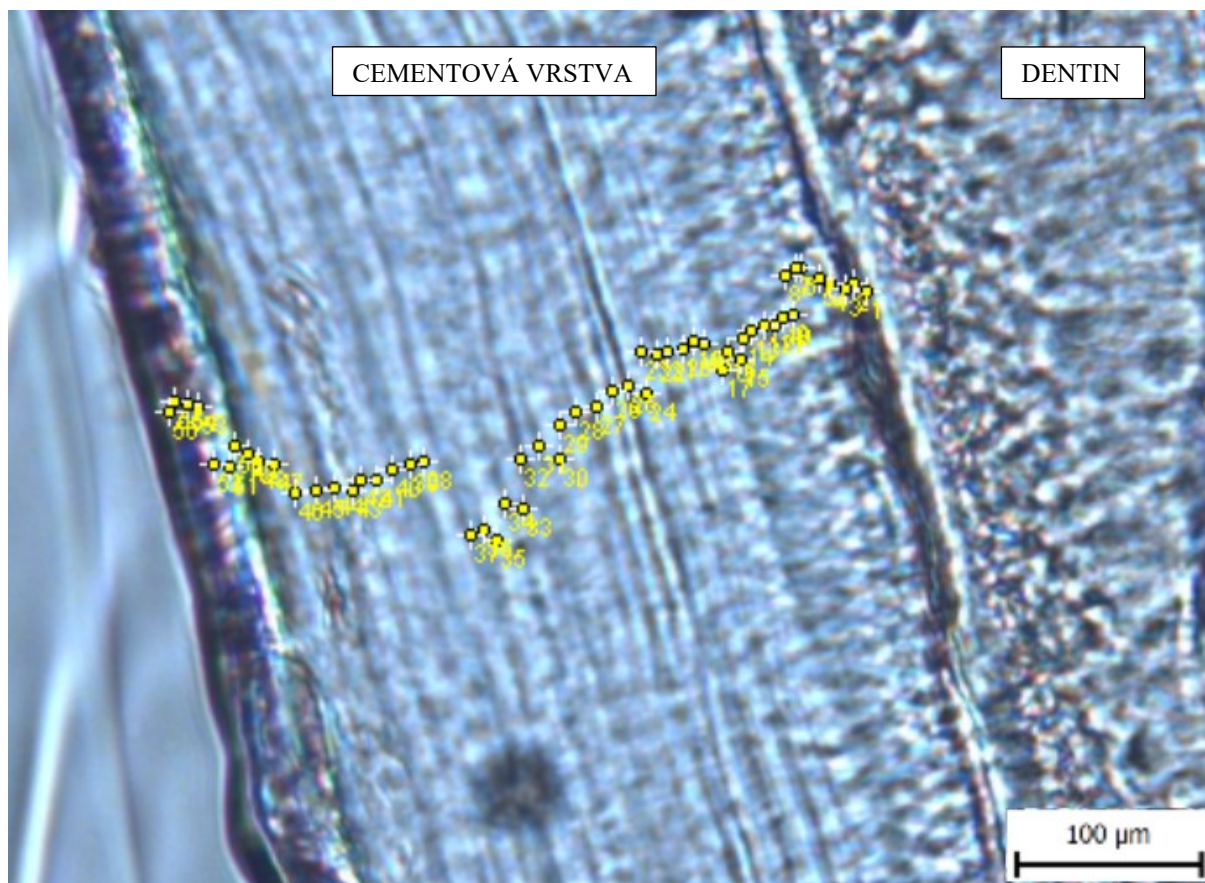
Při zkoumání histologických preparátů byl nejprve hodnocen řez jako celek. Hledali jsme oblast cementové vrstvy, která byla pro analýzu nejvhodnější. Tedy takovou, kde nebylo přítomno žádné mechanické poškození nebo tafonomické projevy.

Jednotlivé oblasti kořenového cementu se v mikroskopu při různém zaostření mohou jevit odlišně. Je to z toho důvodu, že cementové vrstvy nejsou řezány zcela kolmo k podélné ose zubu, neboť se sbíhají ke kořenové špičce. Proto je důležité pracovat se zaostřením mikroskopu tak, aby co nejlépe zachycoval celý rozsah cementové vrstvy (Wittwer-Backofen 2012). Tento postup byl prvotním krokem u všech zhotovených histologických preparátů. Při samotné analýze byla nejprve identifikována dentino-cementovou hranice a první cementová vrstva, od které začínalo počítání jednotlivých cementových přírůstků. Počítání bylo prováděno na základě tmavých linií směrem od dentino-cementové hranice až k vnějšímu okraji zubu. Počítání probíhalo manuálně a každá tmavá linie byla označena značkou s číslem pro lepší přehled a pozdější možnost využití výsledku. Příklad vyfotografovaného snímku cementové vrstvy s označenými tmavými liniemi lze vidět na Obrázku číslo 8.

Tento postup byl proveden na všech pěti histologických preparátech jednoho zubu a z těchto dílčích výsledných měření byl vypočten průměrný počet linií, ke kterému byl následně připočten věk mineralizace zubního kořene konkrétního zubu (AlQahtani et al. 2010).

Tímto jsme získali odhadovaný věk daného jedince, který jsme následně porovnali s věkem chronologickým, který jsme měli k dispozici ze záznamů. Abychom ověřili velikost odchylky počtu linií jednotlivých řezů od jejich společného průměru, vypočítali jsme u každého vzorku směrodatnou odchylku.





Obr. č. 8: Cementová vrstva s označenými přírůstkovými liniemi.  
 (Vzorek RC6 – pravý druhý řezák, spodní čelist, datum extrakce: 16. 7. 2019, muž ve věku 62 let).

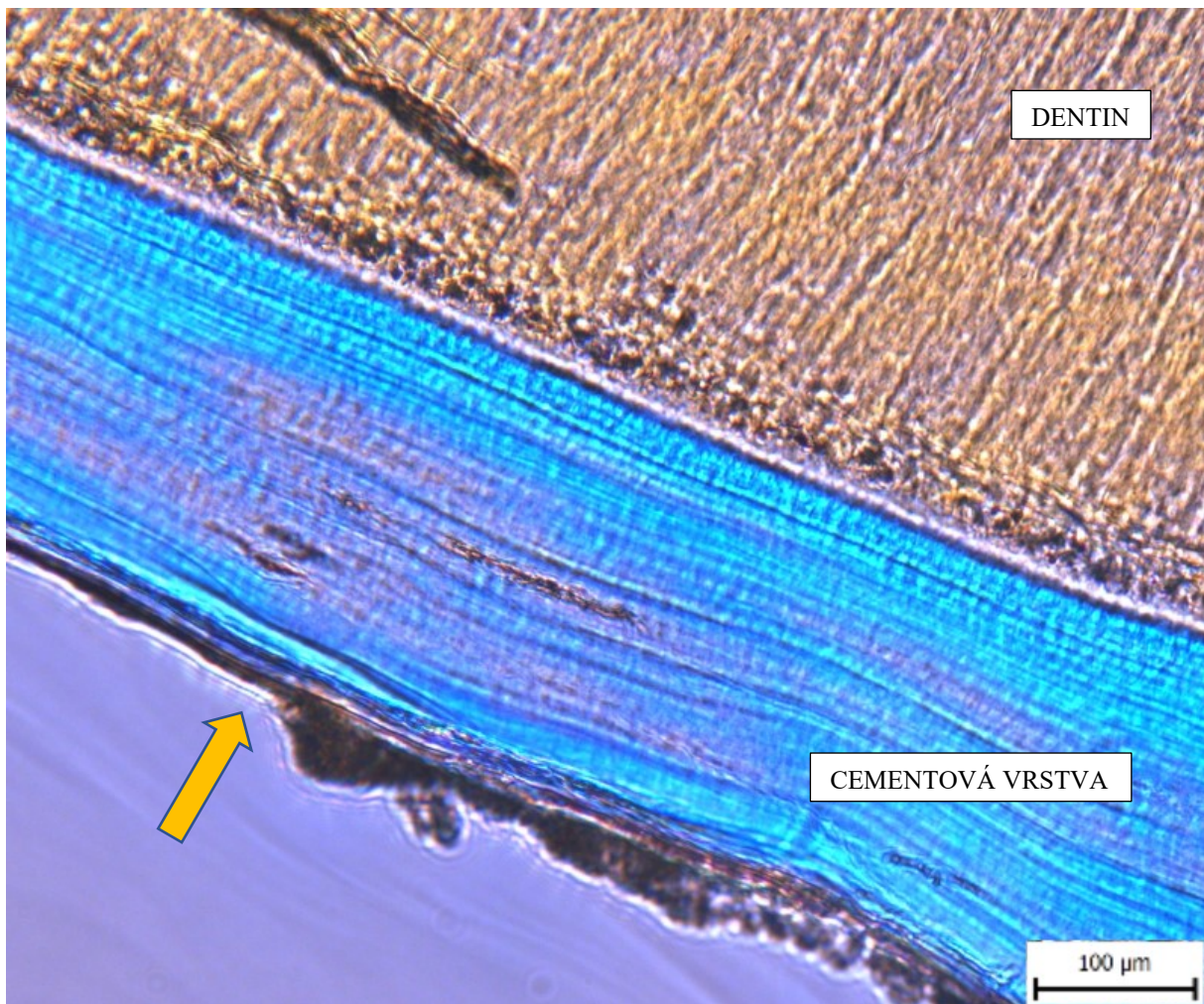
### 5.2.3 Odhad sezonality metodou cementochronologie

Po odhadu věku na připravených vzorcích následoval odhad sezonality. Ta se hodnotí na základě poslední přírůstkové linie cementové vrstvy, respektive míry přírůstku.

U malajských vzorků nebylo účelné odhad sezonality provádět, neboť všechny zuby poskytnuté pro účely této diplomové práce byly extrahovány s datem spadajícím do stejné sezónní doby (resp. měsíce roku). Z toho důvodu nebylo smysluplné hodnotit charakter poslední přírůstkové linie, neboť nám chyběly pro porovnání vzorky z jiné sezóny či ročního období.

Z českých vzorků byly nejprve vybrány ty, na kterých byly nejlépe zřetelné vnější hranice zubu a jednotlivé cementové přírůstky. Na těchto vybraných vzorcích byl proveden slepý pokus. Tedy takový pokus, kdy byl proveden odhad sezonality, aniž by bylo známo, v jakém měsíci došlo k extrakci daného zubu. Nejprve jsme porovnali jednotlivé světlé a jednotlivé tmavé linie a jejich tloušťku v rámci jednoho histologického preparátu.

Poté jsme se zaměřili na poslední linii před vnější hranicí zubu. Toto zkoumání bylo provedeno, aby byla identifikována buď světlá linie, poukazující na jarní/letní měsíce doby úmrtí (extrakce), anebo tmavá linie, která znázorňuje podzimní a zimní měsíce doby úmrtí (extrakce). Za období jaro/léto považujeme arbitrárně období roku od 21. března do 22. září. Období podzim/zima pak od 23. září do 20. března. Na Obrázku č. 9 lze vidět příklad hodnocené poslední přírůstkové linie označené žlutou šipkou.



Obr. č. 9: Cementová vrstva s přírůstkovými liniemi a příklad poslední hodnocené linie označené šipkou. (Vzorek RC10 – druhý řezák, spodní čelist, datum extrakce: 25. 10. 2019, žena ve věku 73 let).

#### 5.2.4 Statistické zpracování

V rámci kontroly opakovaného měření byl aplikován výpočet intra-observační chyby a pro zjištění vztahu mezi chronologickým a odhadnutým věkem byl vypočítán Pearsonův korelační koeficient.

**Intra-observační (intraindividuální) chyba** je taková, jež činí samotný badatel (Howells 1973; Drozdová 2004). Existuje řada statistik, využívaných pro testování spolehlivosti měření. V rámci této diplomové práce byl pro statistické vyhodnocení intra-observační chyby zvolen Cohenův koeficient kappa (Cohen, 1960). Tento koeficient je vypočítán podle rovnice:

$$\kappa = [\text{Pr}(a) - \text{Pr}(e)]/[1 - \text{Pr}(e)],$$

kde  $\text{Pr}(a)$  představuje relativní shodu mezi hodnocením,  $\text{Pr}(e)$  představuje odhad pravděpodobnosti náhodné shody.

Cohenovo kappa je užitečné pro testování spolehlivosti v rámci jednoho hodnotitele. Podobně jako korelační koeficient se jeho hodnota může pohybovat od -1 do +1 (McHugh 2012).

Pokud je shoda větší než 0 ( $k > 0$ ), jsou výsledky z metody kappa statisticky signifikantní a shoda je příliš velká na to, aby vznikla náhodou. Naopak pokud se kappa nachází v záporných hodnotách, jedná se o neshodu.

Cohen navrhl, aby jednotlivé výsledky kappa byly interpretovány, jak je znázorněno v Tabulce číslo 4.

Tabulka č. 4: Výsledné hodnoty kappa podle Cohena (Cohen 1960).

Kappa ( $\kappa$ )	Síla shody
<0	žádná
0,01 - 0,20	mírná
0,21 - 0,40	přiměřená
0,41 - 0,60	střední
0,61 - 0,80	podstatná
0,81 - 1,00	dokonalá

Pro porovnání podobnosti chronologického a odhadnutého věku byl použit výpočet **Pearsonova korelačního koeficientu** (Pearson 1896). Korelační matice obsahuje párové korelační koeficienty všech dvojic proměnných a je symetrická podle hlavní diagonály (Zvárová 2011). Pro naše účely je pohodlnější používat takzvaný čtvercový Pearsonův korelační koeficient, který je definován jako:

$$\rho^2(a, b) = \frac{E^2(ab)}{\sigma_a^2 \sigma_b^2},$$

kde  $E(ab)$  představuje vzájemnou korelaci mezi dvěma proměnnými,

$\sigma_a^2 = E(a^2)$  a  $\sigma_b^2 = E(b^2)$  jsou odchylky proměnných  $a$  a  $b$ .

Pokud jsou dvě náhodné veličiny korelované, znamená to, že jsou lineárně závislé. Nejsou-li korelované, jsou nezávislé. Míru korelace udává výše zmíněný korelační koeficient  $\rho$ , který může nabývat hodnot  $\langle -1; 1 \rangle$ . V případě, že je korelační koeficient  $\rho^2(a, b) = 0$ , není mezi veličinami žádný lineární vztah. V případě, že  $\rho$  nabývá záporných hodnot, jedná se o závislost nepřímou (tedy čím větší je jeden rozměr, tím menší je druhý rozměr). Naopak čím více se korelační koeficient blíží hodnotě 1, tím těsnější je mezi nimi přímá závislost. To znamená, že čím větší je jeden rozměr, tím větší je i druhý rozměr (Benesty et al. 2009).

## 6 Výsledky

### 6.1 Odhad věku dožití podle apozice cementu

#### 6.1.1 Cementochronologie v českém souboru

Při hodnocení věku v souboru české populace musely být z celkového počtu vzorků vyřazeny dva a velikost souboru se tak zmenšila na 19 vzorků. Ty, které byly ze souboru vyřazeny, nám slouží k prezentaci případů, kdy nelze metodu cementochronologii použít z důvodu nečitelnosti cementové vrstvy.

Odhad věku byl proveden na každém zhotoveném histologickém preparátu. Z každého vzorku, tedy zubu, bylo zhotoveno celkem pět histologických preparátů, a tedy i odečet cementových linií byl proveden celkem pětkrát u každého zubu. Z těchto pěti měření byl vypočítán průměrný počet linií, který je dále využit pro další výpočty. Výsledky jednotlivých měření a z nich vypočítaný průměr a směrodatná odchylka (SD) jednotlivých vzorků znázorňuje Tabulka č. 5

Tabulka č. 5: Počet cementových linií odečtených z histologických preparátů, celkový průměr počtu cementových linií každého vzorku a hodnoty SD.

číslo vzorku	měření 1	měření 2	měření 3	měření 4	měření 5	průměr	SD
RC1	50	48	48	56	53	51	3,098
RC2	57	63	59	60	54	58,6	3,007
RC3	-	-	-	-	-	-	-
RC4	0	1	1	1	0	0,6	0,489
RC5	1	0	0	0	1	0,4	0,489
RC6	63	55	50	56	57	56,2	4,167
RC7	31	34	39	31	34	33,8	2,926
RC8	1	1	1	1	1	1	0
RC9	1	1	2	3	3	2	0,894
RC10	61	70	69	65	78	68,6	5,678
RC11	44	54	49	47	48	48,4	3,261
RC12	28	29	35	39	30	32,2	4,167
RC13	4	5	5	3	4	4,2	0,748
RC14	3	3	5	3	4	3,6	0,894
RC15	51	66	60	62	57	59,2	5,035
RC16	63	37	57	45	59	52,2	9,683
RC17	64	64	62	63	68	64,2	2,039
RC18	40	47	42	41	48	43,6	3,262
RC19	48	43	41	49	45	45,2	2,993
RC20	59	54	58	65	64	60	4,049
RC21	-	-	-	-	-	-	-

Po odečtení cementových linií každého vzorku a vypočtení jejich průměru byl k tomuto výsledku připočten věk mineralizace zubního kořene daného zubu. Tyto hodnoty jsme čerpali z atlasu, vytvořeného autory S. J. AlQahtani a kolektivem (AlQahtani et al. 2010). Tím jsme dospěli k odhadovanému věku každého zubu.

Pro výpočet odhadovaného věku jsme aplikovali jednoduchou rovnici:

$$\text{Odhad} = \text{průměr počtu linií} + \text{věk mineralizace zubního kořene}$$

Směrodatná odchylka nám ukazuje, jak moc jsou hodnoty rozptýleny od středu naměřených hodnot, v našem případě výsledků jednotlivých měření. Hodnoty směrodatné odchylky jednotlivých vzorků se pohybují od 0,489 do 9,683.

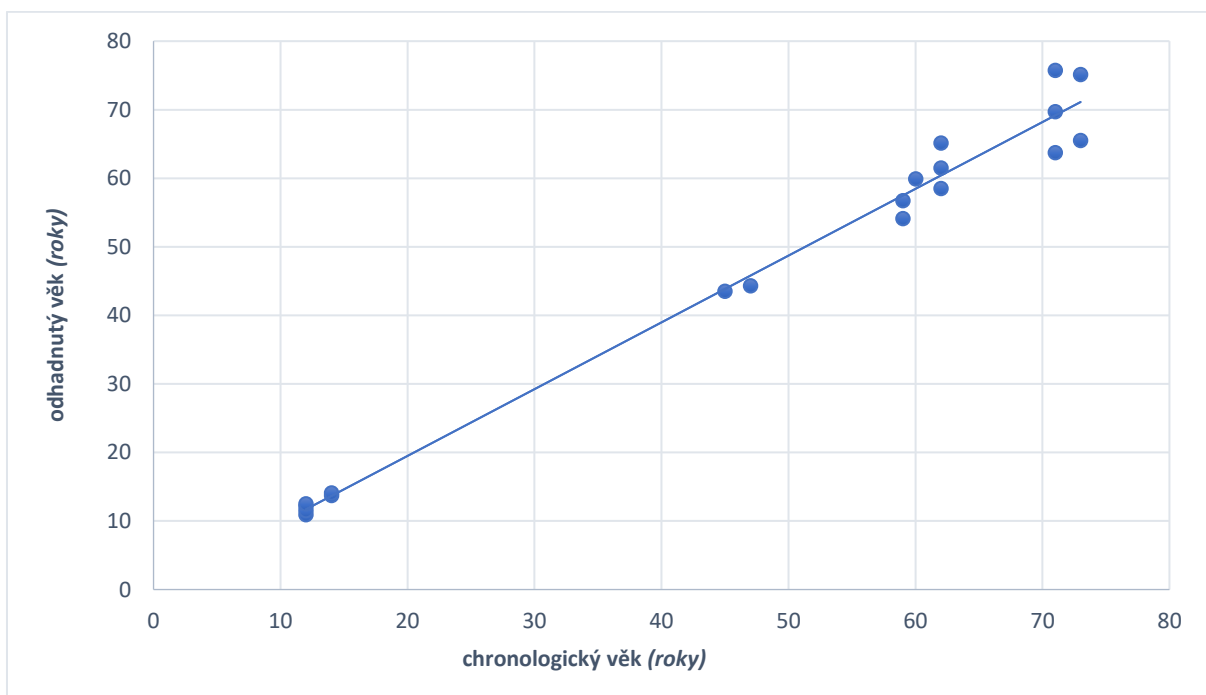
Tabulka číslo 6 na následující stránce představuje souhrn měření, hodnoty věku mineralizace kořene, odhadnutý věk každého zubu, chronologický věk a celkový rozdíl mezi těmito dvěma hodnotami.

Tabulka č. 6: Hodnoty chronologického a odhadovaného věku a rozdíl mezi těmito dvěma věky.

číslo vzorku	měření 1	měření 2	měření 3	měření 4	měření 5	průměr	chronologický věk (roky)	věk mineralizace (roky)	odhadnutý věk (roky)	rozdíl (roky)
RC1	50	48	48	56	53	51	62	7,5	58,5	3,5
RC2	57	63	59	60	54	58,6	62	6,5	65,1	-3,1
RC3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RC4	0	1	1	1	0	0,6	12	11,5	12,1	-0,1
RC5	1	0	0	0	1	0,4	12	10,5	10,9	1,1
RC6	63	55	50	56	57	56,2	62	6,5	62,7	-0,7
RC7	31	34	39	31	34	33,8	47	10,5	44,3	2,7
RC8	1	1	1	1	1	1	12	10,5	11,5	0,5
RC9	1	1	2	3	3	2	12	10,5	12,5	-0,5
RC10	61	70	69	65	78	68,6	73	6,5	75,1	-2,1
RC11	44	54	49	47	48	48,4	60	11,5	59,9	0,1
RC12	28	29	35	39	30	32,2	45	11,5	43,7	1,3
RC13	4	5	5	3	4	4,2	14	9,5	13,7	0,3
RC14	3	3	5	3	4	3,6	14	10,5	14,1	-0,1
RC15	51	66	60	62	57	59,2	71	10,5	69,7	1,3
RC16	63	37	57	45	59	52,2	71	11,5	63,7	7,3
RC17	64	64	62	63	68	64,2	71	11,5	75,7	-4,7
RC18	40	47	42	41	48	43,6	59	10,5	54,1	4,9
RC19	48	43	41	49	45	45,2	59	11,5	56,7	2,3
RC20	59	54	58	65	64	60	73	5,5	65,5	7,5
RC21	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Na základě informací, které lze vyčíst z této tabulky, vyplývá, že hodnoty odhadovaného věku jednotlivých vzorků se blíží hodnotám věku chronologického. V průměru se odhadovaný věk vzorků souboru české populace liší o 1,15 roků od věku chronologického, přičemž lze pozorovat mírný trend nadhodnocování výsledků.

Pro potvrzení vztahu chronologického a odhadovaného věku jsme spočítali Pearsonův korelační koeficient. Pro soubor vzorků české populace byla výsledná hodnota korelačního koeficientu  $r = 0,992375$ . Protože se výsledek blíží jedné, lze na základě předchozích informací z kapitoly Metody konstatovat, že mezi odhadnutým věkem a věkem chronologickým je u vzorků české populace lineární závislost a také že korelace mezi těmito dvěma proměnnými je poměrně silná. Pro snadnější představu blízkosti obou věků byl vytvořen Graf č. 1.



Graf č. 1: Korelace odhadnutého a chronologického věku české populace.



### 6.1.2 Cementochronologie v malajském souboru

Odhad věku byl proveden podle stejného postupu jako u vzorků české populace.

Z každého vzorku bylo opět připraveno celkem pět histologických preparátů a odhad věku byl proveden na každém z nich. Z jednotlivých měření byl vypočítán průměrný počet linií a ten byl využit pro další výpočty odhadu. Tabulka číslo 7 uvádí počet cementových linií jednotlivých měření a průměrný počet linií každého zubu.

Tabulka č. 7: Výsledky jednotlivých měření a celkový průměr linií každého vzorku.

číslo vzorku	měření 1	měření 2	měření 3	měření 4	měření 5	průměr	SD
MA1	22	26	20	28	26	24,4	2,939
MA2	65	51	69	52	52	57,8	7,626
MA3	53	60	54	67	66	60	5,831
MA4	14	17	15	19	19	16,8	2,039
MA5	10	14	14	10	12	12	1,789
MA6	57	65	62	52	55	58,2	4,707
MA7	50	58	65	68	70	62,2	7,332
MA8	69	64	72	60	70	67	4,381
MA9	66	61	72	63	60	64,4	4,317
MA10	52	54	67	71	69	62,6	7,965
MA11	4	7	6	9	7	6,6	1,625

Po spočítání jednotlivých linií každého preparátu a vypočtení průměru každého vzorku jsme k těmto výsledkům připočetli věk mineralizace kořene zubu, ze kterého byly konkrétní histologické preparáty zhotoveny. Výpočet proběhl opět podle jednoduchého vzorce:

$$\text{Odhad} = \text{průměr počtu linií} + \text{věk mineralizace kořene daného zubu}$$

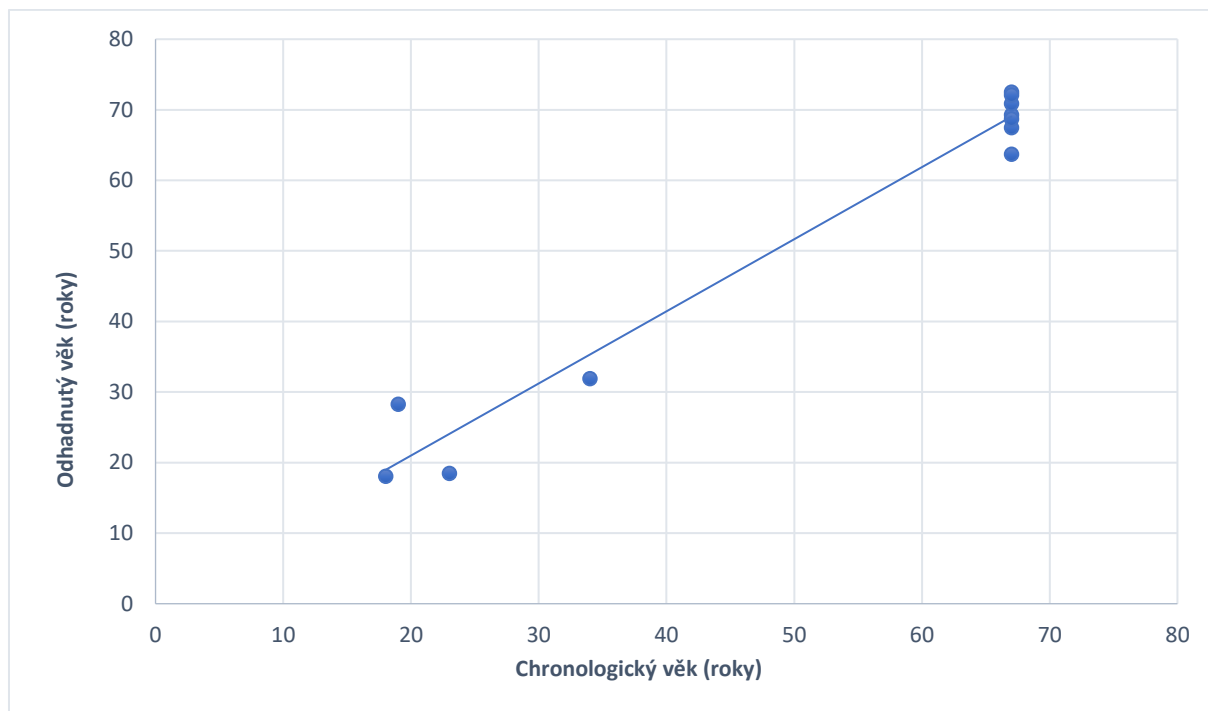
Získali jsme tak odhadovaný věk každého vzorku. Tento věk jsme porovnali s věkem chronologickým a vypočetli rozdíl mezi oběma věky. Podle hodnot směrodatné odchylky jednotlivých měření lze říct, že zde je rozptyl hodnot v průměru menší než u vzorků souboru české populace. Hodnoty SD se pohybují od 1,625 – 7,965.

Tabulka č. 8 na následující stránce znázorňuje seznam měření doplněný o hodnoty věku mineralizace každého zubu, odhadnutého věku, chronologického věku a rozdílu mezi oběma věky. Z dat v tabulce je zřejmé, že odhadnutý věk se opět příliš neliší od věku chronologického. V průměru se odhadnutý věk vzorků malajské populace liší o (-1,68) roku s mírným trendem podhodnocování.

Tabulka č. 8: Hodnoty chronologického a odhadovaného věku a rozdíl mezi těmito dvěma věky.

číslo vzorku	měření 1	měření 2	měření 3	měření 4	měření 5	průměr	chronologický věk (roky)	věk mineralizace (roky)	odhadnutý věk (roky)	rozdíl (roky)
MA1	22	26	20	28	26	24,4	34	7,5	31,9	2,1
MA2	65	51	69	52	52	57,8	67	11,5	69,3	-2,3
MA3	53	60	54	67	66	60	67	7,5	67,5	-0,5
MA4	14	17	15	19	19	16,8	19	11,5	28,3	-9,3
MA5	10	14	14	10	12	12	23	6,5	18,5	4,5
MA6	57	65	62	52	55	58,2	67	5,5	63,7	3,3
MA7	50	58	65	68	70	62,2	67	6,5	68,7	-1,7
MA8	69	64	72	60	70	67	67	5,5	72,5	-5,5
MA9	66	61	72	63	60	64,4	67	6,5	70,9	-3,9
MA10	52	54	67	71	69	62,6	67	9,5	72,1	-5,1
MA11	4	7	6	9	7	6,6	18	11,5	18,1	-0,1

Abychom u těchto vzorků potvrdili blízký vztah odhadnutého a chronologického věku, aplikovali jsme opět výpočet Pearsonova korelačního koeficientu. Pro vzorky malajské populace byl vypočten korelační koeficient s výsledkem 0,984177. Je zřejmé, že se tento výsledek blíží jedné, a tudíž lze prohlásit, že i zde existuje silná závislost mezi věkem odhadnutým a chronologickým. Pro demonstraci korelace mezi odhadnutým a chronologickým věkem vzorků malajské populace slouží Graf č. 2.



Graf č. 2: Korelace odhadnutého a chronologického věku u vzorků malajské populace.

Při porovnávání blízkého vztahu mezi chronologickým a odhadovaným věkem u vzorků souborů obou populací můžeme doložit (viz. Tabulka č. 9 a 10), že tento vztah je velice úzký jak u jedinců mladších, tak i starších dospělých. To je důležitý poznatek, protože to dokazuje, že metoda cementochronologie je opravdu aplikovatelná na jedince různého stáří. V tabulkách číslo 9 a 10 jsou vzorky seřazeny podle chronologického stáří donora vzorku od nejnižšího po nejvyšší věk (Tabulka č. 10 pro vzorky české populace a Tabulka č. 11 pro vzorky malajské populace).

Tabulka č. 9: Vzorky seřazeny dle chronologického věku (nejmladší – nejstarší jedinec), porovnání s věkem odhadovaným (soubor vzorků české populace).

číslo vzorku	chronologický věk (roky)	odhadnutý věk (roky)	rozdíl
RC4	12	12,1	-0,1
RC5	12	10,9	1,1
RC8	12	11,5	0,5
RC9	12	12,5	-0,5
RC13	14	13,7	0,3
RC14	14	14,1	-0,1
RC12	45	43,7	1,3
RC7	47	44,3	2,7
RC18	59	54,1	4,9
RC19	59	56,7	2,3
RC11	60	59,9	0,1
RC1	62	58,5	3,5
RC2	62	65,1	-3,1
RC6	62	62,7	-0,7
RC17	71	75,7	-4,7
RC10	73	75,1	-2,1
RC20	73	65,5	7,5

Tabulka č. 10: Vzorky seřazeny dle chronologického věku (nejmladší – nejstarší jedinec), porovnání s věkem odhadovaným (soubor vzorků malajské populace).

číslo vzorku	chronologický věk (roky)	odhad (roky)	rozdíl
MA11	18	18,1	-0,1
MA4	19	28,3	-9,3
MA5	23	18,5	4,5
MA1	34	31,9	2,1
MA2	67	69,3	-2,3
MA3	67	67,5	-0,5
MA6	67	63,7	3,3
MA7	67	68,7	-1,7
MA8	67	72,5	-5,5
MA9	67	70,9	-3,9
MA10	67	72,1	-5,1

U vzorků souboru české populace je průměrný rozdíl mezi věkem chronologickým a odhadovaným ve věkové skupině <60 let celkem 1,24 roků a u věkové skupiny >60 činí rozdíl 0,07 roků. Je pozorován mírný trend nadhodnocování. U vzorků malajské populace u věkové skupiny <60 let je průměrný rozdíl (-0,7) roků a u věkové skupiny >60 let je výsledek (-2,24) roků. U těchto vzorků můžeme sledovat trend podhodnocování vzorků, a to více u jedinců starších 60 let.

## 6.2 Odhad sezonality extrakce

Odhad sezonality byl proveden pouze na vzorcích české populace. Pro toto měření byly vybrány vzorky s jasně viditelným pásem cementových vrstev. Odhad sezonality byl finálně proveden na devíti vzorcích z celkového počtu 19, protože jsme u zbývajících nebyli schopni přesně provést hodnocení poslední přírůstkové linie. Každý vzorek sestává z pěti mikroskopických preparátů a na každém tomto preparátu byl proveden odhad sezonality. Celkem byl tak na jednom vzorku odhad sezonality proveden pětkrát a toto hodnocení bylo s rozestupem dvou týdnů opakováno. U každého vzorku byl následně proveden průměr měření, na jehož základě byl vyhodnocen charakter poslední přírůstkové linie. Výsledky dílčích měření prvního kola a vyhodnocený charakter poslední přírůstkové linie jsou zapsány v Tabulce číslo 11.

Tabulka č. 11: Jednotlivé výsledky měření sezonality a výsledný charakter poslední linie.

číslo vzorku	měření 1	měření 2	měření 3	měření 4	měření 5	výsledek
RC1	světlá	světlá	světlá	tmavá	světlá	světlá
RC6	světlá	světlá	světlá	světlá	světlá	světlá
RC7	tmavá	světlá	světlá	světlá	světlá	světlá
RC8	světlá	světlá	světlá	světlá	světlá	světlá
RC10	světlá	tmavá	tmavá	tmavá	světlá	tmavá
RC12	světlá	tmavá	tmavá	tmavá	tmavá	tmavá
RC15	tmavá	světlá	světlá	tmavá	světlá	světlá
RC17	světlá	světlá	tmavá	světlá	světlá	světlá
RC19	světlá	světlá	světlá	světlá	světlá	světlá

Porovnáním odhadované sezonality s aktuální, kterou lze vyčíst díky data extrakce jednotlivých vzorků, lze vidět v Tabulce číslo 12. Při prvním kole měření se odhadovaná sezonalita jednotlivých vzorků shodovala s aktuální sezónou extrakce u všech devíti vzorků.

Tabulka č. 12: Porovnání sezonality dle data extrakce a odhadované sezonality (1. měření).

číslo vzorku	datum extrakce	sezonalita podle data extrakce	charakter poslední přírůstkové linie	odhadovaná sezonalita
RC1	11.6.2019	jaro/léto	světlá	jaro/léto
RC6	16.7.2019	jaro/léto	světlá	jaro/léto
RC7	18.7.2019	jaro/léto	světlá	jaro/léto
RC8	23.8.2019	jaro/léto	světlá	jaro/léto
RC10	25.10.2019	podzim/zima	tmavá	podzim/zima
RC12	21.1.2020	podzim/zima	tmavá	podzim/zima
RC15	22.5.2020	jaro/léto	světlá	jaro/léto
RC17	22.5.2020	jaro/léto	světlá	jaro/léto
RC19	11.6.2020	jaro/léto	světlá	jaro/léto

Na základě výše uvedených výsledků lze potvrdit, že odhad sezonality na základě charakteru poslední přírůstkové linie odpovídá datům ze záznamu, tedy že zuby extrahované v období jara/léta vykazují poslední přírůstkovou linií světlou, zatímco zuby extrahované v období podzimu/zimy naopak linií tmavou.

Druhé pozorování, které bylo provedeno s časovým rozestupem, se lišilo ve čtyřech dílčích odhadech. Přehled dílčích výsledků a výsledný charakter poslední přírůstkové linie je znázorněn v Tabulce číslo 13.

Tabulka č. 13: Dílčí měření druhého kola odhadu sezonality provedeného s odstupem dvou týdnů s vyznačenými odlišnými výsledky oproti kolu prvnímu.

číslo vzorku	měření 1	měření 2	měření 3	měření 4	měření 5	výsledek
RC1	světlá	světlá	světlá	tmavá	tmavá	světlá
RC6	světlá	světlá	světlá	světlá	světlá	světlá
RC7	tmavá	tmavá	světlá	světlá	světlá	světlá
RC8	světlá	světlá	světlá	světlá	světlá	světlá
RC10	světlá	tmavá	tmavá	světlá	světlá	<b><u>světlá</u></b>
RC12	světlá	tmavá	tmavá	tmavá	tmavá	tmavá
RC15	tmavá	světlá	světlá	tmavá	světlá	světlá
RC17	světlá	tmavá	tmavá	světlá	světlá	světlá
RC19	světlá	světlá	světlá	světlá	světlá	světlá

Rozdílné výsledky dílčích měření druhého kola znamenaly pouze u vzorku č. 10 odlišný charakter poslední přírůstkové linie a z toho důvodu i odlišnou finální odhadovanou sezonalitu, než tomu bylo u prvního kola měření (v tabulce podtrženo a zvýrazněno). Při druhém kole měření byl charakter poslední přírůstkové linie cementové vrstvy vyhodnocen jako "světlá", a proto i finální odhadovaná sezonalita vzorku byla charakterizována jako "jaro/léto". Porovnání sezonality dle data extrakce a odhadované sezonality znázorňuje Tabulka číslo 14.

Tabulka č. 14: Porovnání sezonality dle data extrakce a odhadované sezonality (2. měření). Zvýrazněn je vzorek, jehož finální odhadovaná sezonalita se liší oproti prvnímu měření.

číslo vzorku	datum extrakce	sezonalita podle data extrakce	charakter poslední přírůstkové linie	odhadovaná sezonalita
RC1	11.6.2019	jaro/léto	světlá	jaro/léto
RC6	16.7.2019	jaro/léto	světlá	jaro/léto
RC7	18.7.2019	jaro/léto	světlá	jaro/léto
RC8	23.8.2019	jaro/léto	světlá	jaro/léto
RC10	25.10.2019	podzim/zima	<b><u>světlá</u></b>	<b><u>jaro/léto</u></b>
RC12	21.1.2020	podzim/zima	tmavá	podzim/zima
RC15	22.5.2020	jaro/léto	světlá	jaro/léto
RC17	22.5.2020	jaro/léto	světlá	jaro/léto
RC19	11.6.2020	jaro/léto	světlá	jaro/léto

Pro ověření spolehlivosti svého měření sezonality jsme aplikovali výpočet intra-observační chyby, která byla měřena prostřednictvím výpočtu Cohenova koeficientu kappa.

Pro výpočet Cohenova koeficientu kappa jsme použili výsledky měření sezonality, které byly převedeny do číselné podoby. Pro výsledek světlá linie jsme vybrali číslo 0, pro výsledek tmavá linie jsme zvolili číslo 1. Hodnoty použité pro výpočet Cohenova koeficientu kappa jsou znázorněny v Tabulce číslo 15.

Tabulka č. 15: Výsledky měření použité pro výpočet Cohenova koeficientu kappa

		1. měření			
		0	1		
2. měření	0	7	0	7	77,80%
	1	1	1	2	22,20%
		8	1	9	
		88,90%	11,10%		

Jednotlivé výsledné hodnoty v tabulce vycházejí ze vzájemné shody světlých a tmavých linií obou měření a z výpočtů procentuálního zastoupení jednotlivých výsledků. Díky těmto výsledným hodnotám jsme byli schopni vypočítat  $Pr(a) = 0,889$  a  $Pr(e) = 0,702$ .

Poté jsme tyto výsledky dosadili do rovnice, která je uvedena v kapitole Metody a dostali jsme výslednou hodnotu Cohenova koeficientu kappa  $\kappa = 0,631$ .

Na základě tabulky hodnot kappa podle Cohena spadá tento výsledek do rozpětí hodnot 0,61 – 0,80. Vychází tedy, že síla shody obou měření je podstatná.



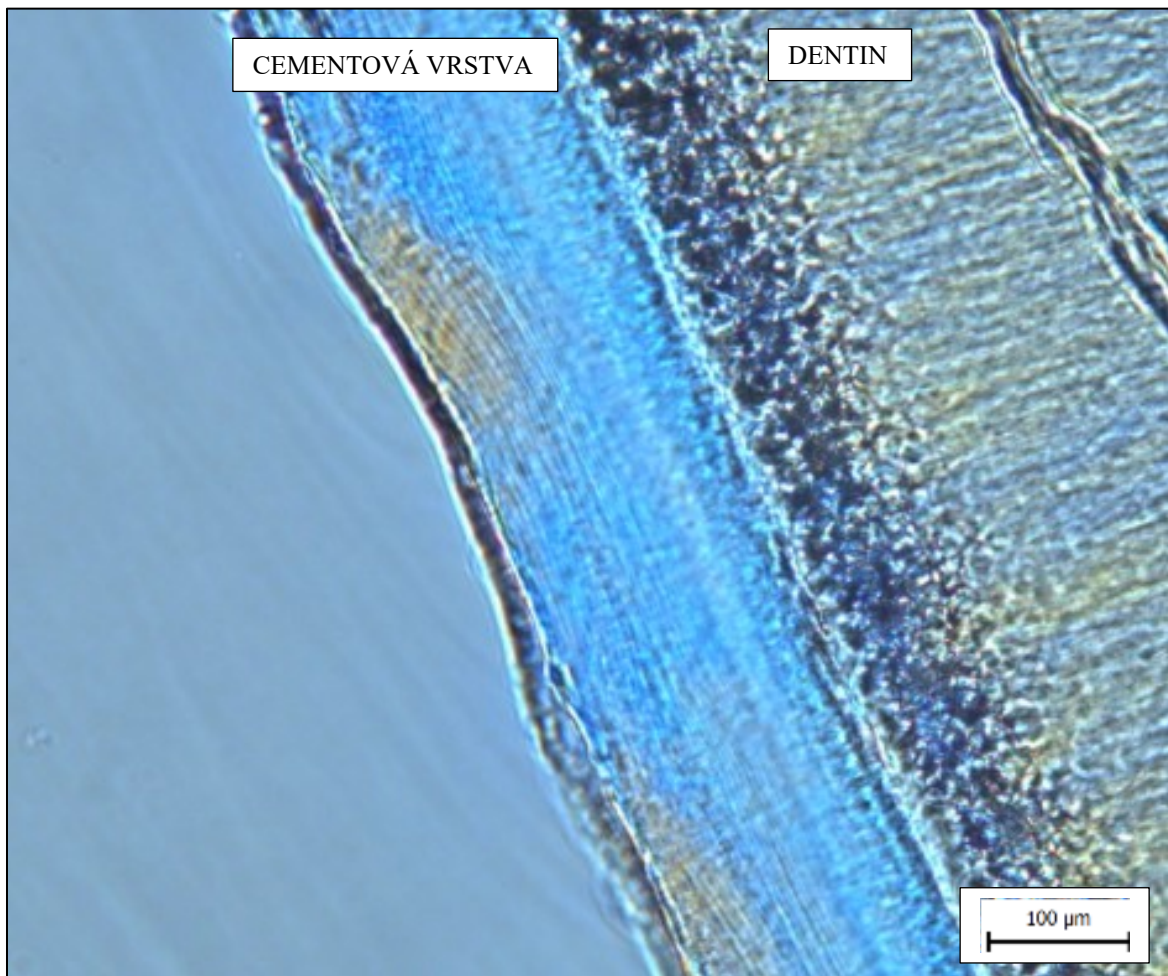
## 7 Diskuse

Diplomová práce se zabývá odhadem věku a sezonality využitím metody cementochronologie. Upřesnění profilu jedince v rámci identifikace je hlavním cílem právě forenzní antropologie nebo bioarcheologie a dalších biologických oborů. Znaků na kostře a metod je využívající existuje velké množství a každá metoda nabízí rozdílný přístup. Jsou to například metody morfologické (morfologické změny na acetabulu), mikroskopické (transparentnost zubního kořene) nebo biochemické (racemizace kys. asparagové) (Kashyap et al. 1990; Ohtani et al. 2010; San-Millán et al. 2017). Za jeden z nejvhodnějších znaků pro odhad věku a sezonality je považována dentice, neboť její vývoj probíhá v chráněném prostředí (dutina ústní) a je během života minimálně ovlivněna vnějšími vlivy.

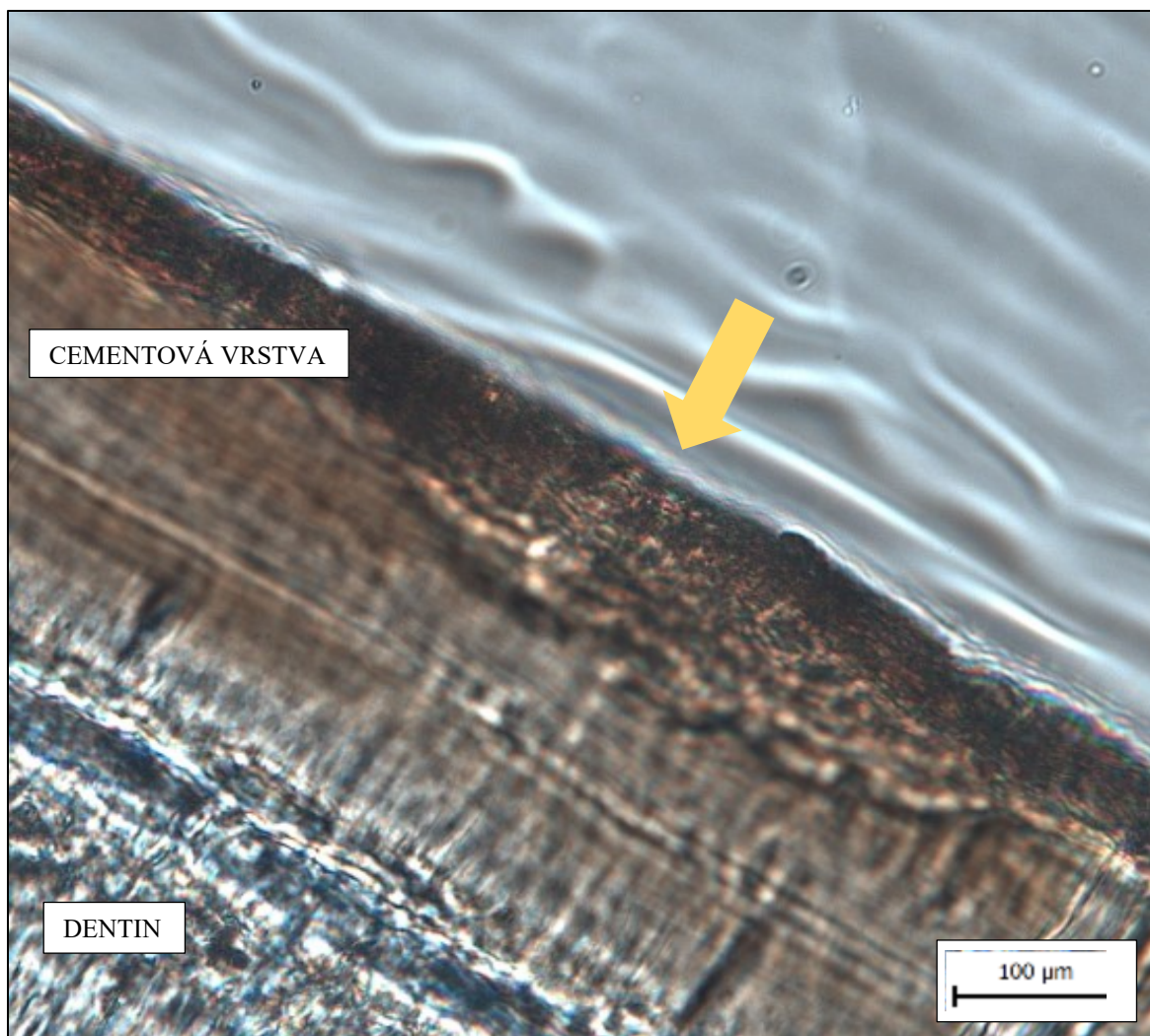
Cementochronologie je metoda pracující s vrstvou zubního cementu, který obklopuje zubní kořen. Je pravděpodobně jedinou metodou, která pracuje s kontinuálně rostoucí tkání a stává se tak nejvhodnější metodou pro odhad věku u dospělých jedinců (Naji et al. 2016; Ritz-Timme et al. 2000). Odhad věku a sezonality byl v této práci aplikován na dva soubory vzorků, pocházejících z různých geografických oblastí – české a malajské. Velikost souboru vzorků české populace činilo 21 vzorků a 11 vzorků malajského souboru.

V průběhu výzkumu jsme se potýkali s několika překážkami, které bylo potřeba překonat. Během práce jsme se potýkali hlavně s časovou náročností této metody. Ačkoliv protokol, podle kterého jsme se řídili při postupu zpracování vzorků, snižuje náročnost, jsou jednotlivé fáze přípravy a zpracování vzorků časově velmi náročné. Také neexistuje žádný standard, podle kterého bychom určili, které vzorky vyřadit hned na počátku zkoumání. Až po celém procesu zpracování vzorků a tvorby histologických preparátů bylo zjištěno, jaké vzorky nejsou pro další analýzu použitelné a které tak musí být vyřazeny. Další komplikací přinesl samotný výběr souboru vzorku. Zuby, které byly v této práci použity, pochází ze zubních ordinací. K extrakcím těchto zubů docházelo z důvodu ortodontických zákroků. V některých případech je viditelné odtržení cementové vrstvy od kořene zubu, ke kterému mohlo dojít například při extrakci zubu. Při takovém poškození je odečet přírůstkových linií obtížný. Velké množství zubů bylo poznamenáno zásahy zubařů (výplně, plomby), či různými onemocněními zubu (zubní kazy). Někteří autoři, například Bertrand a Broucker, sice tvrdí, že periodontální onemocnění by nemělo mít vliv na výsledky (Bertrand et al. 2016; Broucker et al. 2016), ale existuje řada onemocnění zubu, například zubní kaz, u kterých není prozkoumaný vliv na přesnost metody. S tímto souvisí další problém a to ten, že zuby byly extrahované převážně u starších jedinců, u kterých je odečet cementových přírůstků mnohem

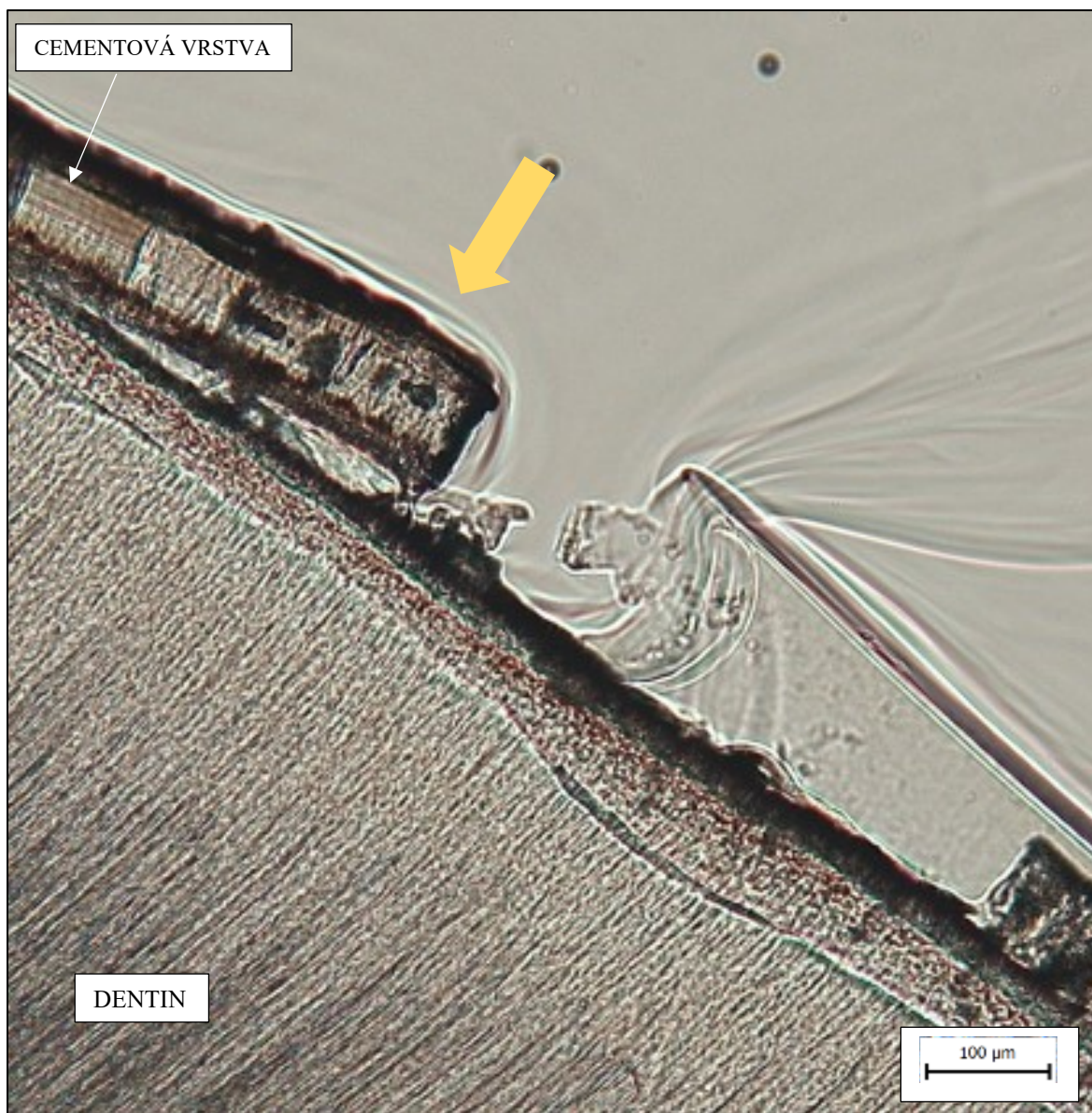
složitější, ať už z důvodu častějšího poškození či onemocnění extrahovaného zubu a také z důvodu většího průměru cementové vrstvy, než u jedinců mladých a tím pádem je i počet linií mnohem vyšší a odečet je mnohem těžší. Porovnání cementové vrstvy s jasně viditelnými přírůstkovými liniemi oproti vrstvě se špatnou čitelností lze vidět na Obrázku č. 10 A (jasně viditelné přírůstkové linie) a B (snížená čitelnost cementové vrstvy). Obrázek č. 11 znázorňuje odtržení cementové vrstvy od povrchu kořene.



Obr. č. 10/A: Příklad cementové vrstvy s jasně viditelnými cementovými přírůstky (vzorek č. RC12 – druhý premolár, horní čelist, datum extrakce: 21.01.2020 žena ve věku 45 let).



Obr. č. 10/B: Příklad poškození cementu (žlutá šipka) a špatné čitelnosti cementových přírůstků (vzorek č. RC3 – vzorek vyřazený – první řezák, horní čelist, datum extrakce: 11.06.2019, žena ve věku 62 let).



Obr. č. 11: Příklad odtržení cementové vrstvy od povrchu kořene a její poškození  
(vzorek č. RC21 – vzorek vyřazený – první řezák, dolní čelist, datum extrakce:  
11.06.2020, muž ve věku 73 let).

## Odhad věku

Odhad věku dožití je u lidských pozůstatků důležitým determinantem ve forenzní antropologii, kde v případě forenzní analýzy značně usnadňuje identifikaci lidských ostatků, a také v bioarcheologii, kde znalost věku v době úmrtí vede k objasnění období úmrtnosti i změn v lidském chování u minulých populací (Wedel 2015).

Výsledky dřívějších studií, například Charles et al. (1986), Kagerer a Grupe (2001), Wittwer-Backofen a kol. (2004) nebo Broucker et al. (2015) dokládají, že odhad věku na základě analýzy periodicky přirůstajících linií cementové vrstvy koreluje s věkem chronologickým (Charles et al. 1986; Kagerer a Grupe 2001; Wittwer-Backofen et al. 2004; Broucker et al. 2015). Charles a kolektiv ve své studii aplikovali metodu cementochronologii na zuby recentní, darované zubními ordinacemi a na zuby historické, darované lékařskou fakultou ve Spojených státech. Ve svých výsledcích uvedli, že korelační koeficient mezi odhadovaným a skutečným věkem je  $r = 0,94$ . Wittwer-Backofen a kolektiv provedli odhad věku pomocí cementochronologie na zubech recentních v Německu. Ve své studii vypočítali korelační koeficient pro mužské vzorky  $r = 0,970$  a pro ženské vzorky  $r = 0,978$ . Námi dosažené výsledky tyto dřívější studie podporují. Ve své studii jsme aplikovali metodu cementochronologii na vzorky recentní, pocházející ze dvou geograficky odlišných populací – české a malajské. Dokázali jsme, že v obou souborech je odhadovaný věk opravdu blízký věku chronologickému. Korelační koeficient v souboru české populace je  $r = 0,992$  a v souboru malajské populace je výsledek  $r = 0,984$ .

Ačkoliv jsou výsledné hodnoty korelačních koeficientů u obou souborů značně vysoké a tím pádem se metoda jeví jako velmi přesná, rozdíl mezi jednotlivými měřeními jednoho vzorku (rozdíl mezi nejnižším a nejvyšším počtem linií) může být značně velký. Například u vzorku RC6 (český soubor) činí tento rozdíl 13 linií, u vzorku RC10 je to dokonce 17 linií a u vzorku MA2 je to celkem 18 linií. Výsledky jednotlivých měření se od sebe mohou značně lišit v rámci jednoho vzorku. Tyto rozdíly jsou mazány z důvodu využívání výpočtů průměrných hodnot. Díky užívání průměrných hodnot může docházet ke zdánlivému zvyšování přesnosti metody.

Společně s výsledky dřívějších studií můžeme ale prohlásit, že pravděpodobně nezáleží na původu vzorku (recentní x historické) ani na geografické poloze zkoumané populace. Ukázalo se, že aplikace cementochronologie funguje stejně dobře na zubech recentních, tak historických a také na zubech populace z různých částí světa (Česká republika x Malajsie). Hlubší zkoumání této problematiky by mělo nadále zůstat předmětem dalších výzkumů, které by tuto tezi potvrdily.

## Odhad sezonality

V současné době existuje pouze několik studií, které se zabývají problematikou odhadu sezonality na lidských jedincích. Přitom hodnocení sezonality podle přírůstkových cementových linií má silný potenciál pro využití ve forenzní antropologii. Díky odhadnuté sezonalitě v době úmrtí lze významně přiblížit interval úmrtí jedince, a tak například zdokonalit identifikaci neznámého. Také v bioarcheologii má odhad sezonality důležité místo. V bioarcheologii znamená objasnění sezonality v době úmrtí přiblížení informací o minulých populacích, hlavně v případech, kdy neexistují žádné záznamy. Díky tomu jsme další krůček vpřed v kompletaci informací o minulých populacích (İşcan et al. 2013). Výsledky dřívějších studií odhadu sezonality například Wedel (2007) a Ralston (2016) poukazují na to, že odhadovaná sezonalita na základě metody cementochronologie odpovídá sezóně, kdy došlo k úmrtí jedince, či extrakci daného zubu jedince a je v 99% případů přesná v odhadu, zda jedinec zemřel v období jaro/léto nebo podzim/zima (Wedel 2007; Ralston 2016). Studie Vicki L. Wedel z roku 2007 sledovala přírůstkové linie na vzorcích darovaných ze zubních ordinací, tedy na zubech recentních ve Spojených státech. V další své studii z roku 2015 prováděla odhad na afroamerických dospívajících jedincích, kteří zemřeli v období 19. století ve Spojených státech amerických, tedy na zubech historických. V pilotní rakouské studii Schmidt a kol. 2014 naopak aplikovali metodu cementochronologii v subtropických oblastech na vzorky jedinců současné populace a taktéž potvrdili, že odhadovaná sezonalita odpovídá skutečnosti. Ve svých studiích Wedel a Schmidt poukazují na to, že linie vytvořené v období od dubna do září se vyznačují světlou barvou poslední přírůstkové linie a linie vytvořené v období od října do března jsou naopak tmavé a menšího průměru, než linie světlé (Schmidt et al. 2014; Wedel 2007; 2015). Výsledky námi prováděného odhadu sezonality u vzorků české populace tyto výsledky podpořily. Vzorky extrahované v období duben–září vykazují poslední přírůstkovou linii světlé povahy a vzorky extrahované v sezónním období říjen–březen se vyznačují tmavou poslední přírůstkovou linií. Námi prováděné měření bylo prováděno celkem dvakrát. V druhém měření došlo u vzorku č. RC10 k odlišné finální odhadované sezónně. Jedná se o vzorek extrahovaný 25. 10., tedy v měsíci říjnu. Možnou příčinou odlišné čitelnosti může být krátký časový interval mezi počátkem období podzimu (23. 9.) a datem extrakce (25. 10.). Přírůstková linie je proto poměrně malého průměru a může se v některých případech jevit jako světlá a v jiných jako tmavá. Odhad totiž probíhá na stejném histologickém preparátu, ale na odlišných oblastech cementové vrstvy, a protože řezy neprobíhají přímo kolmo k cementové vrstvě, je osa linií v každé oblasti trochu odlišná. Ostatní vzorky se v odhadnutých finálních sezónách nelišily.

## 8 Závěr

Cílen naší práce bylo: 1) aplikovat metodu cementochronologie pro odhad věku dožití jedinců české a malajské populace, 2) aplikovat tuto metodu pro odhad sezonality v souboru české populace, 3) porovnat výsledky odhadu věku obou souborů, 4) diskutovat výsledky odhadu sezonality souboru české populace.

Metoda cementochronologie (dle protokolu Colard et al., 2018) byla aplikována na soubor vzorků jednokořenových zubů české ( $n = 21$ ) a malajské ( $n = 11$ ) populace. Při vyhodnocení výsledků odhadu věku byla výsledná korelace mezi skutečným a odhadnutým věkem jak v případě českého souboru ( $r = 0,992$ ), tak malajského ( $r = 0,984$ ) velmi vysoká. Rovněž průměrný rozdíl mezi oběma věky byl nízký (česká populace = 1,15 roků, malajská populace = -1,68 roků). U jedinců souboru české populace docházelo častěji k nadhodnocování výsledků a u jedinců malajské populace docházelo více k podhodnocování výsledků. Tyto výsledky jsou pravděpodobně ovlivněny velikostí souboru. Soubor vzorků české populace pochází z větší části od mladších jedinců, kdežto soubor vzorků malajské populace pochází hlavně od jedinců starších 60 let. Ve výsledku odhad věku metodou cementochronologie u obou souborů odpovídá věku chronologickému. Metoda tedy v našem souboru poskytla zdánlivě velmi přesné výsledky. Pokud jsme se ale blíže podívali na rozdíly mezi jednotlivými počty linií v rámci 5 měření (příklady) či rozptyl rozdílů mezi dvěma věky (rozpětí – pro českou a malajskou populaci), vidíme zde značnou variabilitu, která by neměla být opomenuta. I přes tyto nedostatky metoda nabízí svůj potenciál zejména v kontextu odhadu věku dospělých jedinců, kde může fungovat například jako doplněk k morfologickým metodám.

Při aplikaci cementochronologie pro odhad sezonality na soubor vzorků české populace jsme dokázali, že odhadovaná sezonalita na základě charakteru poslední přírůstkové linie odpovídá sezóně extrakce vzorků. Odhad sezonality byl proveden dvakrát, přičemž pouze u druhého měření došlo k rozdílnému výsledku pouze u jediného vzorku. Pravděpodobným důvodem je datum extrakce (25. 10.) spadající do časového rozhraní mezi oběma hodnocenými sezónami. Vysoká shoda mezi měřeními však přispívá k možnosti hojnějšího využití cementochronologie nejen pro odhad věku, ale i sezonality. Stejně jako u věku však platí, že s přibývajícím věkem je hodnocení obtížnější.

## 9 Seznam literatury

Adserias-Garriga J, Wilson-Taylor R. 2019. Skeletal age estimation in adults. In: Age Estimation [online]. B.m.: Elsevier, s. 55–73 [vid. 2020-07-28]. ISBN 978-0-12-814491-6. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-814491-6.00005-4

Acsadi, G, Nemeskeri J, 1970. History of Human Life Span and Mortality. Budapest: Hungarian Academic Society

AlQahtani SJ, Hector MP, Liversidge HM. 2010. Brief communication: The London atlas of human tooth development and eruption. American Journal of Physical Anthropology [online]. 142(3), 481–490. ISSN 00029483, 10968644. Dostupné z: doi:10.1002/ajpa.21258

Avadhani, AJ, Tupkari V, Khambaty A, Sardar M. 2009. Cementum annulations and age determination. (1), 73–76. Dostupné z: doi:10.4103/0974-2948.60377

Baccino E, Sinfield L, Colomb S, Baum TP, Martrille L, 2014. Technical note: The two step procedure (TSP) for the determination of age at death of adult human remains in forensic cases. Forensic Science International [online]. 244, 247–251. ISSN 03790738. Dostupné z: doi:10.1016/j.forsciint.2014.09.005

Bedford ME, Russell KF, Lovejoy CO, Meindl RS, Simpson SW, Stuart-Macadam PL 1993. Test of the multifactorial aging method using skeletons with known ages-at-death from the grant collection. American Journal of Physical Anthropology [online]. 91(3), 287–297. ISSN 0002-9483, 1096-8644. Dostupné z: doi:10.1002/ajpa.1330910304

Benesty J, Chen J, Huang Y, Cohen I, 2009. Pearson Correlation Coefficient. In: Israel Cohen, Yiteng Huang, Jingdong Chen a Jacob Benesty Noise Reduction in Speech Processing [online]. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, Springer Topics in Signal Processing, s. 1–4 [vid. 2021-07-21]. ISBN 978-3-642-00295-3. Dostupné z: doi:10.1007/978-3-642-00296-0\_5

Berkovitz, Barry KB, Holland GR, Moxham BJ, 2009. Oral Anatomy, Histology and Embryology. ISBN 978-0-7234-3551-8.

Bertrand B, Oliveira-Santos I, Cunha E. 2019. Cementochronology: a validated but disregarded method for age at death estimation. In: Age Estimation [online]. B.m.: Elsevier, s. 169–186 [vid. 2020-07-02]. ISBN 978-0-12-814491-6. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-814491-6.00012-1

Black SM, Ferguson E. 2011. Forensic anthropology: 2000 to 2010. Boca Raton: CRC Press. ISBN 978-1-4398-4588-2.

Blenkin M, Taylor J. 2012. Age estimation charts for a modern Australian population. Forensic Science International [online]. 221(1–3), 106–112. ISSN 03790738. Dostupné z: doi:10.1016/j.forsciint.2012.04.013

Blondiaux J, Gabart N, Bagousse A, Niel C, Tyler E, 2006. Relevance of cement annulations to paleopathology. Paleopathol. Newslett. 135, 4–13.



- Bosshardt DD, Knut AS. 1997. Dental cementum: the dynamic tissue covering of the root. *Periodontology 2000* [online]. 13(1), 41–75. ISSN 0906-6713, 1600-0757. Dostupné z: doi:10.1111/j.1600-0757.1997.tb00095.x
- Brooks S, Suchey JM, 1990. Skeletal age determination based on the os pubis: a comparison of the Acsádi-Nemeskéri and Suchey-Brooks methods. 1990.
- Broucker A, Colard T, Penel G, Blondiaux J, Naji S, 2016. The impact of periodontal disease on cementochronology age estimation. *International Journal of Paleopathology* [online]. 15, 128–133. ISSN 18799817. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijpp.2015.09.004
- Brůžek J, Novotný V, 1999. Jak staří umírali staří Přemyslovci. 3.
- Buckberry JL, Chamberlain AT. 2002. Age estimation from the auricular surface of the ilium: A revised method. *American Journal of Physical Anthropology* [online]. 119(3), 231–239. ISSN 0002-9483, 1096-8644. Dostupné z: doi:10.1002/ajpa.10130
- Buk Z, Kordik P, Bruzek J, Schmitt A, Snorek M. 2012. The age at death assessment in a multi-ethnic sample of pelvic bones using nature-inspired data mining methods. *Forensic Science International* [online]. 220(1–3), 294.e1-294.e9. ISSN 03790738. Dostupné z: doi:10.1016/j.forsciint.2012.02.019
- Cohen J, 1960. A Coefficient of Agreement for Nominal Scales. *Educational and Psychological Measurement* [online]. 20(1), 37–46. ISSN 0013-1644, 1552-3888. Dostupné z: doi:10.1177/001316446002000104
- Colard T, Bertrand B, Naji S, Delannoy Y, Bécart A. 2014. Toward the adoption of cementochronology in forensic context. *International Journal of Legal Medicine* [online]. 132(4), 1117–1124. ISSN 0937-9827, 1437-1596. Dostupné z: doi:10.1007/s00414-015-1172-8
- Colard T, Falgayrac G, Bertrand B, Naji S, Devos O, Balsack C, Delannoy Y, Penel G. 2016. New Insights on the Composition and the Structure of the Acellular Extrinsic Fiber Cementum by Raman Analysis. *PLOS ONE* [online]. 11(12), e0167316. ISSN 1932-6203. Dostupné z: doi:10.1371/journal.pone.0167316
- Cunha E, Université de Coimbra, Grimaud-Herve D, Polet C, Antoine D, Rendu W, Université de Bordeaux-Pacea, 2017. Thèse soutenue le 18 décembre 2017. 310.
- Cunningham C, Scheuer L, Black SM. 2016. *Developmental juvenile osteology*. Second edition. Amsterdam: Elsevier/AP, Academic Press is an imprint of Elsevier. ISBN 978-0-12-382106-5.
- Dean CH, Cabec A, Spiers K, Zhang Y, Garrevoet J. 2018. Incremental distribution of strontium and zinc in great ape and fossil hominin cementum using synchrotron X-ray fluorescence mapping. *Journal of The Royal Society Interface* [online]. 15(138), 20170626. ISSN 1742-5689, 1742-5662. Dostupné z: doi:10.1098/rsif.2017.0626
- Dias PEM, Beaini TL, Melani RFH. 2010. age estimation from dental cementum incremental lines and periodontal disease. 10.

- Dirkmaat D. 2012. *A companion to forensic anthropology*. Malden, MA: Wiley-Blackwell. Blackwell companions to anthropology, 10. ISBN 978-1-4051-9123-4.
- Dudar JC. 1993. Identification of rib number and assessment of intercostal variation at the sternal rib end. (38), 788–797.
- Drozďová E. 2004. *Základy osteometrie*. Brno. Nakladatelství a vydavatelství Nauma.
- Ellingham S, Adserias-Garriga J. 2019. Complexities and considerations of human age estimation. In: *Age Estimation* [online]. B.m.: Elsevier, s. 1–15 [vid. 2020-04-20]. ISBN 978-0-12-814491-6. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-814491-6.00001-7
- Fleischman JM, 2013. A Comparative Assessment of the Chen et al. and Suchey-Brooks Pubic Aging Methods on a North American Sample. *Journal of Forensic Sciences* [online]. 58(2), 311–323. ISSN 00221198. Dostupné z: doi:10.1111/1556-4029.12061
- Francesca KO, Moore EH, Shepard JO, Shelton DK. 1997. The costal cartilages in health and disease [online]. 1997. Dostupné z: doi:10.1148/radiographics.17.3.9153697
- Franklin D. 2010. Forensic age estimation in human skeletal remains: Current concepts and future directions. *Legal Medicine* [online]. 12(1), 1–7. ISSN 13446223. Dostupné z: doi:10.1016/j.legalmed.2009.09.001
- Garvin HM, Passalacqua NV, Uhl NM, Gipson DR, Overbury RS, Cabo LL, 2012. Developments in Forensic Anthropology: Age-at-Death Estimation. In: *A Companion to Forensic Anthropology* [online]. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd, s. 202–223 [vid. 2021-08-04]. ISBN 978-1-118-25537-7. Dostupné z: doi:10.1002/9781118255377.ch10
- Gottlieb B. 1943. Continuous Deposition of Cementum. *The Journal of the American Dental Association* [online]. 30(11), 842–847. ISSN 00028177. Dostupné z: doi:10.14219/jada.archive.1943.0172
- Grosskopf B. 1990. Individualaltersbestimmung mit Hilfe von Zuwachsringen im Zement bodengelagerter menschlicher Zähne. 9.
- Grosskopf B, Mcglynn G. 2011. Age diagnosis based on incremental lines in dental cementum: A critical reflection. *Anthropologischer Anzeiger* [online]. 68(3), 275–289. ISSN 0003-5548. Dostupné z: doi:10.1127/0003-5548/2011/0004
- Gustafson G, Odont D. 1950. Age Determinations on Teeth. *The Journal of the American Dental Association* [online]. 41(1), 45–54. ISSN 00028177. Dostupné z: doi:10.14219/jada.archive.1950.0132
- Hartnett KM, 2010. Analysis of Age-at-Death Estimation Using Data from a New, Modern Autopsy Sample-Part I: Pubic Bone: Age-at-death estimation using the pubic bone. *Journal of Forensic Sciences* [online]. 55(5), 1145–1151. ISSN 00221198. Dostupné z: doi:10.1111/j.1556-4029.2010.01399.x
- Hens SM, Rastelli E, Belcastro G. 2008. Age Estimation from the Human Os Coxa: A Test on a Documented Italian Collection. *Journal of Forensic Sciences* [online]. 53(5), 1040–1043. ISSN 00221198, 15564029. Dostupné z: doi:10.1111/j.1556-4029.2008.00818.x

- Hoppa RD, Fitzgerald CM. 1999. Human growth in the past: studies from bones and teeth. Cambridge, U.K. ; New York: Cambridge University Press. Cambridge studies in biological and evolutionary anthropology, 25. ISBN 978-0-521-63153-2.
- Howells WW. 1973. Cranial variation in man: a study by multivariate analysis of patterns of difference among recent human populations. Papers of the Peabody Museum of Archaeology and Ethnology. Cambridge: MA:Harvard University Press.
- Huffman M, Antoine D. 2018. Analysis of Cementum Layers in Archaeological Material. Dental Anthropology Journal [online]. 23(3), 67–73. ISSN 1096-9411. Dostupné z: doi:10.26575/daj.v23i3.79
- Charles DK, Condon K, Cheverud JM, Buikstra JE. 1986. Cementum annulation and age determination in *Homo sapiens*. I. Tooth variability and observer error. American Journal of Physical Anthropology [online]. 71(3), 311–320. ISSN 0002-9483, 1096-8644. Dostupné z: doi:10.1002/ajpa.1330710306
- Cho MI, Garant PR. 2000. Development and general structure of the periodontium. Periodontology 2000 [online]. 24(1), 9–27. ISSN 0906-6713, 1600-0757. Dostupné z: doi:10.1034/j.1600-0757.2000.2240102.x
- Christensen AM, Passalacqua NV, Bartelink EJ. 2014. Forensic anthropology: current methods and practice. Oxford ; San Diego, California: Academic Press. ISBN 978-0-12-418671-2.
- Igarashi Y, Uesu K, Wakebe T, Kanazawa E. 2005. New method for estimation of adult skeletal age at death from the morphology of the auricular surface of the ilium. American Journal of Physical Anthropology [online]. 128(2), 324–339. ISSN 0002-9483, 1096-8644. Dostupné z: doi:10.1002/ajpa.20081
- İşcan MY, Steyn M. 2013. The human skeleton in forensic medicine. Third edition. Springfield, Illinois, U.S.A: Charles C Thomas Publisher, LTD. ISBN 978-0-398-08878-1.
- ISCAN, Yasar M., S. LOTH a R. WRIGHT, 1985. Age Estimation from the Rib by Phase Analysis: White Females [online]. (3.), Vol.30, 853–863. ISSN 0022-1198. Dostupné z: doi:10.1520/JFS11018J
- İşcan MY, Loth S, Wright R, 1985. Age Estimation from the Rib by Phase Analysis: White Females [online]. (3.), Vol.30, 853–863. ISSN 0022-1198. Dostupné z: doi:10.1520/JFS11018J
- Kagerer, Grupe PG, 2002. On the validity of individual age-at-death diagnosis by incremental line counts in human dental cementum. Technical considerations. Anthropologischer Anzeiger [online]. 59(4), 331–342. ISSN 0003-5548. Dostupné z: doi:10.1127/anthranz/59/2002/331
- Kashyap VK, Koteswara NRR, 1990. A modified Gustafson method of age estimation from teeth. Forensic Science International [online]. 47(3), 237–247. ISSN 03790738. Dostupné z: doi:10.1016/0379-0738(90)90293-8
- Key CA, Aiello LC, Molleson T, 1994. Cranial suture closure and its implications for age estimation. International Journal of Osteoarchaeology [online]. 4(3), 193–207. ISSN 1047-482X, 1099-1212. Dostupné z: doi:10.1002/oa.1390040304

- King JB, 1939. Calcification of the Costal Cartilages. *The British Journal of Radiology* [online]. 12(133), 2–12. ISSN 0007-1285, 1748-880X. Dostupné z: doi:10.1259/0007-1285-12-133-2
- Kronfeld R, 1938. The Biology of Cementum. *The Journal of the American Dental Association and The Dental Cosmos* [online]. 25(9), 1451–1461. ISSN 03758451. Dostupné z: doi:10.14219/jada.archive.1938.0238
- Kvaal SI, Kolltveit KM, Thomsen IO, Solheim T, 1995. Age estimation of adults from dental radiographs. *Forensic Science International* [online]. 74(3), 175–185. ISSN 03790738. Dostupné z: doi:10.1016/0379-0738(95)01760-G
- Lamendin H, Zerilli A, Baccino E, Tavernier JC, Humbert JF, Nossintchouk RM, 1992. A Simple Technique for Age Estimation in Adult Corpses: The Two Criteria Dental Method [online]. 1992(5). ISSN 0022-1198. Dostupné z: doi:10.1520/JFS13327J
- Langley NR, Tersigni-Tarrant MT, 2017. Forensic Anthropology. *Forensic Anthropology*. 465.
- Lehninger AL, Nelson DL, Cox MM, 2013. *Lehninger principles of biochemistry*. 6th ed. New York: W.H. Freeman. ISBN 978-1-4292-3414-6.
- Lieberman DE, 1993. Life history variables preserved in dental cementum microstructure. *Science* [online]. 261(5125), 1162–1164. ISSN 0036-8075, 1095-9203. Dostupné z: doi:10.1126/science.8356448
- Lieberman DE, 1994. The Biological Basis for Seasonal Increments in Dental Cementum and Their Application to Archeological Research. (21), 525–539.
- Lieberman DE, Meadow RH, 1992. The biology of cementum increments (with an archaeological application). *Mammal Review* [online]. 22(2), 57–77. ISSN 0305-1838, 1365-2907. Dostupné z: doi:10.1111/j.1365-2907.1992.tb00120.x
- Lips P, 2006. Vitamin D physiology. *Progress in Biophysics and Molecular Biology* [online]. 92(1), 4–8. ISSN 00796107. Dostupné z: doi:10.1016/j.pbiomolbio.2006.02.016
- Lovejoy CO, Meindl RS, Pryzbeck TR, Mensforth RP, 1985. Chronological metamorphosis of the auricular surface of the ilium: A new method for the determination of adult skeletal age at death. *American Journal of Physical Anthropology* [online]. 68(1), 15–28. ISSN 0002-9483, 1096-8644. Dostupné z: doi:10.1002/ajpa.1330680103
- Magitot E, 1878. *Treatise on Dental Caries*. 301.
- McKern SW, Stewart TD, 1957. *Skeletal Age Changes in Young American Males: Analysed from the Standpoint of Age Identification*. Natick, MA: Headquarters Q.M. Res. and Dev. Command, Tech. Rep., EP-45
- Meckel LA, 2016. The utility of dental cementum increment analysis for estimating season-of-death in naturally decomposed skeletons. 62.
- Meindl RS, Lovejoy CO, 1985. Ectocranial suture closure: A revised method for the determination of skeletal age at death based on the lateral-anterior sutures. *American Journal*

- of Physical Anthropology [online]. 68(1), 57–66. ISSN 0002-9483, 1096-8644. Dostupné z: doi:10.1002/ajpa.1330680106
- Merritt C, 2013. Testing the accuracy of adult skeletal age estimation methods: original methods versus revised and newer methods. 12(1), 18.
- Merwin DR, Harris EF, 1998. Sibling similarities in the tempo of human tooth mineralization. Archives of Oral Biology [online]. 43(3), 205–210. ISSN 00039969. Dostupné z: doi:10.1016/S0003-9969(98)00003-X
- Mchugh, Mary L., 2012. Interrater reliability: the kappa statistic. 15. říjen 2012.
- Milner GR, Wood JW, Boldsen JL, 2018. Paleodemography: problems, progress, and potential. In: Biological Anthropology of the Human Skeleton [online]. Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc., s. 593–633 [vid. 2020-07-30]. ISBN 978-1-119-15164-7. Dostupné z: doi:10.1002/9781119151647.ch18
- Mitchell B, 1967. Growth Layers in Dental Cement for Determining the Age of Red Deer (*Cervus elaphus* L.). The Journal of Animal Ecology [online]. 36(2), 279. ISSN 00218790. Dostupné z: doi:10.2307/2912
- Moorrees FAC, Fanning EA, Hunt EE, 1963. Age Variation of Formation Stages for Ten Permanent Teeth. Journal of Dental Research [online]. 42(6), 1490–1502. ISSN 0022-0345, 1544-0591. Dostupné z: doi:10.1177/00220345630420062701
- Mulhern DM, Jones EB, 2005. Test of revised method of age estimation from the auricular surface of the ilium. American Journal of Physical Anthropology [online]. 126(1), 61–65. ISSN 0002-9483, 1096-8644. Dostupné z: doi:10.1002/ajpa.10410
- Naji S, Colard T, Blondiaux J, Bertrand B, D'incau E, Bocquet-Appel JP, 2016. Cementochronology, to cut or not to cut? International Journal of Paleopathology [online]. 15, 113–119. ISSN 18799817. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijpp.2014.05.003
- Nawrocki SP, 2010. The nature and sources of error in the estimation of age at death from the human skeleton. In: Latham, KE, Finnegan M. (Eds.), Age estimation of the human skeleton. CC Thomas, Springfield, pp. 79 - 101.
- Nikita E, 2017. Osteoarchaeology: a guide to the macroscopic study of human skeletal remains. Amsterdam: Elsevier/Academic Press. ISBN 978-0-12-804021-8.
- Ohtani S, Yamamoto T, 2010. Age Estimation by Amino Acid Racemization in Human Teeth: Cases of age estimation from human teeth. Journal of Forensic Sciences [online]. 55(6), 1630–1633. ISSN 00221198. Dostupné z: doi:10.1111/j.1556-4029.2010.01472.x
- Ontonell FK, Moore EH, Shepard JO, Shelton DK, 1997. The costal cartilages in health and disease [online]. 1997. Dostupné z: doi:10.1148/radiographics.17.3.9153697
- Osborne DL, Simmons TL, Nawrocki SP, 2004. Reconsidering the Auricular Surface as an Indicator of Age at Death. Journal of Forensic Sciences [online]. 49(5), 1–7. ISSN 0022-1198. Dostupné z: doi:10.1520/JFS2003348

- Pearson K, 1896. "Mathematical contributions to the theory of evolution.—III. Regression, heredity and panmixia," *Philos. Trans. R. Soc. London, ser. A*, vol. 187, pp. 253–318, 1896.
- Ralston CE, 2016. Dental cementum increment analysis and estimating season at death in humans. 85.
- Ries W, Pöthig D, 1984. Chronological and biological age. *Experimental Gerontology* [online]. 19(3), 211–216. ISSN 05315565. Dostupné z: doi:10.1016/0531-5565(84)90041-X
- Rissech C, Estabrook GF, Cunha E, Malgosa A, 2006. Using the Acetabulum to Estimate Age at Death of Adult Males. *Journal of Forensic Sciences* [online]. 51(2), 213–229. ISSN 0022-1198, 1556-4029. Dostupné z: doi:10.1111/j.1556-4029.2006.00060.x
- Ritz-Timme S, Cattaneo C, Collins MJ, Waite ER, Schütz HW, Kaatsch HJ, Borrman HIM, 2000. Age estimation: The state of the art in relation to the specific demands of forensic practise. *International Journal of Legal Medicine* [online]. 113(3), 129–136. ISSN 0937-9827, 1437-1596. Dostupné z: doi:10.1007/s004140050283
- Rouge-Maillart C, Jousset VB, Chappard N, Telmon D, Cunha E. (2009). Development of a method to estimate skeletal age at death in adults using the acetabulum and the auricular surface on a Portuguese population. *Forensic Science International*, 188: 91–95
- Ruengdit S, Prasitwattanaseree S, Mekjaidee K, Sinthubua A, Mahakkanukrauh P, 2018. Age estimation approaches using cranial suture closure: A validation study on a Thai population. *Journal of Forensic and Legal Medicine* [online]. 53, 79–86. ISSN 1752928X. Dostupné z: doi:10.1016/j.jflm.2017.11.009
- Salmon CR, Giorgetti APO, Paes Leme AF, Domingues RR, Sallum EA, Alves MC, Kolli TN, Foster BL, Nociti FH, 2016. Global proteome profiling of dental cementum under experimentally-induced apposition. *Journal of Proteomics* [online]. 141, 12–23. ISSN 18743919. Dostupné z: doi:10.1016/j.jprot.2016.03.036
- San-Millán M, Rissech C, Turbón D, 2017. New approach to age estimation of male and female adult skeletons based on the morphological characteristics of the acetabulum. *International Journal of Legal Medicine* [online]. 131(2), 501–525. ISSN 0937-9827, 1437-1596. Dostupné z: doi:10.1007/s00414-016-1406-4
- Saygin NE, Giannobile WV, Somerman MJ, 2000. Molecular and cell biology of cementum. *Periodontology 2000* [online]. 24(1), 73–98. ISSN 0906-6713, 1600-0757. Dostupné z: doi:10.1034/j.1600-0757.2000.2240105.x
- Schmidt R, Risser DU, Kanz F, 2014. Tooth Cementum Annulation (TCA) in Age-known Individuals from Subtropical Thailand.
- Schroeder HE, 1993. Human cellular mixed stratified cementum: a tissue with alternating layers of acellular extrinsic- and cellular intrinsic fiber cementum. 1993.
- Solheim T, Vonen A, 2006. Dental age estimation, quality assurance and age estimation of asylum seekers in Norway. *Forensic Science International* [online]. 159, S56–S60. ISSN 03790738. Dostupné z: doi:10.1016/j.forsciint.2006.02.016

Spradley MK, Jantz RL, Robinson A, Peccerelli F, (2008). Demographic change and forensic identification: Problems in metric identification of Hispanic skeletons. *Journal of Forensic Sciences* 53(1): 21–28

Stock SR, Finney LA, Telser A, Maxey E, Vogt S, Okasinski JS, 2017. Cementum structure in Beluga whale teeth. *Acta Biomaterialia* [online]. 48, 289–299. ISSN 17427061. Dostupné z: doi:10.1016/j.actbio.2016.11.015

Stott GG, Sis RF, Levy BM, 1982. Cemental Annulation as an Age Criterion in Forensic Dentistry. *Journal of Dental Research* [online]. 61(6), 814–817. ISSN 0022-0345, 1544-0591. Dostupné z: doi:10.1177/00220345820610063401

Thesleff I, Sharpe P, 1997. Signalling networks regulating dental development. *Mechanisms of Development* [online]. 67(2), 111–123. ISSN 09254773. Dostupné z: doi:10.1016/S0925-4773(97)00115-9

Todd TW, 1920. Age changes in the pubic bone. I. The male white pubis. *American Journal of Physical Anthropology* [online]. 3(3), 285–334. ISSN 0002-9483, 1096-8644. Dostupné z: doi:10.1002/ajpa.1330030301

Ubelaker DH, Khosrowshahi H, 2019. Estimation of age in forensic anthropology: historical perspective and recent methodological advances. *Forensic Sciences Research* [online]. 4(1), 1–9. ISSN 2096-1790, 2471-1411. Dostupné z: doi:10.1080/20961790.2018.1549711

Wedel VL, 2007. Determination of Season at Death Using Dental Cementum Increment Analysis. *Journal of Forensic Sciences* [online]. 0(0), 070917231752004-??? ISSN 0022-1198, 1556-4029. Dostupné z: doi:10.1111/j.1556-4029.2007.00546.x

Wedel, Vicki L, 2015. Using dental cementum increment analysis to estimate age and season of death in African Americans from an historical cemetery in Missouri. 6.

Wittwer-Backofen U, 2012. Age Estimation Using Tooth Cementum Annulation. In: Lynne S. Bell, ed. *Forensic Microscopy for Skeletal Tissues* [online]. Totowa, NJ: Humana Press, *Methods in Molecular Biology*, s. 129–143 [vid. 2020-08-15]. ISBN 978-1-61779-976-1. Dostupné z: doi:10.1007/978-1-61779-977-8\_8

Wittwer-Backofen U, Gampe J, Vaupel JW, 2004. Tooth cementum annulation for age estimation: Results from a large known-age validation study. *American Journal of Physical Anthropology* [online]. 123(2), 119–129. ISSN 0002-9483, 1096-8644. Dostupné z: doi:10.1002/ajpa.10303

Zvárová, J., 2011. *Biomedicínská statistika I.*, Karolinum

## 10 Seznam webových stránek

- URL 1 - Stavba zubu – Úloha genu pro msx 1. V patogenezi hypodontie. [online]. Copyright © be.convdocs.org 2012 [cit.15.07.2021.].  
Dostupné z: <https://be.convdocs.org/docs/index-48243.html?page=3>
- URL 2 - Solar energy and latitude. CK-12.org. [online]. Copyright © CK  
[cit.20.08.2020.]. Dostupné z: <https://www.ck12.org/earthvěkscience/solar-energy-and-latitude/lesson/Solar-Energy-and-Latitude-MS-ES/>