

Univerzita Karlova v Praze

Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Biologie

Katedra antropologie a genetiky člověka



Jan Cvrček

Možnosti ověření biologické příbuznosti u anonymních lidských kosterních pozůstatků

The possibilities of the verification of biological kinship at anonymous human skeletal remains

Bakalářská práce

Vedoucí práce

RNDr. Petr Velemínský, Ph. D

Praha, 2013

Prohlášení

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

V Praze dne 14. 5. 2013

Podpis

Jan Cvrček

Poděkování

Rád bych vyjádřil poděkování mému školiteli, panu RNDr. Petru Velemínskému, Ph. D., za jeho vstřícnost, ochotu a cenné rady při tvorbě této práce.

Abstrakt

Práce přináší shrnutí dosavadních znalostí o možnostech ověřování biologické příbuznosti u anonymních lidských kosterních pozůstatků. Cílem je představit výhody a nevýhody jednotlivých metod ověřování biologické příbuznosti, a jejich srovnání. U každé metody je přehled hlavních výzkumů se zaměřením na studie posledních tří desetiletí. Práce je rozdělena na dvě hlavní části; a) první se zabývá metodami fyzické antropologie, zahrnující nemetrické a metrické znaky na lidské kostře, nemetrické a metrické dentální znaky a vedlejší obličejové dutiny, b) druhá část práce se zabývá metodami molekulární antropologie, zahrnující analýzu DNA a analýzu krevních skupin.

Klíčová slova: analýza příbuznosti, nemetrické znaky, dentální znaky, metrická analýza, DNA analýza

Abstract

This research presents the summary of existing knowledges about verification of biological kinship at anonymous human skeletal remains. Aim is presenting of advantages and disadvantages for each method of verification of biological kinsip, and their comparison. For each method, there is a survey of main studies focusing on the studies of the past three decades. The research is divided into two main parts; a) the first deals with methods of physical anthropology, including non-metric and metric traits on the human skeleton, non-metric and metric odontological traits and facial cavities, b) the second part deals with methods of molecular anthropology, including DNA analysis and analysis of blood groups.

Key words: kinship analysis, non-metric traits, odontological traits, metric analysis, DNA analysis

Obsah

1	Úvod.....	3
2	Zjišťování biologické příbuznosti metodami fyzické antropologie.....	4
2.1	Morfologické znaky lidské kostry	4
2.1.1	Nemetrické znaky na kostře	4
2.1.1.1	Obecné metody.....	4
2.1.1.2	Kazuistiky.....	6
2.1.2	Nemetrické dentální znaky	11
2.1.2.1	Obecné metody.....	11
2.1.2.2	Kazuistiky.....	12
2.1.3	Vedlejší obličejové dutiny.....	13
2.1.3.1	Metody.....	14
2.1.3.2	Kazuistiky.....	14
2.2	Metrické znaky	15
2.2.1	Metody.....	15
2.2.2	Kazuistiky.....	16
2.2.3	Vzorová profilová analýza	18
2.2.4	Metrické dentální znaky	20
2.2.4.1	Kazuistiky.....	20
3	Statistické metody	21
3.1	Nemetrické znaky na kostře	22
3.2	Nemetrické dentální znaky	22
3.3	Metrické znaky	23
4	Zjišťování biologické příbuznosti molekulárními metodami	24
4.1	Analýza DNA z kosterních pozůstatků	24
4.1.1	Metody.....	24
4.1.2	Kazuistiky.....	26
4.2	Určení krevních skupin z kosterních pozůstatků a zbytků měkkých tkání.....	29
4.2.1	Metody.....	29

4.2.2	Kazuistiky.....	30
5	Závěr.....	32
6	Seznam použité literatury.....	33
7	Přílohy	40

1 Úvod

Biologickou příbuznost můžeme ověřovat či zjišťovat mezi jedinci pochovanými v rámci jednoho pohřebiště, resp. mezi jedinci pochovanými ve společném hrobě (hrobové jámy). Zásadní roli vždy hrají i archeologické indicie pro biologickou příbuznost.

Za „anonymní lidské kosterní pozůstatky“ sensu lato můžeme považovat zcela anonymní pozůstatky minulých populací odkryté při archeologických výzkumech, a také v danou chvíli anonymní pozůstatky lidí, kteří zemřeli v nedávné době a k určení příbuzenských vztahů tak může sloužit dochovaná dokumentace a historické prameny, jejichž použitím může dojít ke ztotožnění a pozůstatky přestávají být anonymní. Soubory se známými genealogickými údaji jsou velmi cenné pro testování nových metod pro aplikaci u ryze anonymních pozůstatků. Bohužel, takovýchto souborů bylo do dnešní doby zkoumáno jen velmi málo a jen málokterý takový soubor je pro výzkumné účely trvale k dispozici.

Základní hypotézou při ověřování biologické příbuznosti je, že pro každou rodinu (skupinu geneticky souvisejících jedinců) existuje soubor dědičných fenotypových znaků typických pro danou rodinu (Alt a Vach, 1995a,b), nebo existují větší metrické podobnosti mezi předpokládanými příbuznými ve srovnání s referenčním standardem (Stojanowski a Schillaci, 2006).

Analýza příbuznosti může být také v praxi použita v medicíně při testech paternity, identifikacích neznámých osob, obětí zločinu či hromadných katastrof (Leclair et al., 2004), atd.

Nevýhodou metod fyzické antropologie při určování biologické příbuznosti je snižující se podobnost mezi dvěma jedinci s přibývajícemi generacemi (Case, 2003). Každý nový nepřibuzný člen rodiny (příženěný nebo přivdaný rodič) přináší novou variabilitu.

Ověřování biologické příbuznosti metodami fyzické antropologie (morfologické a metrické znaky) je s nástupem nových technologií pomalu vytěšňováno metodami molekulární antropologie (analýza DNA). Tyto technologie mají tu výhodu, že jsou poměrně přesné (záleží však na zachovalosti materiálu), oproti tomu jsou ale stále časově a finančně náročné.

2 Zjišťování biologické příbuznosti metodami fyzické antropologie

2.1 Morfologické znaky lidské kostry

Ověření biologické příbuznosti bylo nejčastěji provedeno na základě morfologické stavby lidské kostry. Mezi morfologické znaky lidské kostry patří vnější nemetrické znaky, nemetrické dentální znaky, vedlejší obličejové dutiny a klasické popisné, morfognostické znaky. Tedy takové znaky, které nelze měřit, ale lze zjišťovat jejich přítomnost nebo absenci, a tvar.

Na rozdíl od DNA mají morfologické znaky nevýhodu, že nedokážou příbuzenské vztahy potvrdit a až na výjimky (soubory s dochovanou dokumentací) jimi není možné příbuzenské vztahy blíže určit a rekonstruovat rodokmen.

2.1.1 Nemetrické znaky na kostře

2.1.1.1 *Obecné metody*

Základem ověřování biologické příbuznosti touto metodou je porovnávání jedinců, jejich podobnosti na základě výskytu populačně vzácných (nemetrických či diskrétních) znaků (Alt a Vach, 1991; Alt et al., 1995; Alt et al., 1998; Stojanowski a Schillaci, 2006). Posuzované znaky by měly splňovat několik základních kritérií (Alt a Vach, 1995a,b; Alt et al., 1995; Alt et al., 1998), a sice 1) vysoká míra dědičnosti znaku, 2) nízký výskyt znaku v populaci, 3) nezávislost znaku na věku, 4) nezávislost znaku na pohlaví, 5) vzájemná nezávislost znaků, 6) snadno zaznamatelné. Výsledkem je vždy míra (pravděpodobnost) možné příbuznosti, k vyhodnocení analýzy se velmi často používá statistika. Nejvhodnějšími se zdají být znaky s monogenní dědičností (Alt et al., 1998), těch ale není mnoho.

Znaky vybrané pro analýzu lze rozdělit do tří skupin: 1) vzácné, 2) neobvyklé (méně běžné), 3) obvyklé (Case, 2003). Vzácné znaky jsou ty, které se obvykle vyskytují ve frekvenci $\leq 0,1\%$ u Evropské nebo Euroamerické populace. U rodin může být jejich frekvence vyšší, a proto se velmi dobře hodí pro příbuzenskou analýzu. Označení „vzácné“ se používá na základě pevné frekvence znaku u souboru čítajícího ≥ 1000 jedinců, nebo informace o relativní četnosti skupiny znaků, u kterých je informace o pevné frekvenci k dispozici u podobných, ale více běžných znaků. Například lunatotriquetrální koalice je sice jednou ze dvou nejčastějších forem karpální koalice, ale vyskytuje se o frekvenci cca $0,1\%$. Z toho důvodu se u méně běžných karpálních koalic také předpokládá výskyt o frekvenci $\leq 0,1\%$.

Neobvyklé (méně běžné) znaky se u většiny Evropské populace vyskytují ve frekvenci $0,2 - 5\%$ (Case, 2003). S cílem podpořit rodinnou vazbu mezi dvěma nebo více jedinci sdílejícími neobvyklý znak je nutné prokázat statisticky vyšší frekvenci ve studované populaci než v referenční populaci.

Obvyklé (běžné) znaky jsou ty, které se vyskytují v dostatečně vysoké frekvenci, aby mohly být snadno přítomny náhodou u dvou jedinců, aniž by naznačovaly vztah (Case, 2003). Aby byly takové znaky pro příbuzenskou analýzu užitečné, musí být alespoň dva znaky sdílené dvěma nebo více jedinci v rámci daného hřbitova, a počet osob sdílejících znaky musí být statisticky významně vyšší, než by se očekávalo náhodou.

Tab. 1. Rozdělení některých znaků podle frekvence u Evropské populace (Case, 2003)		
Vzácné ≤ 0,1%	Neobvyklé 0,2 – 5%	Obvyklé > 5%
Koalice <i>os lunatum - triquetrum</i>	<i>Sutura mendosa</i>	<i>Sutura metopica</i>
Řada karpálních koalic	<i>Ossiculum lamboideum</i>	<i>Ossiculum epiptericum</i>
Řada tarzálních koalic	<i>Ossiculum bregmaticum</i>	<i>Ossiculum lambdoideum</i>
Okcipitální asimilace atlasu*	Kraniosynostózy; Brachydaktylie	<i>Ossiculum asterii</i>
<i>Os lunatum bipartitum</i> *	Koalice <i>thalus – calcaneus</i>	<i>Torus maxillaris</i>
Sekundární <i>os naviculare</i> *	Koalice <i>os trapezium - trapezoideum</i>	<i>Torus mandibularis</i>
<i>Os vesalium</i> *	Koalice <i>os capitatum - hamatum</i>	Sekundární patní kosti

* tyto znaky jsou považovány za vzácné, ale informace o pevné frekvenci nebo relativním výskytu chybí (Case, 2003).

U velmi vzácných znaků (polydaktylie nebo karpální koalice) je pravděpodobnost výskytu dvou různých genetických linií se stejným znakem relativně nízká, ale u znaků s vyšší frekvencí (metopismus, hypodoncie třetích molárů) je ale pravděpodobnost výskytu ve více rodokmenech mnohem vyšší.

Při posuzování frekvence znaků je důležitá populační příslušnost pozůstatků, neboť frekvence daných znaků nemusí být u všech populací stejná. Např. Hanihara a Ishida (2001) se zabývali frekvencí 4 nemetrických znaků (*ossiculum lambdae*, *ossiculum asterii*, *ossiculum incisurae parietalis*, *ossiculum suturae occipomastoideae*) u majoritních populací, jejich lateralizací, vzájemnou korelací a pohlavními rozdíly. Výsledky potvrzují variabilitu povahy znaků mezi zkoumanými populacemi.

Často se zdůrazňuje nedostatek znalostí o etiologii nemetrických znaků (Hauser a De Stefano, 1989; Spence, 1996; Case, 2003; Carson, 2006), především ve smyslu dědičnosti znaků (většina znaků má polygenní dědičnost), vlivu vnějšího prostředí na znaky (Leroux, 2012), a několik prací (např. Ullrich 1969; Stuchlíková et al., 1985; Rösing, 1990) kvůli tomu bylo kritizováno (Alt a Vach, 1998). To se částečně změnilo při verifikacích u souborů s jedinci se známými příbuzenskými vztahy. Do sporů ohledně etiologie a použitelnosti nemetrických a metrických znaků také zasahovaly práce zkoumající dědičnosti např. u Makaků rhesus (*Macaca mulatta*), (Cheverud a Buikstra, 1981; Richtsmeier et al., 1984). Ty ukázaly výrazně vyšší dědičnost nemetrických znaků vůči metrickým,

tento rozdíl byl ale dán vysokou dědičností hyperostotických nemetrických znaků, zatímco dědičnost otvorů (*foramina*) se od metrických znaků výrazně nelišila. Na jejich závěry navázali Richtsmeier a McGrath (1986) výzkumem nemetrických znaků u myši (*Mus musculus*).

Použití těchto znaků k ověření biologické příbuznosti je vhodné, ale hodnota nemetrických znaků by se neměla přeceňovat (Velemínský a Dobisíková, 2005), s čímž souhlasí i další autoři (Ricaud et al., 2010).

Z řady výzkumů (hromadných hrobů a především struktury hřbitovů) vyplynulo, že vzájemnou příbuznost často vykazuje jedno pohlaví více než druhé, nejčastěji muži. Lze to vysvětlit častou tradicí odchodu žen do místa bydliště svých manželů po svatbě (Case, 2003; Velemínský a Dobisíková, 2005; Drozdová, 2006; atd.). Nicméně tento jev je již výsledkem příbuzenské analýzy, a nemá žádný vliv na výběr a použití samotných znaků.

Stěžejní studie věnovaná přehledu nemetrických kraniálních znaků je práce manželů Berryových (Berry a Berry, 1967). Z metodického hlediska hodnocení nemetrických či diskretních kraniálních znaků se dnes vychází především z práce Hauser a De Stefano (1989) či Wiltschke-Schrotta (1988), u nemetrických postkraniálních znaků se vychází z práce Finnegan a Faust (1974).

2.1.1.2 Kazuistiky

Ověřování biologické příbuznosti pomocí nemetrických znaků na kostře není jen otázkou poslední doby. Dříve ale byly nemetrické znaky na kostře považovány především za rarity. Někteří si ale již uvědomovali jejich možné využití pro ověření biologické příbuznosti. Za první studii zabývající se rodinným výskytem nemetrického znaku (deprese temenních kostí), je práce Shepherda (1893).

Pro ověřování biologické příbuznosti má zásadní význam výzkum Herberta Ullricha (1969), který se jako první systematicky zabýval ověřováním biologické příbuznosti u kosterních pozůstatků a zavedl tzv. polysymptomatickou podobnostně rodovou diagnózu (polysymptomatische Ähnlichkeit-Verwandschaftsdiagnose). Předmětem jeho výzkumu bylo pět sociálně výše postavených jedinců z pohřebiště na poloostrově Pulitz v Německu. Jednalo se o tři dospělé muže, jednu dospělou ženu, a úlomky pozůstatků dítěte. Každý jedinec byl pohřben v samostatném hrobě. Ověřování biologické příbuznosti bylo založeno na kombinaci různých přístupů (charakteristik): hodnocení nemetrických a morfognostických znaků na kostře, metrických znaků, sérologie, patologií, atd. Autor dělil znaky charakteristik na shodné, podobné a odlišné. Podle tohoto kritéria byla každému znaku přiřazena číselná hodnota, u nemetrických znaků v případě shody +2, podobnosti +1 a odlišnosti -1. Každý jedinec je charakterizován výslednou hodnotou, součtem hodnot znaků všech charakteristik. Podobné hodnoty ukazují na příbuzné jedince. V tomto případě pěti jedinců výsledky potvrzovaly předpoklad příbuznosti, a sice že muži IV a I jsou bratři, muž IV je otcem muže III a muž I je otcem ženy II. Žena

II by mohla být matkou dítěte V. Podle mého názoru je nutné, vzhledem k malému počtu zkoumaných jedinců, považovat výsledky za orientační.

Mezi lety 100 a 1800 n. l. bylo u Steinu nad Rýnem ve Švýcarsku pohřbeno asi 250 jedinců s rozlišením 6 časových horizontů, u kterých se příbuznost předpokládala (Rösing, 1986). K analýze příbuznosti byly použity nemetrické i morfognostické znaky. Významný je zvláštní tvar brady, u obou pohlaví silně prominentní se dvěma hrboly, nad nimiž je silná rýha. Znak se nachází ve všech časových horizontech s frekvencí 5-10%. Charakteristické jsou také vzácnější vsuté kůstky. Z méně vzácných znaků se vyskytuje hypodoncie, absence třetího moláru v dolní čelisti. Pozůstatky byly porovnány s dalšími nalezišti v okolí (Phyn, Hallau), a na žádné lokalitě se tyto znaky neobjevují ani v kombinaci, ani samostatně. Patologické příčiny tvaru brady (akromegalie) byly vyloučeny, a kvůli četnosti znaku se nepovažuje za normální znak morfologické variability. Tento znak by se ale dal považovat za znak populace žijící na tomto místě.

Z pohřebiště maďarských králů v Szekesfeherváru, které zkoumal J. Nemeskéri, je známo 35 jedinců, u kterých byla příbuznost známá (Rösing, 1986). Při analýze se uplatnily kraniální diskrétní znaky. Pomocí nemetrických znaků bylo podle autora možné plnohodnotně rekonstruovat rodokmen. Objevil se zvláštní znak s dědivostí u pokrevně příbuzných, a sice sakralizace 5. bederního obratle (L5).

Na pohřebišti Quebbet el Hawa v Egyptě se nemetrické znaky celkově ukázaly jako nevhodné (Rösing, 1986; Rösing, 1990). Nicméně v hrobu č. 89 s třiceti šesti jedinci se našla skupina znaků, naznačující, že by mohlo jít o příslušníky jedné rodiny (např. *tuberculum praecondylare*, *foramen ethmoidale posteriori*, *foramen palatinum minus* a nakonec *depressio biparietalis circumscripta*, která se dá odvodit o od vlastníka hrobu a zakladatele rodiny Sebek-Hotep).

Kelley (1989) se zabýval identifikací rodinných skupin na hřbitově prvního afrického baptistického kostela ve Filadelfii. Např. *os acromiale* se vyskytovala u 30% zkoumaných jedinců. Bylo pozorováno schéma 17 pohřebních klastrů, 10 z nich obsahovalo jedince se sdílenými znaky. V 9 z těchto klastrů byl alespoň 1 jedinec nesoucí znak spojující tuto osobu s jinými klastry. Na základě těchto výsledků se došlo k závěru poměrně uzavřených rodinných vztahů mezi zkoumanými jedinci.

V roce 1992 byla publikována práce, kde autoři komplexním přístupem (nemetrické znaky, dentální znaky, metrické znaky) studovali rodinné vztahy jedinců na havajském hřbitově v Kailua-Kona (Pietrusewsky a Douglas, 1992). Jednalo se o 16 dospělých, 2 děti a 6 plodů. Výsledky potvrzovaly příbuzenské vztahy zkoumaných jedinců.

Spence (1996) zkoumal pozůstatky z malého rodinného hřbitova rodiny Wiseů. Jednalo se o 6 hrobů, v každém byl pohřbený pouze jeden jedinec. Jednalo se o prarodiče, syna a 3 vnoučata. Analýza příbuznosti proběhla pomocí nemetrických znaků, především kraniálních. Děd (otec) a syn se

shodovali v mnoha znacích (např. *foramen supraorbitalis accesorius*, *torus palatinus*, *foramen squamosus superior*, *sutura mendosa*, redukovaná anteriorní ploška, a přídavná posteriorní ploška kosti hlezenní, atd.), v několika málo znacích (např. *foramen parietale*) byl syn podobný spíše matce. U dětí byla analýza velmi komplikovaná vzhledem k ontogenetickému stavu kostry a špatné zachovalosti pozůstatků, nicméně se v mnoha znacích shodovali s otcem a dědem, anebo navzájem. Výsledky jsou s ohledem na malou velikost souboru považovány za orientační.

Velmi rozsáhlý výzkum proběhl v Dánsku (Case 2003). Předmětem výzkumu bylo 1020 koster vyzvednutých z 10 hřbitovů ze tří oblastí ve středním Dánsku. Podle autora bylo území vybráno pro relativně úzkou časovou periodu (1000 – 1500 n. l.). Výsledky ověřování biologické příbuznosti podle nemetrických znaků nepřinesly očekávané výsledky. V rámci souboru byl nalezen pouze jediný vzácný znak (dvoudílná *os scaphoideum*), který se vyskytoval u tří koster z Gray Fiar (dospělý muž, dospělá žena a dítě ve věku cca 10 let). Tyto osoby jsou považovány s velkou pravděpodobností za biologicky příbuzné. Dospělý muž vykazoval další tři neobvyklé znaky (*os tibiale externum*, blok obratlů C2/C3 a na horní končetině *prosessus supracondylaris*). U dítěte mohly být tyto znaky prozkoumány, u ženy se nevyskytovaly. Neúspěch při ověřování biologické příbuznosti v rámci souboru pravděpodobně nebyl podle autora způsoben špatným výběrem znaků, protože se polovina všech sledovaných znaků vyskytovala u všech souborů ze tří oblastí, ale je možné, že byly sledovány znaky s nízkou dědičností, nebo byl výsledek ovlivněn značnou velikostí souboru, z některých hřbitovů nebyly vyzvednuty všechny kostry, a některé znaky mohly být ovlivněny pohlavím. (Case 2003). Z tohoto pohledu nesouhlasím s tvrzením autora, že výsledek pravděpodobně nebyl způsoben špatným výběrem znaků, neboť právě znaky s nízkou dědičností a ovlivněné pohlavím nesplňují výše uvedená základní kritéria pro jejich použití při ověřování biologické příbuznosti.

Na 18 lebkách hrabat z Celje bylo srovnáváno okolo 30 různých znaků (Slavec, 2004). Na základě historických údajů (demografické a genealogické údaje), zjištění pohlaví a věku na lebkách, a podobnosti vedlejších obličejových dutin (viz podkapitola 2.1.3) byli vytipováni členové rodu a jejich rodiny. Následným srovnáváním nemetrických kraniálních znaků v rámci jednotlivých rodin bylo s přihlédnutím k podobnosti vedlejších obličejových dutin potvrzeno, že lebky s největší pravděpodobností opravdu náležejí vytipovaným, historicky doloženým jedincům a jejich rodinám.

K analýze příbuznosti bylo přikročeno i v případě pohřebiště Egyin Gol v severním Mongolsku, kde bylo v letech 1997-1999 objeveno 84 hrobů ve 3 sektorech obsahujících 99 jedinců z 300 př. n. l. až do 200 n. l. (Ricaud et al., 2010). Bylo posuzováno 66 dospělých. U každého bylo použito 36 nemetrických kraniálních a dentálních znaků. Porovnání na základě morfologických znaků bylo doplněno analýzou DNA. Počet zjištěných biologických příbuzenských vztahů byl pomocí nemetrických znaků o 50% nižší než na základě analýzy DNA.

Zjišťována byla i dědivost přídatných kůstek nohou, v poslední době především *os intermetatarseum* (Case et al., 1998) a přídatná *os naviculare* (Offenbecker a Case, 2012). Výzkum *os intermetatarseum* navazoval na několik starších studií, které popisovaly tento znak jako dědičný (Waters, 1958; Henderson, 1963). Ve studii byla zjišťována frekvence zmíněného znaku u pozůstatků 846 původních Američanů (Indiánů a Inuitů) a 125 moderních Japonců a Ainů. U původních Američanů byla ve srovnání s relativně moderními východními Asiaty obecně zjištěna vyšší frekvence výskytu, což naznačuje vyšší stupeň příbuznosti mezi jednotlivci u amerického souboru. Přídatná *os naviculare* byla podle etiologie rozdělena do 3 typů, a frekvence, lateralita a pohlavní příslušnost II. typu byly zkoumány u pozůstatků 497 Dánů, 460 Euro-Američanů, 300 Afroameričanů, 100 Japonců a 205 Evropanů. Frekvence znaku se ukázala jako nízká, od 2% u Afričanů k 5% u Japonců. U několika rodin byl prokázán tento znak jako dědičný. Dále bylo zjištěno, že se znak vyskytuje častěji jednostranně, a výskyt u mužů a žen je víceméně rovnocenný. Tento znak se tedy jeví jako potenciálně použitelný při ověřování biologické příbuznosti.

U nás se během posledních 25 let odehrály jen tři rozsáhlejší výzkumy kosterních pozůstatků se známými genealogickými vazbami. Vždy se jednalo členy šlechtických rodů se známým rodokmenem. Kromě nich proběhla příbuzenská analýza u několika málo menších souborů, některé byly též podloženy rodokmenem.

Nejrozsáhlejší prací byl výzkum kosterních pozůstatků českých knížat a králů (Vlček 1997, 1999, 2000). Prvních sedm generací Přemyslovců bylo při ověřování biologické příbuznosti rozděleno na dvě skupiny, generace 1 – 3 a 5 – 7 (Vlček, 1997). V prvních třech generacích se našly opakující se znaky, které podpořily hypotézu o genetické příbuznosti. Nápadným znakem byl sklon k předčasné obliteraci lebečních švů. Dalším znakem bylo zesílení kostí lebeční klenby (hyperostosis). U všech zkoumaných jedinců se vyskytovaly pozůstatky švů *sutura metopica* a *sutura supranasalis*. Dále zde byla podobnost ve stavbě čelistních oblouků, nepoměr v rozvoji krajiny bodu glabella a v týle v oblasti bodu inion na týlní kosti, slabý rozvoj svalových úponů týlního svalstva, a tvar očnic. U druhé skupiny, tedy 5. – 7. generace, se objevily některé odlišné vlastnosti. Tendence předčasné obliterace švů zmizela, ale pozůstatky přítomnosti švů byly dále zjištěny u všech zkoumaných jedinců. Stopy po čelním švu nesli i další generace, královští Přemyslovci (Vlček, 1999).

U českých královských Lucemburků se setkáváme s několika výraznými znaky přetrvávajícími po pět generací i u několika rodinných větví (Vlček, 1999). Především se jedná o rozštěp *crista sacralis mediana* u prvního obratle křížové kosti, otevřený míšňový kanál v úseku třetího až pátého křížového obratle (*spina bifida imperfecta* S3 – S5), asymetrii v utváření a velikosti cévních otvorů v příčných výběžcích (*foramina processus transversi*) 6. krční obratle, a oploštělost přední stěny horní čelisti nad předními zuby.

Ověření biologické příbuznosti při výzkumu pozůstatků Habsburků pohřbených v Praze bylo možné jen u rodiny Ferdinanda I. (Vlček, 2000). Ověření se provedlo na základě kraniální morfologie pěti jedinců ve třech generacích, a sice prarodiče, syn a 2 vnoučata. Morfologicky je spojuje klenuté a úzké čelo s nezaříznutou oblastí bodu nasion a plynulým přechodem čelního obrysu do nosního hřbetu, absence nadobočních oblouků a pozůstatky po obliterovaném čelním švu.

Dalším výzkumem byla analýza pozůstatků 8 členů rodu Swéerts – Sporck během opravy hrobky na zámku Kuks (Velemínský a Dobisíková, 2005). Jedinci byli porovnáváni podle 173 nemetrických znaků, 90 z nich bylo umístěno na lebce a 83 na postkraniálním skeletu. Nevyšší shoda byla mezi otcem a synem (nejbližší korelace v přítomnosti a nejmenší rozdíl ve výskytu anatomických variant). Příbuznost byla také zjištěna u bratranců stejného nebo opačného pohlaví. Příbuzenství mezi bratrem a sestrou nebylo tak zřejmé. Největší rozdíl byl pozorován mezi biologicky nepříbuznými rodinnými příslušníky, tedy ženami, které se do rodiny přivdaly. Výsledky jsou s ohledem na malou velikost souboru považovány za orientační.

V letech 2000 – 2005 proběhla oprava hrobky rodu Dietrichsteinů v Mikulově (Drozdová, 2006). Ze 44 členů pochovaných v hrobce bylo zkoumáno 10 jedinců, jejichž rakve byly poškozené časem nebo vykradené. K tomu byly prozkoumány pozůstatky dalších dvou jedinců příbuzných Dietrichsteinům z krypty kostela sv. Václava v Mikulově. Nemetrické znaky byly sledovány především u lebek kvůli špatnému dochování postkraniálních skeletů. Na lebkách nebyl zvýšený výskyt některého ze znaků, spíše se jednalo o nepravidelný výskyt např. *sulcus supraorbitalis* a *foramen supraorbitale*. Některé znaky se ale jednotlivě vyskytovaly u blízce příbuzných jedinců, např. u otce, a syna nebo babičky a vnuka. Na postkraniálním skeletu se např. našla sakralizace obratle L5 u kněžny Karolíny Maxmiliány a jejího syna Karla Maxmiliána Filipa, a přepažení *foramina transversaria* krčních obratlů u dvou dvojic „prarodič – vnouče“. Toto přepažení ale objevilo i u přivdané a pokrevně nepříbuzné ženy.

Při lékařsko-antropologickém výzkumu kosterních pozůstatků rodu Žerotínů v bludovské hrobce byla snaha identifikovat lebku Karla Staršího ze Žerotína (Horáčková, Vargová, 1997). Za tímto účelem byly sledovány dědičné znaky u tří mužských lebek odpovídajícího věku velmože. Nalezlo se sice několik v populaci vzácnějších znaků, ale nebylo podle nich možné rozhodnout, kterou lebku z další analýzy vyřadit. Karlovu lebku se nakonec podařilo identifikovat na základě záznamů o jeho zdravotním stavu a pomocí superprojekce lebky do jeho portréту.

V roce 1985 byly publikovány výsledky analýzy 7 jedinců z větěřovské hrobové jámy ve Velkých Pavlovicích, kde nemetrické i dentální znaky potvrdily hypotézu biologické příbuznosti pochovaných jedinců (Stuchlíková et al., 1985). Při archeologickém výzkumu v Dolních Věstonicích byl v roce 1986 objeven paleolitický trojhrob. Výskyt nemetrických znaků na kostrách naznačil, že by se mohlo jednat o vzájemně příbuzné jedince, a proto byla provedena analýza nemetrických a

odontologických znaků (Alt et al., 1997). Zahrnovala 23 morfologických variant zubních korunek a kořenů, 12 dentálních anomálií a 6 nemetrických znaků na lebce a čelistech. Tři znaky, unilaterální aplázie čelní dutiny, *torus acusticus* a vpáčení třetích molárů, vzhledem ke vzácnému výskytu v populaci (každý 5% a méně) podpořily hypotézu o příbuznosti jedinců. Nově byly tyto výsledky porovnány s analýzou mitochondriální DNA (Kause a Svoboda, 2011; Fu et al., 2013).

2.1.2 Nemetrické dentální znaky

Dentální znaky se pro analýzu biologické příbuznosti jeví jako vhodnější z hlediska zřetelnějšího genetického podkladu a jsou používanější než nemetrické morfologické znaky. Je to dáno tím, že sklovina je nejtvrďší materiál v lidském těle a odolávají tak více vnějším vlivům. Zároveň je možné srovnání znaků na recentní populaci (Alt a Vach, 1994; Alt a Vach 1995a), což se u zubů provádí na rozdíl od ostatních morfologických znaků nejlépe a je tak možné téměř okamžitě testovat nové metody (Alt a Vach, 1991).

Navzdory tomu se u dentálních znaků setkáváme s jedním výrazným omezením, a tím je fyzické opotřebenění skloviny – abraze (např. abraze nekvalitní potravou a věkem, intravitální i postmortální ztráta zubů, umělé zásahy do dentice).

2.1.2.1 Obecné metody

Dentálními morfologickými znaky a jejich hodnocením se v Evropě nejvíce věnovali Alt a Vach v průběhu 90. let 20. století. Většina dnešních prací ale vychází z „ASU systému“ (The Arizona State University dental anthropology system). Hodnocení dentálních morfologických znaků je založeno na stupnici odlišností základních stupňů rozvoje jednotlivých znaků (Turner et al. 1991; Scott a Turner, 1997).

Primárně jsou dentální znaky rozdělené do 3 skupin: 1) variety zubních korunek a kořenů, 2) ontogenetické disturbance tvaru, počtu a velikosti, struktury, a pozice zubů, 3) kongenitální malformace zubů a čelistí (Alt, Vach, 1995a). Soubor odontologických znaků dále zahrnuje podle Alta a Vacha (1995a,b) 137 znaků rozdělených do přesnějších 15 skupin, a všechny z těchto znaků jsou pod genetickou kontrolou, některé podléhají Mendelovské genetice. Vliv prostředí na výskyt znaků je minimální (Leroux, 2012). Některé znaky mohou být v praxi využitelné jen u dospělých jedinců, protože se nevyskytují u dětí (např. kořeny trvalých zubů).

Prvním krokem při praktické analýze je zaznamenání dentálních znaků (Alt a Vach, 1995a; Alt a Vach, 1998). Dentální znaky jsou sledovány bilaterálně, některé znaky na čelistech se vyskytují asymetricky. Pro analýzu je vhodné použít ty znaky, které odráží stejnou genetickou informaci, a to nejlépe splňují bilaterální znaky (Alt et al., 1995). Použití všech znaků u všech zkoumaných jedinců brání obvykle zachovalost pozůstatků. Ve většině případů může být každý znak přítomný (+),

chybět (-), nebo nerozeznatelný (?) vlivem špatné zachovalosti či abraze (Alt a Vach, 1992; Leroux, 2012).

Druhým krokem je spojit takové znaky, které jsou zaznamenány jednotlivě, ale reprezentují jednu genetickou informaci (Alt a Vach, 1995; Alt a Vach, 1998). Pokud budeme interpretovat spojení výskytu znaků u několika jedinců jako náznak rodinných vazeb, je nezávislost použitých znaků nezbytná. Většina znaků se vyskytuje bilaterálně, ale pokud se vyskytují na stejném zubu jak na pravé tak na levé polovině, jsou hodnoceny pouze jako příspěvek jedné části genetické informace (Alt a Vach, 1998). Problémem je hodnocení frekvence, pokud znak chybí na jedné straně a na druhé je nezjistitelný (Alt a Vach, 1995). Pokud je znak přítomný alespoň na jedné straně, považujeme znak za přítomný (Alt a Vach, 1998). Když znak na jedné straně chybí nebo je nerozeznatelný, je výsledek problematický, jelikož by mohl být přítomný na obou stranách. V takových případech považujeme komplexní znak jako přítomný, pokud je alespoň přítomná jedna část. Považujeme ho jako nezjistitelný pokud jsou nezjistitelné všechny jeho části, jinak ho považujeme za nepřítomný (Alt a Vach, 1998). Opět je nutné eliminovat znaky, které se vzájemně ovlivňují.

Je nutné brát v úvahu, že použití dentálních znaků je značně limitováno abrazí nebo dokonce i absencí dentice u starých jedinců, mechanickým poškozením, atd., použití znaků je tedy velmi omezené, a řada znaků může být v tu chvíli nezjistitelných (Alt a Vach, 1998).

2.1.2.2 Kazuistiky

V Řeznu - Hartingu v jižním Německu bylo ve dvou studních římského stavení nalezeno 13 jedinců z pozdního římského období (Alt a Vach, 1992; Alt et al., 1998). Na všech lebkách byla objevena traumatická zranění a část z nich nesla známky skalpování. U pěti lebek byl přítomný metopismus, což naznačilo biologickou příbuzenství jedinců uvnitř skupiny. Vazby se ověřovaly pomocí komplexu 63 nemetrických a 7 geneticky determinovaných dentálních znaků., ale s ohledem na zachovalost pozůstatků nebylo možné všechny znaky zaznamenat. Hypotézu biologické příbuznosti jedinců potvrdily především dva znaky, aplazie třetích molárů a *amelogenesis imperfecta*.

Pro analýzu koster z hromadného hrobu v Talheimu byly přednostně použité dentální znaky z důvodu lepší zachovalosti dentice a čelistí než skeletu (Alt et al., 1995). Jde o hromadný hrob s třiceti jedinci nejrůznějšího věku, jehož stáří se pomocí radiokarbonové metody odhaduje na 7000 př. n. l. Byly použity především znaky na korunkách a kořenech zubů, a také anomálie (tvar, velikost, počet, postavení). V tomto případě se autor zaměřil např. na *dens invaginus* (jehož výskyt může být v rámci rodiny 30 – 40%, zatímco v normální populaci jen 3%), *tuberculum paranormale*, redukci velikosti druhého řezáku (I2) v horní čelisti (mikrosymptom pro hypodoncii), a redukci hrbolků druhé stoličky (M2) horní čelisti. Na základě toho bylo možné jedince rozdělit do dvou skupin. Mezi určitými jedinci se předpokládají užší rodinné vazby, ale nedá se rozlišit žádná větší rodinná struktura.

U již zmíněné rodiny Wiseů nebylo možné dentální znaky použít, jednak kvůli výrazné abrazi a absenci zubů u dospělých, a jednak kvůli neprořezaným a mléčným zubům u dětí (Spence, 1996).

V roce 1985 byl v rámci archeologického výzkumu na Usu-Moshiri v Japonsku objeven společný pohřeb dvou dětí (Adachi et al., 2003). Archeologický kontext naznačil příbuznost jedinců. Odontologická analýza naznačovala, že jde o biologicky blízce příbuzné jedince. Výsledky podpořila i analýza mitochondriální DNA. Vzhledem k věku jedinců, 7 a 11 let, se předpokládá, že jde o sourozence.

V roce 1674 se v londýnském Toweru našly kosti dvou dětí, o nichž se spekulovalo, že by se mohlo jednat o syny krále Edwarda IV., kteří zmizeli po jeho smrti roku 1483. K ověření totožnosti přispěla snaha o určení příbuznosti pomocí pozůstatků jejich příbuzných Anny Mowbrayové a Marie Burgundské (Warwick, 1986; Molleson, 1987). Všechny osoby byly v různých generacích a liniích potomky krále Edwarda III. Využilo se vrozeně chybějících zubů (tzv. hypodoncie), která se za normálních okolností v populaci vyskytuje v 1%, ale u blízkých příbuzných hodnota roste až k 30%. Hypodoncie se sice může u příbuzných osob opakovat, nutně ale nemusí chybět tytéž zuby. Stav dentice hypotézu příbuznosti potvrzoval, kromě dentálních znaků ji podporuje nápadná podoba vsutých kůstek v lebečních švech.

V nedávné době proběhl výzkum hřbitova Middenbeemster v Holandsku (Leroux, 2012). Cílem studie bylo ověřit biologickou příbuznost u zkoumaných jedinců pomocí nemetrických dentálních znaků a zjistit, jestli byl hřbitov strukturován podle rodin. Zachovalost pozůstatků byla dobrá. Zkoumaný soubor se skládal z pozůstatků 47 osob do cca 50 let věku, u starších osob nebylo možné dentální znaky posoudit vlivem poškození nebo intravitální ztráty zubů. Dentální znaky byly posuzovány podle „ASU systému“ (Turner et al., 1991), a bylo hodnoceno dvacet znaků na zubech horní čelisti a šestnáct znaků na zubech dolní čelisti. Bylo zjištěno devět jedinců, kteří by mohli být biologicky příbuzní, nicméně nebylo možné zjistit míru příbuznosti. Výsledky naznačují, že hřbitov pravděpodobně nebyl strukturován podle rodin.

2.1.3 Vedlejší obličejové dutiny

Vedle nemetrických a dentálních znaků se při zjišťování biologické příbuznosti uplatňuje také komplex vedlejších obličejových dutin, a sice dutina čelní (*sinus frontalis*), očníce (*orbitae*), nosní dutiny (*sinus nasales*) a dutina horní čelisti (*sinus maxilaris*).

Tvar a velikost dutin je přirozeně značně variabilní, každá se může vyskytovat v několika tvarových typech. Dutiny se využívají se i ve forenzní antropologii pro identifikaci osob, kdy se porovnává RTG snímek zkoumané lebky a RTG snímek hlavy pořízený za života jedince. Porovnání je nejčastěji založeno na čelních dutinách (*sinus frontalis*), (Dobisíková a Eliášová, 2012).

2.1.3.1 Metody

Metoda odhadu biologické příbuznosti na základě tvaru a velikosti obličejových dutin je založena na srovnání předozadních (fronto-occipitálních) RTG snímků obličejové partie jednotlivých lebek. Lebka by měla být orientována očnicemi kolmo k rovině filmu. Vzdálenost mezi rentgenem a lebkou je přesně 1 metr, čímž se eliminuje zkreslení (přesněji zvětšení), (Szilvássy, 1986). U živých lidí se postupuje obdobně. K tomu je samozřejmě vhodné u zkoumaných jedinců znát pohlaví a věk, které napomáhají v potvrzení či spíše vyloučení vztahů.

Parametry dutin mezi jednotlivými lebkami se dnes porovnávají za pomoci programu na analýzu obrazu (Szilvássy, 1986).

2.1.3.2 Kazuistiky

Výše uvedená metoda byla v první řadě testována na živých lidech, u dvojčat a blízké příbuzných jedinců: matka – dítě – otec dítěte (Szilvássy, 1986). Dutiny u jednovaječných dvojčat jsou vzájemně téměř identické, u dvojvaječných dvojčat se do určité míry liší, i z tohoto důvodu se předpokládá, že se na jejich utváření, morfologii podílí genetika. Ve vztahu „matka – dítě – otec dítěte“ je u dítěte podobnost vůči rodičům různá, od celkové převahy morfologie dutin jednoho z rodičů až po dědění pouze určitých charakterů dutin od jednoho z rodičů (např. syn se charakterem svých čelních dutin podobá otci, ale dutinami horních čelistí se podobá matce).

V antropologickém oddělení Přírodovědeckého muzea ve Vídni se tato analýza používala od druhé poloviny 70. let 20. století k analýze populačních skupin na hřbitovech, pro odhad pravděpodobnosti biologických příbuzenských vazeb a k určení etnické příslušnosti (Szilvássy, 1986). Autor zmiňuje řadu případů. Mezi nimi například trojhrob z římského období z Klosterneubergu, kde byla pohřbena žena ve věku 50 – 60 let, muž ve věku 40 – 50 a muž ve věku 20 – 30 let. Vedlejší dutiny jsou u obou mužů velmi podobné a tak se pravděpodobně jedná o otce se synem, žena by mohla být manželkou staršího muže. V dalším římském trojhrobu z Klosterneubergu se pravděpodobně jedná o matku a dva syny, kteří mají podobné čelní dutiny, a dutiny horní čelisti a nosní dutiny mohli zdědit od matky.

V posledních deseti letech se v oblasti odhadu biologické příbuznosti pomocí analýzy vedlejších obličejových dutin objevily jen dvě významnější práce. V prvním případě jde o odhad biologické příbuznosti u 18 lebek hrabat z Celje (Slavec, 2004). Ve většině případů tvar vedlejších dutin na příbuznost nijak výrazně neukazuje. Největší podobnost v rámci rodu vykazují tři bratři a synové hraběte Heřmana II. z Celje. Tyto osoby mají vzájemně velmi podobnou morfologii čelních dutin a částečně i očnic a dutin horní čelisti. Lebka jejich otce, Heřmana II. z Celje, se nedochovala. Zachovala se pouze lebka jejich matky Anny ze Schnaunbergu, které jsou synové právě svými čelními dutinami a dutinami horní čelisti částečně podobní. Faktem je, že při srovnání kreseb vedlejších dutin

s rentgenovými snímky je patrné, že kresby dutin jsou oproti RTG mnohdy zjednodušené, někdy nepřesné (např. lebka 12), a v jednom případě i stranově otočené (lebka 15).

Druhá práce se zabývá variabilitou čelní dutiny u dynastie Aragonů (Cameriere et al., 2005).

U nás byl tento přístup k příbuzenské analýze nastíněn při výzkumu kosterních pozůstatků Přemyslovců (Vlček, 1997), nejednalo se však o cílenou analýzu jako ve výše uvedených případech.

Rentgenové znázornění vedlejších dutin je pro příbuzenskou analýzu velmi důležité, především proto, že tyto tvarové znaky nemohou být prokázány statisticky. Nemají ale takovou váhu jako nemetrické znaky, neboť u velké řady nálezů je obličejová část více či méně poškozená, což analýzu znemožňuje.

2.2 Metrické znaky

Metrické hodnocení kostry, jednotlivých kostí, je založeno na měření vzdáleností mezi definovanými osteometrickými body (Knussmann, 1988). Rozměry popisují velikost jednotlivých kostí a jejich partií. Ze základních rozměrů je možné vypočítat řadu indexů (např. délkošířkový index lebky), které vyjadřují vztah dvou a více rozměrů. K měření se používají nejrůznější měřidla, např. posuvné měřidlo, kraniometr, pelvimetr, pásové měřidlo či osteometrická deska. Tradiční měřidla jsou dnes často nahrazována digitálními měřidly, která měří s velkou přesností (Adachi et al., 2006). V případě ověřování biologické příbuznosti na základě metriky se nejčastěji využívají kraniální rozměry. Nejčastěji se metrické hodnocení při zjišťování biologické příbuznosti používá u lebek. Např. na lebce můžeme najít přes 40 měrných bodů, z nichž řada je párových.

První studie zabývající se dědičností kraniálních rozměrů u živých lidí pochází z první poloviny 20. století (Dahlberg, 1926). Metrické hodnocení se k ověřování biologické příbuznosti u lidských pozůstatků začalo systematicky používat od 60. let 20. století (Ullrich, 1969). V tu dobu bylo také publikováno několik studií zabývajících se dědičností kraniálních rozměrů u jiných druhů savců, např. u myši (Leamy, 1974). Za jedny z prvních pokusů zachytit metrické charakteristiky v rámci souboru biologicky příbuzných jedinců ale můžeme považovat např. i práce Jindřicha Matiegky (1932).

2.2.1 Metody

Standardní postupy analýzy příbuznosti pomocí metrických znaků nebyly dosud vyvinuty (Case, 2003), a prací zaměřených na tento způsob příbuzenské analýzy je velmi málo.

Oproti morfologickým metodám má metrické hodnocení výhodu, že není zatíženo subjektivním přístupem badatele. Další výhodou je nezávislost analýzy na výskytu znaků s nízkou frekvencí a jejího výpočtu (Case, 2003). Nevýhodou metrického hodnocení je často špatná zachovalost kostí, často se kosti zachovávají jen v úlomcích a tak není možné řadu rozměrů, především délkových, odečíst.

Podobně jako lze rozdělit nemetrické znaky podle frekvence jejich výskytu v populaci (např. Hanihara a Ishida, 2001), lze rozdělit i výsledné hodnoty metrického zkoumání. Carson (2006) dělí odhady dědičnosti rozměrů na nízké (0,00 – 0,29), střední (0,30 – 0,54) a vysoké (0,55 – 1,00).

Nevýhodou je dosud nejasný mechanismus metrického dědění. Experimenty na živých lidech navíc napověděly, že pozitivní metrická korelace se velmi často vyskytuje jen u skutečně blízce pokrevních příbuzných jedinců, např. mezi sourozenci nebo potomkem a rodičem (Case, 2003; Carson, 2006). Na metrické znaky může také snáze působit vliv faktorů vnějšího prostředí (např. kvalita a dostatek výživy a působení zátěže v průběhu ontogeneze kostry, růstu kostí či různá velikost mozku, jehož vývoj ovlivňuje růst lebky atd.), (Carson, 2006). Zjednodušeně řečeno, různě velcí rodiče mohou mít různě velké potomky, potomek může být metricky podobný jen jednomu z rodičů. Vazbu blízce pokrevně příbuzných jedinců nemusí se tudíž na základě rozměru kostry povést prokázat. Je zde také vyšší pravděpodobnost korelace dvou nepříbuzných jedinců (Case, 2003). V neposlední řadě většinu měření ovlivňují mezipohlavní rozdíly (Martínez-Abadiaz et al., 2009). Příčinou rozdílných výsledků různých studií může být i použití různých statistických metod (Carson, 2006).

Dědičnost (a dědivost) znaků byla nejčastěji testována u unikátní kolekce novověkých lebek s dochovanou demografickou a genealogickou dokumentací v kostnici v Hallstattu v Rakousku (Sjøvold, 1984, 1986, 1987, 1990, 1995; Carson, 2006; Martínez-Abadiaz et al., 2009). Tato kolekce, která zahrnuje přes 2200 lebek, byla zkoumána již od konce 19. století a historii minulých výzkumů zmiňují výše uvedené studie.

Vzhledem k širokému časovému rozmezí (1770 – 1890) a rozsáhlosti hallstattské kolekce se Sjøvold (1995) poměrně detailně zabýval i změnami velikosti lebek během tohoto časového období (hodnocení tzv. sekulárního trendu, tedy růstové změny tělesných rozměrů sledované na populaci za delší období), změnami lebečních rozměrů mezi jednotlivými věkovými skupinami, vlivem pohlaví na kraniální rozměry, a korelací mezi jednotlivými aspekty, změnami a příbuzenskými vazbami. Všechny tyto aspekty mohou mít vliv na ověřování biologické příbuznosti pomocí metrické analýzy. Autor na základě výsledků vyvozuje u hallstattského souboru řadu obecných trendů kraniálních změn a rozdílů (např. signifikantní nárůst lebeční šířky u mužů i žen s rostoucím věkem, ale u každého pohlaví v jiných věkových skupinách, atd.).

2.2.2 Kazuistiky

Pomocí metrických (i nemetrických) znaků kostry byly zkoumány biologické vztahy mezi skupinami západních Indiánů Pueblo v Arizoně (Schipman, 1982). Překvapivě bylo zjištěno, že metrické znaky na lebce byly málo ovlivněny okcipitální deformací, a některé metrické znaky na postkraniálním skeletu se signifikantně liší mezi mladšími a staršími dospělými, ale ne lebce tomu tak není. Korelace mezi postkraniálními metrickými znaky jsou střední až silné, zatímco korelace u

kraniálních metrických znaků jsou slabé, a nejslabší korelace je mezi oběma skupinami metrických znaků navzájem.

Čeští egyptologové, dlouhodobě pracující v Abúsíru, zkoumali na královském pohřebišti počátkem 90. let 20. století několik mastab z 5. dynastie (Strouhal, 1992). Ve třech z nich byly nalezeny celkem 4 kostry. Příbuzenská analýza byla založena obecně na metrické analýze, kterou doplnily nemetrické znaky a osteoskopie. Zjištěné vztahy byly porovnávány s archeologickými poznatky. Zjistilo se, že obě princezny Khekeretnebtý a Hedjetnebu byly sestry, a dívka jménem Tisehor pravděpodobně dcera Khekeretnebtý. Čtvrtá žena, jejíž jméno a tituly se nedochovaly, byla těmto třem ženám více vzdálená.

Při analýze šesti hromadných hrobů z Quebbet el Hawa v Egyptě, které byly pro určování pokrevní příbuznosti dostatečně velké, se metrické znaky ukázaly v první analýze jako nevhodné (Rösing, 1990). A to i navzdory tomu, že výskyt některých nemetrických znaků naznačoval pravděpodobnou příbuznost mezi některými lebkami, jedinci. Rozměry byly vybírány tak, aby byly pro příbuzenskou analýzu co nejvíce vhodné. Při této analýze se ukázalo několik zásadních problémů, a sice vysoké procento variační šíře, nejasný podíl genetické informace na dědivosti rozměrů (není znám počet genů kteří velikost a tvar lebky řídí) atd. Znamená to, že s klesajícím stupněm příbuznosti dochází ke zmenšování podobnosti. Lebky byly rozděleny do 4 skupin po 4-5 jedincích, a bylo vybráno 14 rozměrů a *sulcus praenasalis*. Výsledky nebyly jednoznačné, ale naznačují, že měření probíhalo na příbuzných jedincích. Variabilita jednotlivých rozdílů ale byla tak velká, že nebyly k dispozici žádné informace k diagnostice jedinců. Vztaheno na skupiny, rozdíly uvnitř skupiny mají tendenci být nižší než při porovnání mezi skupinami.

Metrická analýza prvních tří generací Přemyslovců zjistila výraznou podobnost mezi dědem Bořivojem I. a vnukem Václavem, a dále mezi lebkami Spytihněva I. a Vratislava I. (Vlček, 1997). Podobnost dokládají dendrogramy clusterové analýzy (Vlček, 1997).

U již zmíněného výzkumu kosterních pozůstatků Dietrichsteinů v Mikulově metrické hodnocení lebek mužů ukázalo vysokou výpovědní hodnotu rozměrů a indexů (Drozdová, 2006), což ukazuje na podobnost mezi blízkými příbuznými muži (dědeček kníže Ferdinand Josef, syn kníže Walter Xaver, vnuk kníže Karel Maxmilián Filip, pra-pra-vnuk hrabě Josef František). U žen nebylo možné srovnání provést, neboť se kromě jedné do rodiny přivdaly. Každopádně byla metrická analýza u všech jedinců ztížená špatnou zachovalostí lebek.

Sjøvold (1984) zkoumal 30 nemetrických znaků, a výsledky nebyly uspokojivé. Dědičnost kraniálních rozměrů zkoumal použitím čtyř různých kombinací dvojic „rodič-potomek“, tedy kombinace matky, otce, dcery, syna. Nevýhodou byl nízký počet rodin s oběma rodiči a dvěma potomky odlišného pohlaví. Studováno bylo 29 rozměrů, dvojic „matka-dcera“ bylo 30, dvojic „otec-

syn“ 60. Z výsledků bylo možné vypočítat dva hlavní trendy. Zaprvé, ve všech kombinacích se neobjevil žádný signifikantní vzor dědění rozměrů. Za druhé, synové vykazovali vyšší tendenci podobnosti rodičům než dcery. Zdá se, že nejvýznamnější dědičnost vykazují rozměry mozkovny, a rozměry očníce a nosu.

Carson (2006) zkoumala soubor 298 lebek. Pro měření bylo vybráno 33 kraniálních rozměrů. Kranio-metrické znaky ukazují nízkou až střední dědivost. Délkové a výškové rozměry mají obecně vyšší dědivost než šířkové (bilaterální) v hodnotách 0,102 – 0,729. Rozměry obličeje jsou pro převážnou část méně dědičné než rozměry mozkovny. Tento stav může být vysvětlen selekcí u kraniálních velikostí, změnami v charakteru stravy, stravovacích zvyklostí, která ovlivnila žvýkací svaly a kosterní strukturu obličeje. Vysvětlením může být také malá velikost a částečně i izolovaná povaha tohoto souboru. Tyto výsledky ale nemusí nutně souhlasit s výsledky vyplývajícími z jiného souboru nebo dokonce populace.

Na tuto práci navázal další výzkum (Martínez-Abadiaz et al., 2009). Soubor 355 hallstattských lebek byl analyzován pomocí 3D geometrické morfometrické metody. Každá lebka nesla sadu 65 anatomických orientačních bodů. Z této sady bylo odstraněno 5 bodů z alveolární oblasti kvůli absenci u více než 50% lebek vlivem ztráty zubů a alveolární resorpci. Odhady dědivosti pro 58 lebečních lineárních vzdáleností byly vypočítány pomocí metody maximální podobnosti. Tyto vzdálenosti byly umístěny do hlavních funkčních a vývojových oblastí lebky. Dále byly formulovány 4 nulové (testované) hypotézy: 1) neexistují významné rozdíly mezi dědičností každé lebeční oblasti, 2) žádné korelace mezi genetickou a fenotypovou korelační maticí, 3) maximální šířka lebky pozitivně koreluje s šířkou obličeje a negativně s výškou obličeje, neurokranální délkou a neurokranální výškou, 4) celkový model genetické integrace lidské lebky je ovládán kovariancí mezi maximální šířkou hlavních vývojových oblastí, tedy obličejem, neurokraniem a bazikraniem. Výsledky ukázaly absenci statisticky významných rozdílů mezi dědičností rozměrů obličeje, neurokrania a báze. Kraniofaciální znaky mají nízkou až střední dědičnost v hodnotách 0,00 – 0,43, 72,2% znaků bylo na úrovni 0,05. Obličejová část lebky je oblast s nejvyšším počtem výrazně dědičných znaků (81%) a nejvyšší střední dědičností (0,26). Bazikranium má hodnoty 73% a 0,23, neurokranium 61,5% a 0,19. Procento odhadů dědičností rozměrů mezi jednotlivými oblastmi lebky byla 50%. Statisticky významné rozdíly mezi dědičností jednotlivými lebečními oblastmi nebyly přítomny, proto hypotéza č. 1 nemůže být zamítnuta. Hypotéza č. 2 byla zamítnuta, protože výsledky ukazují mezi genetickou a fenotypovou korelační maticí značnou podobnost.

2.2.3 Vzorová profilová analýza

Tato metoda je ve své podstatě speciálním typem metrické analýzy. Aplikací této metody se ve své práci zabývá Case (2003), který tak navazuje na práci Poznanski et al. (1972). Metoda byla původně vyvinuta jako radiologická technika pro diagnostiku syndromů (jako např. Marfanův

syndrom) pomocí metrické analýzy délky záprstních kostí rukou a článků prstů rukou. Později se ukázalo, že by tato metoda mohla být vhodná i pro ověřování biologické příbuznosti, jelikož jednovaječná a dvojvaječná dvojčata vykazovala značnou podobnost rozměrů, zatímco u nepříbuzných jedinců byla podobnost rozměrů čistě náhodná (Poznanski et al., 1972; cit. dle Case, 2003).

Principem analýzy je změření každé kosti dvakrát s přesností na 0,1 mm. Prvním krokem je vyjádření směrodatné odchylky (Z-skóre) délky každé kosti ve vztahu k normě pro jedince stejného pohlaví. Použité standardy závisí na zeměpisném původu hodnocených jedinců. Musí být také vytvořené odděleně pro obě pohlaví a pro každý rok života až do dospělosti, pokud se hodnotí i nedospělí jedinci. Např., je-li směrodatná odchylka dané kosti o jednotku delší než je průměr pro jedince stejného pohlaví, dostane daná kost Z-skóre 1,0. Pokud je směrodatná odchylka dané kosti o 1,5 jednotky pod průměrem pro jedince stejného pohlaví, dostane daná kost Z-skóre -1,5 (Case, 2003). Toto Z-skóre je stanoveno pro všech 19 kostí ruky (záprstní kosti + články prstů). Výsledek může být prezentován číselně nebo graficky. Hodnoty Z-skóre každé kosti od záprstních kostí I – V k distálním článkům prstů I – V podle osy y jsou zaneseny za sebou proti ose x, osa x je při porovnávání dvou profilů v centru grafu a představuje nulovou odchylku od průměru. Vzorový profil (řetězec Z-skóre) je možné porovnat vizuálně, nebo pomocí Pearsonovy korelační analýzy. Vysoká pozitivní korelace (např. $r = 0,872$; $r = 0,930$; atd.) ukazuje na velkou podobnost jedinců, zatímco vysoká negativní korelace (např. $r = -0,526$) ukazuje velkou odlišnost. Korelace blízka nule naznačuje náhodný vzor podobnosti a odlišnosti.

Výhodou této analýzy je vyloučení velikostních (výškových) rozdílů mezi jednotlivci a možnost vzájemného srovnání jedinců bez ohledu na jejich věk či pohlaví (Poznanski et al., 1972; cit. dle Case, 2003). Mezipohlavní a mezivěkové srovnání je možné, protože délkové normy použité k vytvoření každého vzorového profilu jsou závislé na pohlaví a věku. Ukázalo se, že relativní délky metakarpů a článků prstů obvykle zůstávají během růstu a vývoje konstantní, tudíž by měl být vzorový profil u pětiletého dítěte velmi podobný vzoru téhož jedince během jeho dospívání a dospělosti. Výjimkou mohou být např. předčasné srůsty epifýz některých kostí, k nimž může dojít např. vlivem prostředí (např. zranění), nebo vlivem genetiky. Systematické nebo náhodné chyby při měření kostí mají na výsledek, v důsledku jednoduchého měření, minimální vliv. Nevýhodou je již v úvodu zmíněná snižující se podobnost mezi dvěma jedinci s přibývajícemi generacemi (Case, 2003).

Pro využití této analýzy u anonymních lidských kosterních pozůstatků je několik podmínek (Case, 2003): 1) pro tuto analýzu je nezbytné stranové určení a posloupnost zkoumaných kostí a její dodržování během analýzy a zpracování výsledků; 2) kvalitní metodika měření, 3) existence referenčního vzorku se známými rodinnými vztahy z důvodu možnosti srovnávání.

Profilová vzorová analýza kostí nohou není vyloučena, ale je velmi ztížena malými rozměry distálních článků prstů a změnami v klenutí chodidla (Case, 2003). Kromě toho není mezi kostmi rukou a nohou žádný rozdíl, u obou se předpokládá stejný genetický vliv.

Vzorová profilová analýza se uplatnila při výzkumu 10 hřbitovů ve středním Dánsku (Case, 2003). Soubor dánských koster byl porovnáván s referenčním souborem, kolekcí Roberta J. Terryho ze Smithsonian Institution ve Washingtonu, DC. V rámci dánského souboru bylo zjištěno 12 párů osob, u kterých se předpokládá blízká genetická příbuznost. Kromě toho byl určen větší soubor možných geneticky příbuzných osob s korelací vzorového profilu okolo 95%. Autor se domnívá, že tato metoda ukazuje více potenciálně biologicky příbuzných jedinců než analýza pomocí nemetrických znaků na kostře, ale četnost jejího použití je v současné době nedostatečná.

2.2.4 Metrické dentální znaky

Použití metrických dentálních znaků při ověřování příbuzenských vztahů není časté, existuje jen několik málo studií. V zásadě platí tytéž výhody i nevýhody jako u metrických kosterních znaků. Stejně jako v případě nemetrických dentálních znaků se tu setkáváme s výrazným limitujícím faktorem v podobě abraze, antemortální nebo postmortální ztráty zubů či poškození vnějším prostředím.

K analýze se především používají dva na sebe kolmé rozměry zubních korunek, vestibulo-linguální a mesodistální.

2.2.4.1 Kazuistiky

V praxi se metrické dentální znaky velmi často používají v kombinaci s nemetrickými dentálními znaky k postihnutí variability jedinců pochovaných na hřbitovech a odhalení principů strukturování hřbitovů (Stojanowski 2001, 2003a,b, 2005; Corruccini a Shimada, 2002). Principem je nejčastěji právě biologická příbuznost jak mezi jednotlivci, tak i mezi rodinami, a v nepolední řadě se tak děje za současného působení sociálního postavení jedinců v rámci společnosti.

Archeologický a antropologický výzkum na hřbitově Alfredena v Abruzzo v Itálii s ohledem na jeho strukturu naznačili výskyt rodinných skupin a zároveň sociální rozdíly (Bondioli et al., 1986). K analýze modelů pohřbívání a příbuzenských vztahů bylo použito 196 metrických a nemetrických kosterních i dentálních znaků. Metrická analýza byla provedena analýzou rozptylu a výpočtem rozdílů mezi každým párem jedinců. Výsledky metrického zkoumání naznačují pohřbívání jednotlivých příbuzenských skupin, pravděpodobně patrilokálních rodin.

Dentální metrické znaky byly s úspěchem použity u ženského dvojhrobu na Usu-Moshiri v Japonsku (Adachi et al., 2006). Každý zub byl měřený dvakrát digitálním posuvným měřidlem s přesností na 0,01 mm, a z každé dvojice měření byl pro každý zub vypočtený průměr. Každý průměr korunky byl standardizován pomocí průměrů a směrodatné odchylky pomocí dat Matsumury (1995,

1996). Mezi oběma jedinci byly vypočteny Q-modelové koeficienty podle Sokala a Sneatha (1963). Pro výpočet koeficientů byly použity kombinace průměrů zubních korunek, které byly vybrány podle rizika náhodné podobnosti menšího než 20% podle Doi et al. (1986). Korelace byly ve všech kombinacích průměrů zubních korunek konstantně nízká a hodnota koeficientu byla ve 13 z 20 kombinací negativní. Nejvyšší hodnota Q-korelačního koeficientu 0,451 (za kritérium příbuznosti se považuje hodnota od 0,5 výše podle Doi et al. (1986)) byla získána pomocí 6 proměnných, a při zvyšování počtu proměnných zde byla tendence ke snižování tohoto koeficientu. I když může být hodnota Q-korelačního koeficientu vysoká, při malém počtu proměnných je zde značné riziko náhodné podobnosti. Obecně přitom platí, že riziko náhodných podobností lze snížit zvýšením počtu proměnných. Tyto výsledky následně potvrdila analýza mitochondriální DNA, která potvrdila, že obě ženy nejsou v mateřské linii příbuzné.

Jedním z cílů výzkumu hřbitova misie San Luis de Apalachee na Floridě byla analýza „bioprostorové struktury“ koster pohřbených okolo kostela a srovnání fenotypových profilů jedinců pohřbených v rakvích v rituálním jádru kostela pomocí metrických dentálních znaků (Stojanowski et al., 2007). Analýza nedoložila strukturování hřbitova podle příbuznosti jako celku. Jedinci pohřbení v rakvích v jedné řadě si byli vzájemně podobní, nicméně meziřadové srovnání indikuje nedostatek fenotypové podobnosti mezi všemi pohřby v rakvích. Přesto analýza naznačuje udržování příbuzensky strukturovaných pohřbů pro elity v rámci místní komunity.

K výzkumu neolitického pohřebiště Catalhöyük v Turecku bylo přistupováno podobně jako v předchozím případě (Pilloud a Larsen, 2011). Byly posuzovány metrické i nemetrické dentální znaky, a to u mléčných i trvalých zubů. Data byla zpracována vícerozměrnými i jednorozměrnými statistickými přístupy. Byla vyslovena hypotéza, že seskupení pohřbených jedinců a seskupení jednotlivých budov odráží rodinné jednotky a sociální strukturu. Výsledky poněkud překvapivě ukázaly, že pohřbívání v rámci domů a organizování domů souvisí s biologickou afinitou jen minimálně. Zdá se, že tato společnost nemusela být založena na základě biologického příbuzenství. Spíše byla zaměřena na dům jako na jednotící sociální princip.

3 Statistické metody

K vyhodnocení získaných dat se používají statistické metody. V této kapitole uvádím některé základní metody použité při ověřování biologické příbuznosti u kosterních pozůstatků.

Výsledkem zpracování dat je číslo p (p -hodnota), které říká, s jakou pravděpodobností je pozorovaný jev pouze důsledkem náhody. Pokud je menší než 0,05 (menší než 5%), považujeme rozdíl za statisticky významný.

3.1 Nemetrické znaky na kostře

K posouzení vztahu (míry podobnosti) mezi dvěma jedinci na základě nemetrických znaků na kostře slouží korelační koeficient (r), (např. Case, 2003). Tento koeficient vyjadřuje lineární vztah dvou proměnných a lze ho znázornit vnesením do grafu. Nabývá hodnot od -1 do $+1$ a je bezrozměrný. Jeho výpočet se liší podle typu zkoumaných statistických proměnných. Velmi často se setkáváme s tzv. Pearsonovým korelačním koeficientem. Nulový korelační koeficient znamená, že proměnné nekorelují. Za malý korelační koeficient se považuje $r = 0,10 - 0,29$, střední $r = 0,30 - 0,49$ a velký $r = 0,50 - 1,00$.

Sjøvold (1976-77) zavedl k určení míry podobnosti jedinců podle nemetrických znaků tzv. faktor pravděpodobnosti (FP). Je založený na předpokladu, že výskyt znaků v uzavřené populaci je známý a konstantní. U náhodně vybraného jedince je možné vypočítat pravděpodobnost výskytu nebo nepřítomnosti sledovaného znaku. Např. u znaku s populačním výskytem 5% je hodnota pravděpodobnosti výskytu $+0,05$ a hodnota pravděpodobnosti absence $-0,95$. U každého jedince jsou stanoveny hodnoty pro všechny sledované znaky, jejich součin umocněný logaritmovaným počtem znaků a násobený stem udává hodnotu faktoru pravděpodobnosti. Jedinci s velmi podobným nebo shodným faktorem podobnosti mohou být biologicky příbuzní. Předpokladem pro použití této metody, která nepřinesla uspokojivé výsledky, je znalost výskytu (frekvence) všech sledovaných znaků v populaci. Ne u všech sledovaných znaků je tato frekvence známa (Case, 2003). Tuto metodu by teoreticky bylo možné použít i pro nemetrické dentální znaky.

Velemínský a Dobisíková (2005) použili v případě vyhodnocení nemetrických znaků na kostře výpočet procentuální vyjádření koincidence (shody) při výskytu variant, a procentuální vyjádření jejich rozdílného výskytu. Stupeň koincidence byl vypočítán podle Essen-Möllerova vzorce odvozeného od Bayesova vzorce. Výpočet je založený na znacích vyskytujících se u obou srovnávaných jedinců současně a na středním výskytu této varianty v souboru, z něhož tito jedinci pocházejí. Dále byl vypočítán tzv. faktor podobnosti (FP) podle Sjøvolda (1976-77). Nakonec byla Chi-kvadrát testem (tzv. test dobré shody) s Yatesovou korekcí zjištěna vyšší nebo nižší frekvence znaků ve srovnání se známou referenční sadou. Chi kvadrát testem zjišťujeme, jestli se naměřené a předpovídané hodnoty statisticky významně liší. Tyto různé statistické metody přinesly podobné výsledky.

K porovnávání nemetrických znaků na kostře mezi dvěma populacemi nebo soubory slouží střední míra divergence (MMD). Je to průměr měr divergence pro jednotlivé znaky.

3.2 Nemetrické dentální znaky

K detekci rodin a přehlednému zobrazení dat se používá tzv. datová matice, a to nejen u nemetrických dentálních znaků (Alt a Vach, 1995a, b; Alt et al., 1997), ale i v případě nemetrických

znaků na kostře (Pietrusewski a Douglas, 1992; Spence; 1996). V řádcích jsou zapsány hroby (či jedinci), ve sloupcích jsou zapsány sledované znaky, reflektující jednu genetickou informaci (Alt a Vach, 1995a, b). Některé sloupce jsou vzájemně závislé. Tato analýza datové matice je založena na hypotéze, že pokud je zjištěna skupina jednotlivců, kteří vykazují množství běžných znaků, a každý člen skupiny vyazuje několik takových znaků, a tyto znaky se vyskytují častěji uvnitř skupiny než mimo ní, pak jeden znak může být považován jako indikace pro rodinné vztahy v příslušné skupině (Alt a Vach, 1995b). K detekci rodin byl navržen i jiný přístup, a sice že sledujeme jedince se dvěma znaky, poté počítáme, kolik z těchto jedinců ukáže tři, čtyři nebo více znaků, a poté zkusíme rozhodnout, jestli nám tyto počty ukazují předpoklad rodiny. K tomu se musí brát v úvahu frekvence sledovaných znaků v populaci a stav zachovalosti zkoumaných kosterních pozůstatků (Alt a Vach, 1995a).

Tab. 2. Ukázka datové matice pro nemetrické dentální znaky

Jedinec (i)	Znak (t)						
	t1	t2	t3	t4	t5	t6	t7
i1	--	-?	-	++++	--	--	??
i2	-?	--	-	----	--	??	??
i3	++	+-	-	-?-?	++	?-	??

3.3 Metrické znaky

Ke znázornění vzájemné podobnosti jedinců se používá shluková analýza (taktéž klastrová/clusterová analýza, cluster analysis), především pro ověřování biologické příbuznosti metrickými znaky (např. Alt a Vach, 1995a; Vlček, 1997; Case, 2003; Drozdová, 2006). Tato metoda znázorní jedince podle podobnosti, jedinci sdílející určitý znak nebo metrické rozměry spadají do stejné skupiny (klastru). Výsledkem je dendrogram. Nevýhodou této analýzy je tendence shlukování všech jednotlivců sdílejících určitý znak do jedné skupiny (např. anonymní pohřebišť), a tak nelze stanovit, jestli tito jedinci sdílející určitý znak patří k jedné nebo více odlišným liniím (Alt a Vach, 1995a; Case, 2003).

Z-skóry, tzv. normované veličiny, můžeme použít k vyjádření podobnosti dvou i více jedinců v metrických znacích (Case, 2003; Carson, 2006). Z-skóre je vyjádření směrodatné odchylky, nemá fyzikální rozměr, má nulový průměr a jednotkový rozptyl. Výsledek je možné prezentovat číselně nebo graficky.

Pokud máme dva soubory, a potřebujeme zjistit, jestli se liší náhodně nebo nenáhodně (jestli jsou opravdu odlišné anebo se liší jen náhodou), se používá t-test (Carson, 2006). Podmínkou je, že data musí mít normální (Gaussovo) rozdělení. Pomocí F testu zjišťujeme významnost rozdílů dvou rozptylů (střední kvadratická odchylka), (Carson, 2006).

4 Zjišťování biologické příbuznosti molekulárními metodami

4.1 Analýza DNA z kosterních pozůstatků

Výhodou genetické analýzy je v ideálním případě přesná odpověď na otázku příbuzenství dvou a více jedinců. To u morfologických metod očekávat nemůžeme. Proto je v současnosti morfologická analýza často doplňována analýzou DNA (Např. Adachi et al., 2003, 2006; Ricaut et al., 2010).

Analýza DNA má řadu nevýhod (Kaestle a Horsburgh, 2002). Především je to časová a finanční náročnost analýzy. Dalším problémem je destrukce zkoumaného materiálu, kontaminace a špatná nebo nízká kvalita izolované DNA, které ztěžují nebo dokonce brání další analýze. Kvalitu DNA a její analýzy ovlivňuje složení a vlhkost půdy, stáří vzorku, mikroorganismy, pH a teplota, UV záření a radiace, zpracování po exhumaci, atd. (Pääbo et al., 2004; Vaněk, 2009; Gamba et al., 2011), a proto je u příbuzenské analýzy důležitý multidisciplinární přístup (Vaněk et al., 2009). Kontaminace je komplikací při interpretaci výsledků.

4.1.1 Metody

Základem příbuzenské analýzy DNA je porovnání míry homologie mezi DNA dvou a více jedinců (Urbanová, 2008). Zdrojem DNA je jádro (jaderná DNA, nuDNA), nebo mitochondrie (mitochondriální DNA, mtDNA).

V rámci jaderné DNA se k příbuzenské analýze nejčastěji používají DNA polymorfismy, mezi které patří i tzv. tandemové repetice. Jde o sériově (v tandemu) seřazené různě dlouhé sekvenční motivy (Genstenberger et al., 1999; Hummel, 2003; Butler, 2005; Urbanová, 2008) vyskytující se v extragenové DNA, která tvoří až 75% lidského genomu (Goodwin et al., 2007). Právě počet takto tandemově uspořádaných repetit je u každého jedince individuální. Jejich dědičnost je kodominantní, potomek získá od každého z rodičů poloviční sadu.

Pokud repetice tvoří 2 – 6 bp (base pairs = páry bází), hovoříme o tzv. mikrosatelitech (STR, Short Tandem Repeats), např. CAGCAGCAG či jinak (CAG)₃, které tvoří 1% lidského genomu (Buttler, 2005; Goodwin et al., 2007). V celém lidském genomu se nachází > 10000 STR (Cox a Mays, 2002). Pro analýzu STR se používá řada synonymních názvů, např. „STR typizace“, genetický otisk prstu“, „STR profil“ atd.

Vhodnost použití autozomálních STR pro příbuzenskou analýzu se posuzuje podle diverzifikace lokusu STR v populaci (Urbanová, 2008). Čím více má daný úsek alel, a čím více je alela vzácnější, tím je polymorfismus pro analýzu vhodnější. V archeogenetických a forenzních aplikacích se k příbuzenské analýze nejčastěji používají autozomální STR oblasti o délce ≤ 200 bp (Urbanová, 2008). Pro spolehlivou interpretaci výsledků je nutné dodržovat pravidlo, že alela může být uvedena pouze tehdy, pokud se v replikovaném vzorku objeví nejméně dvakrát (Vaněk et al., 2009).

Pokud repeticce tvoří 6 – 100 bp, jde o tzv. minisatelity (VNTR, Variable Number of Tandem Repeats), které tvoří 3% lidského genomu (Buttler, 2005; Goodwin et al., 2007).

Kromě STR a VNTR, které patří mezi délkové polymorfismy, je k příbuzenské analýze možné použít i SNP (Single Nukleotide Polymorphism), tedy tzv. bodové mutace (Goodwin et al., 2007; Bouwman et al., 2008). V každých 1000 nukleotidech se v populaci vyskytují přibližně 3 bodové mutace, na základě kterých je možné rozlišit 2 jedince. Jde tedy o tzv. sekvenční polymorfismus. Pomocí obou typů polymorfismů je možné určit genetickou vzdálenost dvou osob (Urbanová, 2008).

V případě mitochondrií se používají sekvenční homologie mtDNA (Urbanová, 2008). Analýza je zaměřena především na 3 krátké hypervariabilní oblasti HVR1, HVR2 a HVR3 (Ricaud et al., 2006; Roagev, 2009). Tato DNA se dědí pouze v mateřské linii (matrilinéární dědičnost), tedy pouze z matky na děti. Na rozdíl od jaderného genomu ale nemá systém pro opravu mutací (Cafer, 2010). Mutace se ale v čase objevují s poměrně konstantní frekvencí, a mají tendenci být stabilní, což je vhodné pro studium fylogeneze a příbuzenskou analýzu (Siguroardóttir et al., 2000). Při sledování možného vztahu dvou mužů (otce a syna, bratranců, atd.) je možné použít nerekombinantní část Y chromozomu (Non-recombining Region of the Y chromosome, NRY) s Y-STR, která se tedy dělí patrilinéárně. Podle Kaestle a Horsburgh (2002) ale tyto metody při shodě mtDNA či Y-DNA profilu nedovedou příbuzenský vztah blíže určit. Pokud nedojde k meiotické mutační události, stejný profil mtDNA se stejnými mutacemi není společným jen matce a potomkovi, ale i matčiny sourozencům, babičce z matčiny strany, mateřským strýcům a tetám, případně i matčiny bratrancům a sestřenicím. Totéž platí i v případě Y-chromozomu u mužů, kdy je tento chromozóm i se svými mutacemi společný otcovým bratrům, dědečkovi a strýcům z otcovy strany, bratrancům z otcovy strany, atd. Proto se k přímému určení mateřství, otcovství, nebo i sourozenectví musí zkoumat změny v poměrně velkém množství vysoce variabilních autozomálních markerů (Kaestle a Horsburgh, 2002), tedy autozomální STR nebo SNP. Pokud se ale mezi dvěma muži/ženami najde rozdílný Y chromozóm/mtDNA, můžeme biologickou příbuznost spolehlivě vyloučit.

Analýza mtDNA či NRY slouží také kromě příbuzenské analýzy k určování tzv. haploskupin, které jsou geograficky specifické a slouží k určování geografického původu zkoumaných jedinců (Ricaud et al., 2004; Wang et al., 2007; Simón et al., 2011). Haploskupina zahrnuje všechny jedince s fylogeneticky příbuznými haplotypy (Urbanová, 2008). Haplotyp je sada propojených alel nebo genů nebo polymorfismů které se dědí jako celek (Vaněk, 2012).

U recentní DNA existují pro zjišťování příbuznosti (např. testy paternity, identifikace obětí přírodních katastrof, atd.) dobře zavedené postupy, ale analýza historické DNA (ancient DNA, aDNA), tedy DNA z kosterních pozůstatků, je obtížná. Analýza aDNA je problematická vzhledem k fragmentárnosti molekuly a vlivu degradace modifikovaných bází na výslednou sekvenci (Hofreiter et al., 2001; Pääbo et al., 2004; Krause a Svoboda, 2011). Problém fragmentace a nedostatečného

množství aDNA ve zkoumaném vzorku pomohla eliminovat metoda PCR (Polymerase Chain Reaction) objevená v 80. letech 20. Století. Touto metodou je možné namnožit daný fragment DNA podle potřeby. Ani tato metoda ale není bezchybná, limitem jejího použití může být přítomnost inhibitorů PCR a kontaminace recentní DNA (Kaestle a Horsburgh, 2002; Gamba et al., 2011). Z toho vyplývající nízký výtěžek PCR reakce může bránit další analýze.

Postup příbuzenské analýzy aDNA lze jednoduše shrnout takto (Kaestle a Horsburgh, 2002; Cafer, 2010): výběr a izolace materiálu (např. zub, substantia compacta stehenní kosti, atd.); očištění vzorku (zbroušení povrchových vrstev, enzymatické čištění), homogenizace jádra vzorku; izolace DNA; fragmentace vyizolované DNA (použitím restričních enzymů se odhalí sekvenční rozdíly mezi jednotlivci); amplifikace DNA metodou PCR (podle Vaněk et al. (2009) je minimální požadované množství DNA pro PCR reakci a získání spolehlivých výsledků 50 pg), zpracování a vizualizace produktů PCR (elektroforéza, barvení před elektroforézou nebo po ní, atd.); zpracování výsledků a jejich interpretace.

Podle Vaňka (2011) je výtěžek DNA z kosti max. 10 ng/mg, úspěšnost identifikační analýzy DNA z kosti 1-20 let po úmrtí 92%, ze zubu 1-20 let po úmrtí 97%. Nejčastěji se u kosterních pozůstatků používá analýza mtDNA, které je v buňce vzhledem k vyššímu počtu mitochondrií více než jaderné DNA, a proto je zde větší pravděpodobnost použitelných výsledků (Kaestle a Horsburgh, 2002; Gamba et al., 2011).

Pro vyhodnocení příbuznosti mezi jedinci lze vypočítat poměr pravděpodobnosti (likelihood ratio, LR) otcovství, mateřství a příbuzenství, často s pomocí softwarů (Gamba et al, 2011). LR je standardní statistický nástroj ve forenzní genetice, který reprezentuje kvocient (udává vzájemný poměr hodnot téže veličiny) mezi pravděpodobnostmi stejných událostí v rámci dvou různých hypotéz. Příkladem LR může být index otcovství (PI), kde hypotéza H_0 představuje shodu mezi otcem a údajným synem z důvodu skutečné příbuznosti, a hypotéza H_1 představuje náhodnou shodu. Hodnoty PI lze převést na hodnoty pravděpodobnosti otcovství (W), kterou lze vypočítat jako $W = X/(X+Y)$ kde X a Y reprezentují pravděpodobnost hypotézy otcovství H_0 a náhody H_1 . Podobně lze vypočítat pravděpodobnost mateřství nebo příbuzenství.

4.1.2 Kazuistiky

V roce 1993 bylo v kostele sv. Margarety v německém Reichersdorfu při archeologickém průzkumu objeveno 8 koster, o kterých se podle náhrobních kamenů předpokládalo, že patří členům rodiny hrabat z Königfeldu, kteří kostel využívali jako rodinnou hrobku pro mužské členy v rámci sedmi generací v letech 1546 – 1749 (Gerstenberger et al., 1999). Kromě 8 mužských koster byla objevena ještě 1 kostra patřící ženě. Příbuzenství bylo prokazováno analýzou autozomálních STR i STR na Y chromozomu. U jedné kostry nebylo možné analýzu provést, protože byla v minulosti zničena zloději. Y-STR byly získány z 5 koster, u 4 koster výsledky prokázaly příslušnost k jedné

otcovské linii. U jedince Ma11 vyšla příbuzenská analýza negativně. Může to být způsobené nesprávnou identifikací jedince, jakoukoli záměnou v minulosti, ale s největší pravděpodobností se jedná o nemanželské dítě. Tento případ tedy přinesl otázky spojené s etikou takovýchto výzkumů. Pohlaví u juvenilního jedince Ma32 ve věku cca 15 let se morfologickými metodami nepodařilo zjistit. Archeology byl identifikován jako 13letý Karel Albrecht, analýza DNA ale ukázala, že ostatky patří ženě. Pravděpodobně jde o jeho sestru.

Podobně proběhla analýza ostatků připisovaných rodině ruského cara Mikuláše II., kterého i s rodinou v roce 1918 zavraždili komunisté. Srovnání DNA proběhlo za pomoci dvou doposud žijících maternálních linií (první k identifikaci Mikuláše II. a druhá k identifikaci jeho manželky a dcer), kdy byly zkoumány dvě mitochondriální hypervariabilní oblasti HVR1 a HVR2, a k tomu ještě jaderná DNA v oblasti Y-STR (Rogaev et al., 2009).

Příbuzenské vazby byly zkoumány u 6 koster z centrálního hrobu č. 244 z německého Ergoldingu datovaného do druhé poloviny 7. století, konkrétní odhad je 670 n. l. (Vaněk et al., 2009). Výzkum probíhal v letech 1997 – 2002, archeologický výzkum odhalil přes 440 hrobů. Cílem analýzy bylo vyvinout nový postup extrakce DNA, určit vztah mezi jedinci, určení haploskupiny Y chromozomu a porovnat zjištěný haplotyp se současnou populací. K analýze byly použity alespoň 10 cm dlouhé fragmenty femurů nebo celé femury. U každého vzorku byly provedeny minimálně 2 nezávislé extrakce. Jedinci 244a a 244b se ukázali jako sourozenci (bratři), jedinec 244c byl vůči nim vzdáleně příbuzný v rámci otcovské linie (např. vzdálený bratranec). Zbylí tři jedinci příbuzní nebyli.

Analýza DNA zásadním způsobem zasáhla do egyptologie. Po celou dobu od objevení Tutanchamonovy hrobky byla snaha najít mezi dosud objevenými mumii a kostrami jeho rodinu. Do roku 2007 vznikaly nejrůznější verze toho, která z mumii té doby patří některému z Tutanchamonových předků, s jistotou se ale nedalo nic říci. V letech 2007 – 2009 proběhl výzkum s účastí antropologů, radiologů a genetiků, do kterého bylo zahrnuto 11 tolik diskutovaných mumii (Hawas et al., 2010). Zkoumáno bylo 16 STR Y chromozomu a 8 polymorfních STR jaderného genomu. Příbuzenská analýza spolehlivě určila Tutanchamonovy rodiče a zároveň prarodiče (rodiče byli sourozenci), a rodiče jejich babičky. Předpokládá se, že byla v rámci analýzy nalezena mumie Tutanchamonovy manželky a že dva ženské plody objevené v jeho hrobce jsou opravdu jejich dcery, nicméně jisté identifikaci brání neúplná data.

Na raně křesťanském hřbitově Kongemarken v Dánsku byli muži a ženy pohřbíváni odděleně, ženy na severní straně a muži na jižní (Rudbeck et al., 2005). K příbuzenské analýze byly vybrány dvě oblasti severní strany, kde bylo nelogicky pohřbeno několik mužů. Analýza 10 koster pomocí mtDNA získané ze zubů vyloučila v rámci obou oblastí příbuzenství v mateřské linii, a tedy muži pohřbení mezi ženami s nimi nejsou příbuzní ve vztazích např. matka-syn nebo sestra-bratr. To ale nevylučuje, že se mohlo jednat o manžele nebo o dvojice otec-dcera.

Analýza 5 hrobů v Sytygane Syhe a Istekh-Myrane v centrálním Jakutsku prokázala pomocí autozomálních STR mezi jedinci SS1 a SS2 vztah „otec-syn“, SS3 by mohl být bratr nebo bratranec SS1 nebo SS2. Na základě mtDNA byl vyloučen blízký vztah dvou žen IM1 a IM2 („matka-dcera“, „sestra-sestra“, atd.), ale nebylo vyloučeno, že se jedná o sestřenice (Ricaud et al., 2006).

V řeckých Mykénách bylo v „hrobovém kruhu B“ pohřbeno 35 jedinců (Bouwman et al., 2008). Uvažovalo se, že pohřby představují různé dynastie nebo větve jedné rodiny. Hypotéza byla ověřována pomocí jaderné aDNA (17 autozomálních STR, 5 Y STR, 2 Y SNP) u 22 jedinců a mtDNA u čtyř jedinců. Výsledky byly doplněny rekonstrukcí obličeje. Analýza prokázala sourozenectví muže G55 a ženy G58.

STR profily jaderné aDNA vyjasnily příbuzenské vztahy v případě pozůstatků v kostele v San Esteban v Cuellar ve středním Španělsku (Gamba et al., 2011). Soubor tvořilo 5 mumii a 2 kostry z 15. století, u kterých bylo možné využít genealogické údaje. K vyhodnocení příbuznosti mezi jedinci byl také vypočítán poměr pravděpodobnosti otcovství, mateřství a příbuznosti. Genetická analýza vyvrátila řadu předpokladů ze strany archeologů a určila vztahy mezi jedinci, resp. je u několika jedinců vyloučila nebo navrhla některé alternativy vztahů.

Z archeologických objevů na našem území se analýza mitochondriální DNA výrazně uplatnila v případě trojhrobu objeveného v Dolních Věstonicích v roce 1986. Jak již bylo dříve zmíněno, nemetrické znaky potvrdily hypotézu příbuznosti jedinců (Alt et al., 1997). V roce 2011 byly publikovány první výsledky analýzy mtDNA všech tří jedinců, které příbuzenství v mateřské linii nepotvrdily (Krause a Svoboda, 2011). Výsledek byl tedy vůči nemetrickým znakům opačný. V roce 2013 byl ale výzkum dále a publikované výsledky na základě shodné mtDNA označily jedince č. 14 a 15 jako biologicky příbuzné v mateřské linii (Fu et al., 2013). Tento nejnovější výsledek tedy potvrdil závěry prvotního výzkumu nemetrických znaků a vyvrátil výsledky první analýzy mtDNA.

Příbuznost jedinců byla prokazována v případě hrobových jam z Kněževsi a Mikulčic (Urbanová, 2008). Ověřována byla příbuznost jedinců v rámci každé hrobové jámy. Příbuznost jedinců se nepodařilo stanovit kvůli málo úspěšné izolaci aDNA a velmi nízkým výtěžkům amplifikace (PCR). STR alely se nepodařilo získat v takovém množství, aby bylo možné se vyjádřit k příbuzenským vazbám zkoumaných jedinců.

4.2 Určení krevních skupin z kosterních pozůstatků a zbytků měkkých tkání

4.2.1 Metody

Určování krevních skupin AB0 systému z kosterních pozůstatků či zbytků měkkých tkání sloužila dříve jako doplňující analýza při ověřování biologické příbuznosti. Cílem je v ideálním případě příbuznost vyvrátit, nevýhodou je že touto metodou nikdy nelze příbuznost potvrdit.

Tento systém patří mezi tzv. erytrocytární povrchový systém (Eliášová a Šuláková, 2012). Na povrchu každého erytrocytu (červená krvinka) je antigen (aglutinogen), který má receptory na aglutininy, tedy protilátky, které jsou zodpovědné za srážení krve. Krevní skupina je dána tím, jaký antigen (aglutinogen) se u daného člověka vyskytuje. Krevní skupiny jsou kódovány jedním genem, který má 3 alely: I^A , I^B a i , (Stein a Rowe, 1993), čili alely A, B a 0 (někteří autoři tyto alely dále dělí na různé podtypy (Hummel et al., 2001; Geserick a Wirth, 2012)). Tento gen se nachází na dlouhém rameni 9. chromozomu (oblast 9q34), v lokusu tvořeném sedmi exony (Yamamoto, 1995; Geserick a Wirth, 2012). U každého jedince jsou přítomny dvě alely, jedna od každého rodiče, a proto mohou mít genotypický projev v 6 variantách náležících do 4 fenotypů AA a A0 (typ A); BB a B0 (typ B), AB (typ AB) a 00 (typ 0). Dědičnost alel A a B je dominantní, u alely 0 je recesivní. Alely A a B jsou ale vůči sobě kodominantní, u jedince nesoucího tyto alely se projeví současně jako krevní skupina AB.

Tab. 3. Přehled základních genotypů krevních skupin

Matka/otec	00	A0	AA	B0	BB	AB
00	00	A0, 00	A0	B0, 00	B0	A0, B0
A0	A0, 00	AA, A0, 00	AA, A0	00, AB	B0, AB	AA, A0, B0, AB
AA	A0	AA, A0	AA	A0, AB	AB	AA, AB
B0	B0, 00	A0, B0, AB	A0, AB	B0, BB	B0, BB	A0, BB, AB
BB	B0	B0, AB	AB	B0, BB	BB	BB, AB
AB	A0, B0	A0, AA, B0, AB	AA, AB	A0, B0, BB	BB, AB	AB

Pokud např. v případě hromadného pohřbu 4 jedinců (teoreticky muž, žena a dvě děti) zjistíme krevní skupinu B0 u muže a dětí a skupinu 00 u ženy, je příbuzenský vztah velmi pravděpodobný, přesněji nelze vyloučit, což také může naznačovat i nálezová situace. Pokud ale v případě hromadného pohřbu 4 dospělých jedinců vyjdou různé krevní skupiny (např. BB, B0, A0 a BB), nabízí se více řešení, a sice že mohou být všichni potomci rodičů B0 a AB, ale také mohou být pokrevně příbuzní jen jedinci typu B, nebo nemusí být příbuzní vůbec atd. Naopak v případě dítěte A0 (nebo AA), ženy 00 a muže B0 (nebo BB) je otcovství dítěte prakticky vyloučeno. Spolehlivější výsledky a upřesnění

výsledků analýzy krevních skupin může přinést analýza morfologických znaků na kostře, s jistotou ale biologickou příbuznost potvrdí nebo vyloučí jen analýza DNA.

Krevní skupiny lze z kostí zjistit dvěma způsoby. Prvním způsobem je sérologické vyšetření dvěma metodami (Dobisíková, 1999): absorpčně eluční metodou (AE) nebo absorpčně inhibiční metodou (AI). Stabilita AB0 systému je daná chemickou povahou antigenů, jedná se především o stabilní sacharidové jednotky (Dahr, 1988). To umožňuje sérologické vyšetřování krevních skupin dlouho po smrti. Nevýhodou je, že na sérologické vlastnosti krevních skupin může působit řada mikroorganismů a enzymů, které rozrušují jednotlivé skupinové vlastnosti, nebo je transformují či rozrušují charakter celého AB0 systému (Dobisíková, 1999).

Druhým způsobem stanovení krevních skupin je analýza DNA pomocí metody PCR (Lee a Chang, 1992; Hummel et al., 2002). Po PCR reakci jsou ke vzorku přidány specifické restriční enzymy (Ringel et al., 2000), které rozštěpí DNA tak, že je poté možné po obarvení na elektroforeze určit podle polohy restričních fragmentů krevní skupinu daného vzorku. Tato metoda je oproti sérologickému vyšetření spolehlivější a přesnější, a jednotlivé alely nejsou ovlivňovány tak jako v předcházejícím případě.

Navzdory vysoké stabilitě AB0 systému, dobře známé dědičnosti krevních skupin a poměrně přesným metodám jejich zjišťování, mají krevní skupiny ze všech známých metod využívaných pro ověřování biologické příbuznosti u anonymních lidských kosterních pozůstatků nejmenší výpovědní hodnotu.

4.2.2 Kazuistiky

Případů využívající analýzu krevních skupin při ověřování biologické příbuznosti u anonymních kosterních pozůstatků není mnoho. Nejčastěji se příbuznost pomocí krevních skupin ověřovala u živých lidí, především při testech paternity.

Využívat k ověření biologické příbuznosti u kosterních pozůstatků analýzu krevních skupin navrhl ve své práci již zmíněný Ullrich (1969), který se pokoušel sestavit rodokmen u pěti jedinců z poloostrova Pulitz. U jedinců II. a III. (pravděpodobně bratranec a sestřenice) byla zjištěna skupina A, u jedince IV. (pravděpodobně otec muže III) skupina AB a u jedinců I. (pravděpodobně otec ženy II.) a V. (pravděpodobně syn ženy II.) se krevní skupinu nepodařilo zjistit.

Využitím krevních skupin pro ověřování biologické příbuznosti se zabýval Rösing (1990), bohužel jen teoreticky bez prezentace výsledků u jím zkoumaného souboru. Nastínil ale výše uvedené výhody a nevýhody této metody, a zmínil dvě studie věnující se sérologii krevních skupin u egyptských mumií (Sporbert, 1975; Berg et al., 1975).

Analýza krevních skupin také doplnila příbuzenskou analýzu koster z královského pohřebiště v Abúsíru z 5. dynastie (Strouhal, 1992). U všech zkoumaných jedinců byla detekována krevní skupina A, což v souladu s výsledky srovnávání výskytu nemetrických znaků na kostrách potvrzuje hypotézu biologické příbuznosti jedinců.

U Přemyslovců potvrdily sérologické vlastnosti AB0 systému rodokmen sestavený podle historických poznatků (Vlček, 1997). Vzorky byly u Přemyslovců odebírány především z lebeční báze.

V případě Habsburků pohřbených v Praze byly vzorky odebírány z kostí a mumifikované tkáně, vlasů a nehtů (Vlček, 2000). Krevní skupiny byly stanoveny absorpčně eluční metodou. V tomto případě byla pomocí krevních skupin Rudolfa II. (00), jeho sestry Eleonory (A0) a jejich otce Maxmiliána II. (00) zpětně určena krevní skupina jejich matky Marie Španělské jako (A0), protože její pozůstatky nemohly být prozkoumány.

Dědičnost krevních skupin byla zkoumána i u rodiny Dietrichsteinů, a to oběma způsoby (Drozdová, 2006). Ne u všech zkoumaných jedinců se podařilo krevní skupinu detekovat. Analýza potvrzuje zjištěnou příbuznost jednotlivých členů a nepřímou vyloučila cizí osoby a levobočky.

5 Závěr

Z uvedených studií vyplývá, že ověřování biologické příbuznosti je u anonymních lidských kosterních pozůstatků možné pomocí několika základních přístupů. Je nutné brát v úvahu, že vždy zjišťujeme pouze míru či pravděpodobnost biologické příbuznosti.

V současnosti se při ověřování biologické příbuznosti stále nejvíce používají nemetrické dentální znaky a nemetrické znaky na lidské kostře. Jejich význam se ale nesmí přeceňovat, neboť mají své limity. Není též zcela objasněna etiologie všech sledovaných znaků, a tak by bylo do budoucna vhodné vytvořit kompilační práci minulých studií obohacenou o nové výzkumy.

Princip využití analýzy vedlejších obličejových dutin je pro ověřování biologické příbuznosti jednoduchý a z metodického hlediska dobře zvládnutý. Podle mého názoru nelze do budoucna očekávat velké změny v jejím využití a metodice.

V případě metrické analýzy se při ověřování biologické příbuznosti stále setkáváme s relativně nesourodými výsledky. V tomto případě se ukazuje, že různé části lidské kostry mají pro ověřování biologické příbuznosti různou výpovědní hodnotu. Vzhledem k absenci standardizovaného postupu, na kterou také upozorňují někteří autoři, by bylo pro danou problematiku přínosné vyvinout standardizovaný systém ověřování biologické příbuznosti pomocí metrické analýzy. Zdá se, že vzorová profilová analýza by mohla být oproti dřívějším postupům metrické analýzy přesnější a efektivnější. Vzhledem k jejímu doposud malému využití je však nutné k ověření tohoto předpokladu její rozšíření do více studií. Četnost jejího použití při ověřování biologické příbuznosti je v současné době nízká.

Nejspolehlivější metodou při ověřování biologické příbuznosti je analýza DNA. Vytlačila určování krevních skupin, které tak má v současnosti ze všech známých metod ověřování biologické příbuznosti nejmenší výpovědní hodnotu. Analýza DNA jako jediná umožňuje přesně rekonstruovat rodokmen. To metody fyzické antropologie u anonymních lidských kosterních pozůstatků bez dochované genealogické dokumentace spolehlivě neumožňují. I tato analýza DNA má svá omezení a rizika. Proto je důležitý multidisciplinární přístup a kombinování jednotlivých metod. Zatímco ověřování biologické příbuznosti pomocí jedné metody může být kritizováno pro nepřesnost a náhodnost, použití více metod výsledky zpřesňuje.

Problematiku ověřování biologické příbuznosti by podle mého názoru významně obohatilo a posunulo zpětné aplikování analýzy DNA u studií, které byly založeny na metodách fyzické antropologie. Několik takových studií se již objevilo a přináší zajímavé výsledky.

6 Seznam použité literatury

(* = sekundární citace)

Adachi, N, Dodo, Y., Ohsima, N., Doi, N., Yoneda, M., Matsumura, H. 2003: Morphologic and Genetic Evidence for the Kinship of Juvenile Skeletal Specimens from a 2,000 Year-old Double Burial of the Usu-Moshiri Site, Hokkaido, Japan. *Anthropological Science* 111(3), 347 – 363.

Adachi, N., Suzuki, T., Sakaue, K., Takigawa, W., Ohshima, N., Dodo, Y. 2006: Kinship analysis of the Jomon skeletons unearthed from a double burial at the Usu-Moshiri site, Hokkaido, Japan. *Anthropological Science*, vol. 114, 29 – 34.

Alt KW, Vach W. 1991. The reconstruction of genetic kinship in prehistoric burial complexes- problems and statistics. In: Bock H-H, Ihm P, editors. *Classification, data analysis and knowledge organization*. Berlin: Springer-Verlag. p 247-256.

Alt KW, Vach W. 1992. Non-spatial analysis of genetic kinship in skeletal remains. In: Schader M, editor. *Analysis and modeling data and knowledge*. Berlin: Springer-Verlag. pp 247-256.

Alt KW, Vach W, Wahl J. 1995. Verwandtschaftsanalyse der Skelettreste aus dem bandkeramischen Massengrab von Talheim, Kreis Heilbronn. *Fundberichte aus Baden-Württemberg* 20:195-217.

Alt, K. W., Vach, W. 1995a: Odontologic kinship analysis in skeletal remains: concepts, methods, and results. *Forensic Science International* 74: 99 – 113.

Alt KW, Vach W. 1995b. Detection of kinship structures in skeletal remains. In: Jacob B, Bonte W, editors. *Advances in forensic sciences: Vol. 7. Forensic odontology and anthropology*. Berlin: Köster. p 27-34.

Alt, K. W., Pichler, S., Vach, W., Klíma, B., Vlček, E., Sedlmeier, J. 1997: Twenty-Five Thousand-Year-Old Triple Burial from Dolní Věstonice: An Ice-Age Family? *American Journal of Physical Anthropology* 102: 123 – 131.

Alt KW, Vach W. 1998. Kinship studies in skeletal remains -concepts and examples. In: Alt KW, Rösing FW, Teschler-Nicola M, editors. *Dental anthropology: Fundamentals, limits, and prospects*. Wien: Springer. pp 537-554.

Berg, K., Rösing, F. W., Schwarzfischer, F, Wischerath, H. 1975: Blood grouping of old Egyptian mummies. *Homo* 26, 148 – 153.

Berry, A. C, Berry, R. J. 1967: Epigenetic variation in the human uranium. *Journal of Anatomy* 101: 361 – 379.

Bondioli, L., Corruccini, R. S., Macchiarelli, R. 1986: Familial segregation in the iron age community of Alfedena, Abruzzo, Italy, based on osteodental trait analysis. *American Journal of Physical Anthropology* 71: 393 – 400.

Bouwman, A. S., Brown, K. A., Prag, A. J. N. W., Brown, T. A. 2008: Kinship between burials from Grave Circle B at Mycenae revealed by ancient DNA typing. *Journal of Archeological Science* 35, 2580 – 2584.

Butler, J. M. 2005: *Forensic DNA Typing. Biology, Technology, and Genetics of STR Markers*. Elsevier (USA), Second Edition.

Cafer, A. M. 2010: Mitochondrial and YChromosomal DNA in the Analysis of Kinship: Methods, Current Practices, and Area of Further Inquiry. *Nebraska Anthropologist*. Paper 52, pp. 25 – 41.

- Cameriere, R., Ferrante, L., Molleson, T., Brown, B. 2008: Frontal Sinus Accuracy in Identification as Measured by False Positives in Kin Groups. *Journal of Forensic Sciences*, Vol. 53, No. 6.
- Cameriere, R., Mirtella, D., Ferrante, L., Cingolani, M. 2005: The variability of the frontal sinus characteristics among the Aragonesi dynasty. Second Mediterranean Academy of Forensic Sciences Congress, 2005 June 22-25; Monastir, Tunesia, Reggio, Calabria: Mediterranean Academy of Forensic Sciences, 2005.
- Carson, E. A. 2006: Maximum Likelihood Estimation of Human Craniometric Heritabilities. *American Journal of Physical Anthropology* 131:169 – 180.
- Case, D. T., Ossenberg, N. S., Burnett, S. E. 1998: Os Intermetatarsale: A Heritable Accessory Bone of the Human Foot. *American Journal of Physical Anthropology* 107:199 – 209.
- Case, D. T. 2003. Who's related to whom? Skeletal kinship analysis in Medieval Danish cemeteries. Ph. D. dissertation, Department of Anthropology, Arizona State University.
- Corruccini, R. S., Shimada, I. 2002: Dental relatedness corresponding to mortuary patterning at Huaca Loro, Peru. *American Journal of Physical Anthropology* 117: 113 – 121.
- Cox, M., Mays, S. 2002: Ancient DNA Applications in Human Osteoarcheology. *Human Osteology in Archeology and Forensic Science*. Greenwich medici Media Ltd., London.
- Dahlberg, G. 1926: Twin births and twins from a hereditary point of view. Stockholm: Stockholm Tidens Tryckeri.
- Dahr W: Alloantigens of proteins and glycoproteins in membranes of human red blood cells; in Mayr WR (ed): *Advances in Forensic Haemogenetics 2*. Berlin Heidelberg, Springer, 1988, pp 8-15.
- Dobisíková, M. 1999: Vyšetření skupinových vlastností AB0(H) systému. In *Antropologie: Příručka pro studium kostry*. Národní muzeum, Praha.
- Dobisíková, M., Eliášová, H. 2012: Forenzní antropologie. In Štefan, J., Hladík, J. a kolektiv. 2012: *Soudní lékařství a jeho moderní trendy*. Nakl. Grada, Praha 2012.
- Doi, N., Tanaka, Y., Funakoshi, K. 1986: A method for estimation of kinship based on tooth measurements and its application to the ancient human skeletons. *Journal of the Anthropological Society of Nippon*, 94:147 – 162 (In Japanese).
- Drozdová, E. 2006. Dietrichsteinové z Mikulova. Výsledky antropologického výzkumu vybraných příslušníků rodu. Masarykova univerzita, Brno.
- Dudar, J. C., Wayne, J. S., Saunders, S. R. 2003: Determination of a Kinship System using Ancient DNA, Mortuary Practice, and Historic Records in an Upper Canadian Pioneer Cemetery. *International Journal of Osteoarcheology* 13:232 – 246.
- Finnegan, M., Faust, M. A. 1974: Bibliography of human and non-human non-metric variation. Research Reports 14. Department of Anthropology, University of Massachusetts, Amherst: 1 – 131.
- Fu, Q., Mittnik, A., Johnson, P. L. F., Bos, K., Lari, M., Bollongino, R., Sun, Ch., Giemsch, L., Schmitz, R., Burger, J., Ronchitelli, A. M., Martini, F., Cremonesi, R. G., Svoboda, J., Bauer, P., Caramelli, D., Castellano, S., Reich, D., Pääbo, S., Krause, J. 2013: A Revised Timescale for Human Evolution Based on Ancient Mitochondrial Genomes. *Current Biology* 23: 1 – 7.
- Gamba, Ch., Fernández, E., Tirado, M., Pastor, F., Arroyo-Pardo, E. 2011: Brief Communication: Ancient Nuclear DNA and Kinship Analysis: The Case of a Medieval Burial in San Esteban Church in Cuellar (Segovia, Central Spain). *American Journal of Physical Anthropology* 144:485 – 491.

- Gerstenberger, J., Hummel, S., Schultes, T., Häck, B., Herrmann, B. 1999: Reconstruction of a historical genealogy by means of STR analysis and Y-haplotyping of ancient DNA. *European Journal of Human Genetics* 7, 469 – 477.
- Geserick, G., Wirth, I. 2012: Genetic Kinship Investigation from Blood Groups to DNA Markers. *Transfus. Med. Hemother.* 39:163–175.
- Goodwin, W., Linacre, A., Hadi, S. 2007: *An Introduction to Forensic Genetics*. Wiley, Chichester, West Sussex.
- Greene, M. 2011: Using craniofacial measurements to explore prehistoric genetic relationships in the middle San Juan region of New Mexico. Graduate Faculty of Anthropology, Eastern New Mexico University.
- Hanihara, T., Ishida, H. 2001: Frequency variations of discrete cranial traits in major human populations. I. Supernumerary ossicle variations. *Journal of Anatomy* 198: 689 – 706.
- Hauser, G., De Stefano, G. F. 1989: Epigenetic Variant of the Human Skull. *E. Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung, Stuttgart*: S. 301.
- Hawas, Z., Gad, Y. Z., Ismail, S., Khairat, R., Fathalla, D., Hasan, N., Ahmed, A., Elleithy, H., Ball, M., Gaballah, F., Wasef, S., Fateen, M., Amer, H., Gostner, P., Selim, A., Zink, A., Pusch, C. M. 2010: Ancestry and Pathology in King Tutankhamun's Family. *Journal of American Medical Association*, Vol. 303, No. 7.
- Henderson, R. S. 1963: Os intermetatarsium and a possible relationship to Haller's. *J. Bone Joint Surg.* 45B:117 – 121.
- Hofreiter, M., Serre, D., Poinar, H. N., Kuch, M., Pääbo, S. 2001: Ancient DNA. *Nature reviews, genetics*. Vol. 2, pp. 353 – 359.
- Horáčková, L., Vargová, L. 1997: Nejnovější lékařsko-antropologický výzkum kosterních pozůstatků z žerotínské hrobky v Bludově, 201 – 208. *Acta musei Moraviae: scientiae sociales*. Brno: Moravské muzeum.
- Hummel, S., Schmidt, D., Kahle, M., Herrmann, B. 2002: ABO blood group genotyping of ancient DNA by PCR-RFLP. *Int. J. Legal. Med.* 116 :327–333.
- Hummel, S. 2003: *Ancient DNA Typing-Methods, Strategies and Applications*. Springer Verlag Berlin, Heidelberg, New York.
- Cheverud, J. M., Buikstra, J. E. 1981: Quantitative genetics of skeletal nonmetric traits in the rhesus macaques on Cayo Santiago. I. Single trait heritabilities. *American Journal of Physical Anthropology* 54: 43 – 49.
- Kaestle, F. A, Horsburgh, K. A. 2002: Ancient DNA in Anthropology: Methods, Applications, and Ethics. *Yearbook of Physical Anthropology* 45:92 – 130.
- Kelley, J. O. 1989: Identification of family groups from genetic anomalies in the First Baptist Church cemetery. *American Journal of Physical Anthropology*, volume 78, number 2, pp. 251 – 252.
- Kiesslich, J., Neuhuber, F., Meyer, H. J., Baur, M. P., Leskova, J. 2005: DNA Analysis on Biological Remains from Archeological Findings – Sex Identification and Kinship Analysis on Skeletons from Mitterkirchen, Upper Austria. In: Karl, R.
- Knussmann, R. 1988: *Anthropologie. Handbuch der vergleichenden Biologie des Menschen. Band I: Wesen und Methoden der Anthropologie*. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, New York.

- Krause, J., Svoboda, J. 2011: První genetická analýza trojhrobu z Dolních Věstonic. *Vesmír* 90, květen 2011, s. 282 – 284.
- Leblanc, S. A., Turner, C. G., Morgan, M. E. 2007: Genetic Relationships Based on Discrete Dental Traits: Baskermarker II and Mimbres. *International Journal of Osteoarcheology* 18, 109 – 130.
- Leclair, B., Frégeau, Ch. J., Bowen, K. L., Fourney, R. M. 2004: Enhanced Kinship Analysis and STR-based DNA Typing for Human Identification in Mass Fatality Incidents: The Swissair Flight 111 Disaster. *Journal of Forensic Sciences*, Vol. 49, No. 5, pp. 1 – 15.
- Lee, J., Chang, J. 1992: AB0 genotyping by polymerase chain reaction. *J Forensic Sci* 37:1269–1275
- Leroux, H. 2012: The use of dental nonmetric traits for intracemetery kinship analysis and cemetery structure analysis from the site of Middenbeemster, the Netherlands. Dissertation. Leiden University, Faculty of Archaeology.
- Leskovar, J. (eds.), *Interpretierte Eisenzeiten. Fallstudien, Methoden, Theorie. Studien zur Kulturgeschichte von Oberösterreich*, 18, 147–154.
- Likovský, J., Velemínský, P. 2010: Antropologická charakteristika a morfologická variabilita populační skupiny z raně středověkého pohřebiště v areálu oppida Závist. *Archeologie ve středních Čechách* 14, 2, 2010: 807 – 828.
- Limberský, P., Likovský, J., Velemínský, P., Fleková, K. 2010: Kostrové pohřebiště vinařické skupiny ve Vlíněvsi, okres Mělník. Stěhování národů - populační skupina a vykrádání hrobů. *Památky archeologické CI*, 2010: 111 – 168.
- Martínez-Abadías, N., Esparza, M., Sjøvold, T., González-José, R., Santos, M., Hernández, M. 2009: Heritability of human cranial dimensions: comparing the evolvability of different cranial regions. *Journal of Anatomy* 214: 19 – 35.
- Matsumura, H. 1995: A microevolutional history of the Japanese people as viewed from dental morphology. *National Science Museum Monographs*, No. 9, National Science Museum, Tokyo, pp. 1 – 130.
- Matsumura, H., Nishimoto, T. 1996: Statistical analysis on kinship of the Nakazuma Jomon people using tooth crown measurements. *Zoo-archaeology*, 6: 1 – 17 (In Japanese).
- Molleson, T. 1987: Anne Mowbray and the Princes in the Tower: A study in Identity. *Lonfon Archeologist* 5: 258 – 262.
- Offenbecker, A. M., Case, D. T. 2012: Accessory Navicular: A heritable Accessory Bone of the Human Foot. *International Journal of Osteoarcheology* 22:158 – 167.
- Pääbo, S. 1989: Ancient DNA: Extraction, characterization, molecular cloning and enzymatic amplification. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, Vol. 86, pp. 1939 – 1943.
- Pääbo, S., Poinar, H., Serre, D., Jaenicke-Després, V., Hebler, J., Rohland, N., Kuch, M., Krause, J., Vigilant, L., Hofreiter, M. 2004: Genetic Analyses from Ancient DNA. *Annu. Rev. Genet.* 38:645–79.
- Pietrusewsky, M., Douglas, M. T. 1992: The skeletal biology of an historic Hawaiian cemetery: Familial relationships. *Homo* vol. 43/3, pp. 245 – 262.
- Pilloud, M. A., Larsen, C. S. 2011: “Official” and “practical” kin: Inferring social and community structure from dental phenotype at Neolithic Çatalhöyük, Turkey. *Journal of Physical Anthropology* 145: 519 – 530.

*Poznanski, A. K., Garn, S. M., Nagy, J. M., Gall, J. C. 1972. Cit. dle Case, D. T. 2003. Who's related to whom? Skeletal kinship analysis in Medieval Danish cemeteries. Ph. D. dissertation, Department of Anthropology, Arizona State University.

Ricaud, F. X., Kolodesnikov, S., Keyser-Tracqui, Ch., Alekseev, A. N., Crubézy, E., Ludes, B. 2004: Genetic analysis of human remains found in two eighteenth century Yakut graves at At-Dabaan. *International Journal of Legal Medicine* 118: 24 – 31.

Ricaud, F. X., Kolodesnikov, S., Keyser-Tracqui, Ch., Alekseev, A. N., Crubézy, E., Ludes, B.: 2006: Molecular genetic Analysis of 400-Year-Old Human Remains Found in Two Yakut Burial Sites. *American Journal of Physical Anthropology* 129:55 – 63.

Ricaud, F. X., Auriol, V., von Cramon-Taubadel, N., Keyser, Ch., Murail, P., Ludes, B., Crubézy, E. 2010: Comparison Between Morphological and genetic Data to estimate Biological Relationship: The Case of the Egyion Gol Necropolis (Mongolia). *American Journal of Physical Anthropology* 143:355 – 364.

Ringel, P. F., Weiler, G., Bein, G. 2000: Errors in AB0 typing of blood stains using PCR. *Int. J. Legal Medicine* 113:352 – 355.

Ritschmeier, J. T., Cheverud, J. M., Buikstra, J. E. 1984: The relationship between cranial metric and nonmetric traits in the rhesus macaques from Cayo Santiago. *American Journal of Physical Anthropology* 64: 213 – 222.

Ritschmeier, J. T., McGrath, J. W. 1986: Quantitative genetics of cranial nonmetric traits in randombred mice: Heritability and etiology. *American Journal of Physical Anthropology* 69: 51 – 58.

Rogaev, E. I., Grigorenko, A. P., Moliaka, Y. K., Faskhutdinova, G., Goltsov, A., Lahti, A., Hildebrandt, C., Kittler, E. L. W., Morozova, I. 2009: Genomic identification in the historical case of the Nicholas II. royal family. *PNAS*, vol. 106, no. 13, 5258 – 5263.

Rösing, F. W. 1986: Group report - Kinship analysis. In: Herrmann, B. (Ed.), *Innovative Trends in der Prähistorischen Anthropologie*. Mitt. Bln. Ges. Anthropol. Ethnol. Urgesch., vol. 7, pp. 95-98.

Rösing, F. W. 1990: *Quebbet el Hawa und Elephantine Zur Bevölkerungsgeschichte von Ägypten*. Familienstruktur. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart. New York.

Rudbeck, L., Gilbert, M. T. P., Willerslev, E., Hansen, A. J., Lynnerup, N., Christensen, T., Dissing, J. 2005: mtDNA Analysis of Human Remains From an Early Danish Christian Cemetery. *American Journal of Physical Anthropology* 128:424 – 429.

Scott, G. R., Turner, C. G. II. 1997: *The anthropology of modern human teeth. Dental morphology and variation in recent human populations*. Studies in biology 20, Cambridge University Press: pp. 382.

Shepherd, F. J. 1893: Symmetrical depressions on the exterior surface of the parietal bones. *Journal of Anatomy and Physiology* 27, 501-504.

Shipman, J. H. 1982: *Biological relationships among prehistoric western Pueblo Indian groups based on metric and discrete traits of the skeleton*. Dissertation, department of anthropology, The university of Arizona.

Sigaoardóttir, S., Helgason, A., Gulcher, J. R., Stefansson, K., Donnelly, P. 2000: The Mutation Rate in the Human mtDNA Control Region. *Am. J. Hum. Genet.* 66:1599–1609.

Simón, M., Jordana, X., Armentano, N., Santos, C., Díaz, N., Solórzano, E., López, J. B., González-Ruiz, M., Malgosa, A. 2011: The Presence of Nuclear Families in Prehistoric Collective Burials Revisited: The Bronze Age Burial of Montanissell Cave (Spain) in the Light of aDNA. *American Journal of Physical Anthropology* 146:406 – 413.

- Sjøvold, T. 1976-77. A method for familial studies based on minor skeletal variants. *Ossa* 3 – 4, 97 – 107.
- Sjøvold, T. 1984: A report on the heritability of some cranial measurements and non-metric traits. In: *Multivariate Statistical Methods in Physical Anthropology*, edited by G. N. van Vark and W. W. Howells, pp. 223-246. Doordrecht: D. Reidel.
- Sjøvold, T. 1986: Intrapopulation distances and genetic of non-metrical traits. In *Innovative trends in der prähistorischen Anthropologie. Mitteilungen der Berliner Gessellschaft für Anthropologie, Ethnologie und Ungerschichte. Band 7*, edited by B. Herrmann, pp. 81 – 93.
- Sjøvold, T. 1987: Decorated skulls from Hallstatt, Austria: The development of a research project. In *Theoretical approaches to artefacts, settlements and society. Studies in honour of Mats P. Malmer*, edited by G. Burenhult, A. Carlsson, A. Hyenstrand and Sjøvold, pp. 5 – 22. BAR International Series 366.
- Sjøvold, T. 1990: Brachycephalization in microevolutionary terms: The evidence from the Hallstatt cranial collection. In *Diachronic trends in historici anthropology*, edited by M. Stloukal, pp. 196 – 201. Acta Musei Nationalis: Prague.
- Sjøvold, T. 1995: Grave Reflections: Testing assumptions for skeletal studies by means of identified skulls from Hallstatt, Austria. Portraying the pat through Cemetery Studies. Chapter XII. Canadian Scholar's Press Inc., Toronto, Ontario.
- Slavec, Z. Z. 2004: New method of identifying family related skulls. *Forensic medicine, Antropology, Epigenetics*. Springer-Verlag, Wien.
- Sokal, R. R., Sneath, P. H. A. 1963: *Principles of Numerical Taxonomy*. W. H. Freeman and Company, San Francisco.
- Spence, M. W. 1996. Nonmetric trait distribution and the expression of familial relationships in a nineteenth century cemetery. *Noertheast Anthropol* 52:53-67.
- Sporbert, S. 1975: *Serologische Untersuchungen an Mumien*. Prüfungsarb. Lehramt München.
- Stein, P. L., Rowe, B. M. 1993: *Physical Anthropology*. 5th edition. McGraw-Hill, New York.
- Stojanowski, C. M. 2001: Cemetery structure, population aggregation, and phenotypic variability in the milion center sof La Florida. Ph. D. dizertation, Department of Anthropology, University of New Mexico.
- Stojanowski, C. M. 2003a: Differential phenotypic variability among the Apalachee populations of La Florida: A diachronic perspective. *American Journal of Physical Anthropology* 120: 352 – 363.
- Stojanowski, C. M. 2003b: Matrix decomposition model for investigating prehistoric intracemetery biological variation. *American Journal of Physical Anthropology* 122: 216 – 231.
- Stojanowski, C. M. 2005: Apalachee mortuary practices: Biological structure of the San Pedro y San Pablo de Patale milion cemetery. *Southeastern Archeology* 24: 165 – 179.
- Stojanowski, C. M., Schillaci, M. A. 2006: Phenotypic Approaches for Understanding patterns of Intracemetery Biological Variation. *Yearbook of physical anthropology* 49:49 – 88.
- Stojanowski, Ch. M., Larsen, C. S., Tung, T. A, McEwan, B. G. 2007: Biological Structure and health Implications From Tooth Size at Mission San Luis de Apalachee. *American Journal of Physical Anthropology* 132:207 – 222.

- Strouhal, E. 1992: Anthropological and archaeological identification of an ancient Egyptian Royal Family (5th Dynasty) *International Journal of Anthropology*, Volume 7, Issue 3, pp 43-63.
- Stuchlíková, J., Stuchlík, S., Stloukal, M. 1985: Ein Větěřov-Massenbräbnis aus Velké Pavlovice. *Anthropologie* 23, 1: 51 – 67.
- Szilvássy, J. 1986: Eine neue Methode zur intraserialen Analyse von Gräberfeldern. In: Herrmann, B. (Ed.), *Innovative Trends in der Prähistorischen Anthropologie*. Mitt. Bln. Ges. Anthropol. Ethnol. Urgesch., vol. 7, pp. 95-98.
- Štefan, J., Hladík, J. a kolektiv. 2012: *Soudní lékařství a jeho moderní trendy*. Nakl. Grada, Praha 2012.
- Turner, C. G. II., Nichol, C. R., Scott, G. R. 1991: Scoring Procedures for Key Morphological Traits of the Permanent Dentition: The Arizona State University Dental Anthropology System. *Advances in Dental Anthropology*: 13 – 31.
- Ullrich, H. 1969: Interpretation morphologisch-metrischer Ähnlichkeiten an ur- und frühgeschichtlichen Skeletten in verwandschaftlicher Hinsicht. *Zeitschrift für Archäologie* 3:48 – 88.
- Urbanová, M. 2008: Molekulárně biologické aplikace v archeologickém a antropologickém kontextu. *Dizertační práce*, Katedra antropologie a genetiky člověka PřF UK Praha.
- Vaněk, D., Sasková, L., Koch, H. 2009: Kinship and Y-Chromosome Analysis of 7th Century Human Remains: Novel DNA Extraction and Typing Procedure for Ancient Material. *Croat Medicine Journal*.
- Vaněk, D. 2011: *Forenzní genetik v procesu dokazování*. Praha, nakl. Forensica.
- Vaněk, D. 2012: Forenzní genetik. In Štefan, J., Hladík, J. a kolektiv. 2012: *Soudní lékařství a jeho moderní trendy*. Nakl. Grada, Praha 2012.
- Velemínský, P., Dobisíková, M. 2005: Morphological likeness of the skeletal remains in a Central European family from 17th to 19th century. *Homo* 56: 173 – 196.
- Vlček, E. 1997: *Atlas kosterních pozůstatků prvních sedmi historicky známých generací Přemyslovců s podrobným komentářem a historickými poznámkami*. Praha, nakl. Vesmír.
- Vlček, E. 1999: *Čeští králové I. Atlas kosterních pozůstatků českých králů přemyslovské a lucemburské dynastie s podrobným komentářem a historickými poznámkami*. Praha, nakl. Vesmír.
- Vlček, E. 2000: *Čeští králové II. Atlas kosterních pozůstatků Ladislava Pohrobka, Jiřího z Poděbrad a Habsburků pohřbených v Praze s podrobným komentářem a historickými poznámkami*. Praha, nakl. Vesmír.
- Wang, H., Ge, B., Mair, V. H., Cai, D., Xie., Ch., Zhang, Q., Zhou, H., Zhu, H. 2007: Molecular Genetic Analysis of Remains From Lamadong Cemetery, Liaoning, China. *American Journal of Physical Anthropology* 134:404 – 411.
- Warwick, R. 1986: Anne Mowbray: Skeletal Remains of a Medieval Child. *London Archeologist* 5: 176 – 179.
- Waters, L. 1958: Os intermetatarseum. *Journal of American Podiatry Association* 48:252 – 254.
- Wiltschke-Schrotta, K. 1988: *Das frühbronzezeitliche Gräberfeld von Franzhausen I: Analyse der morphologischen Merkmale mit besonderer Berücksichtigung der epigenetischen varianten*. Ph.D. Dissertation, Universität Wien.
- Yamamoto, F. 1995: Molecular genetics of the AB0 histo-blood group systems. *Vox Sang* 69:1–7.

7 Přílohy

<i>Přehled studií ověřování biologické příbuznosti od roku 2000 do současnosti.</i>	
Metodika	Literatura
Nemetrické osteologické znaky	Case, 2003; Slavec, 2004; Velemínský a Dobisíková, 2005; Stojanowski a Schillaci, 2006; Drozdová, 2006; Ricaut et al., 2010; Likovský a Velemínský, 2010; Limburský et al., 2010; Offenbecker a Case, 2012
Nemetrické dentální znaky	Stojanowski a Schillaci, 2006; Leblanc et al., 2007; Leroux, 2012
Vedlejší obličejové dutiny	Slavec, 2004; Cameriere et al. 2005, 2008
Metrické osteologické znaky	Case, 2003; Carson, 2006; Drozdová, 2006; Martínez-Abadiaz et al., 2009; Greene, 2011
Metrické dentální znaky	Adachi et al., 2003; 2006; Stojanowski et al., 2007
Analýza DNA	Kaestle a Horsburgh, 2002; Dudar et al., 2003; Ricaut et al., 2003; Adachi et al., 2003, 2006; Leclair et al., 2004; Rudbeck et al., 2005; Urbanová, 2008; Vaněk et al., 2009; Rogaev et al., 2009; Ricaut et al., 2010; Hawas et al., 2010; Cafer, 2010; Krause a Svoboda, 2011; Gamba et al., 2011; Simón, 2011; Fu et al., 2013
Sérologie krevních skupin	Vlček, 2000; Drozdová, 2006; Geserick a Wirth, 2012