



**Histología ósea: Métodos, técnicas y aplicaciones en antropología. Una revisión sistemática**

Edgardo Giraldo Gutiérrez

Monografía presentada para optar al título de Antropólogo

Asesora

Timisay Monsalve Vargas, PostDoctor (PostDoc) en Suelos y Tafonomía Ósea

Universidad de Antioquia  
Facultad de Ciencias Sociales y Humanas  
Antropología  
Medellín, Antioquia, Colombia  
2022

|                            |   |
|----------------------------|---|
| <b>Cita</b>                | (Giraldo Gutiérrez, 2022)   |
| <b>Referencia</b>          | Giraldo Gutiérrez, E. (2022). <i>Histología ósea: Métodos, técnicas y aplicaciones en antropología. Una revisión sistemática.</i> [Trabajo de grado profesional]. Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia. |
| <b>Estilo APA 7 (2020)</b> |   |



CRAI María Teresa Uribe (Facultad de Ciencias Sociales y Humanas)

**Repositorio Institucional:** <http://bibliotecadigital.udea.edu.co>

Universidad de Antioquia - [www.udea.edu.co](http://www.udea.edu.co)

**Rector:** John Jairo Arboleda Céspedes

**Decano/Director:** John Mario Muñoz Lopera

**Jefe departamento:** Sneider Rojas Mora

El contenido de esta obra corresponde al derecho de expresión de los autores y no compromete el pensamiento institucional de la Universidad de Antioquia ni desata su responsabilidad frente a terceros. Los autores asumen la responsabilidad por los derechos de autor y conexos.

## Tabla de contenido

|   |    |
|---|----|
| Resumen.....                                  | 8  |
| Abstract.....                                 | 9  |
| Introducción .....                            | 10 |
| Planteamiento del problema.....               | 13 |
| Antecedentes .....                            | 15 |
| Justificación .....                           | 16 |
| Objetivos .....                               | 18 |
| Objetivo general .....                        | 18 |
| Objetivos específicos .....                   | 18 |
| 1. Apuntes teóricos sobre el hueso .....      | 19 |
| 1.1 Osteología: alcances y limitaciones ..... | 19 |
| 1.2 Histología: el hueso a nivel micro .....  | 20 |
| 1.2.1 Hueso humano y no-humano.....           | 22 |
| 1.2.2 Estimación de edad .....                | 23 |
| 1.2.3 Histotafonomía y diagénesis .....       | 25 |
| 1.3 Métodos y técnicas en histología.....     | 27 |
| 2. Metodología .....                          | 31 |
| 2.1 Declaración PRISMA .....                  | 31 |
| 2.1.1 Identificación.....                     | 31 |
| 2.1.2 Tamización .....                        | 32 |
| 2.1.3 Elección.....                           | 32 |
| 2.1.4 Inclusión.....                          | 33 |
| 2.1.5 Flujograma .....                        | 34 |
| 2.2 Variables seleccionadas .....             | 35 |

|   |    |
|---|----|
| 2.3 Descripción y análisis .....                      | 35 |
| 3. Resultados .....                                   | 36 |
| 3.1 Distribución por países.....                      | 36 |
| 3.2 Línea temporal.....                               | 37 |
| 3.3 Muestras analizadas .....                         | 39 |
| 3.4 Técnicas.....                                     | 43 |
| 3.5 Métodos.....                                      | 44 |
| 3.6 Revistas académicas.....                          | 46 |
| 3.7 Variables medidas.....                            | 49 |
| 3.2 Análisis.....                                     | 51 |
| 3.2.1 Técnicas por año de publicación .....           | 51 |
| 3.2.2 Variables medidas por año de publicación.....   | 55 |
| 3.2.3 Variables medidas por pieza ósea empleada ..... | 60 |
| 3.2.4 Métodos por año de publicación.....             | 63 |
| 4 Discusión y conclusiones .....                      | 65 |
| Referencias.....                                      | 68 |
| Anexos .....  | 72 |

## Lista de tablas

|  |    |
|--|----|
| <b>Tabla 1.</b> Procedencia de las piezas óseas utilizadas para extracción de la muestras histológicas.                                | 39 |
| <b>Tabla 2.</b> Muestras empleadas en los estudios revisados .....   | 41 |
| <b>Tabla 3.</b> Muestras obtenidas del fémur .....   | 41 |
| <b>Tabla 4.</b> Muestras obtenidas de las costillas .....  | 42 |
| <b>Tabla 5.</b> Muestras obtenidas de huesos del cráneo .....  | 42 |
| <b>Tabla 6.</b> Técnicas microscópicas e histoquímicas utilizadas en los artículos de investigación revisados .....                    | 44 |
| <b>Tabla 7.</b> Tipos de métodos empleados en los estudios revisados.....  | 45 |
| <b>Tabla 8.</b> Revistas académicas en las que se publicaron los estudios incluidos en la revisión y su clasificación en Scimago. .... | 47 |
| <b>Tabla 9.</b> Clasificación Scimago de las revistas académicas en las que se publicaron los estudios incluidos en la revisión .....  | 48 |
| <b>Tabla 10.</b> Mediciones e índices empleados en los estudios revisados.....   | 50 |

## Lista de figuras

|  |    |
|--|----|
| <b>Figura 1.</b> Flujograma .....  | 34 |
| <b>Figura 2.</b> Distribución de artículos revisados por país .....  | 37 |
| <b>Figura 3.</b> Año de publicación de los artículos revisados .....   | 38 |
| <b>Figura 4.</b> Distribución procedencia de las muestras histológicas .....   | 40 |
| <b>Figura 5.</b> Piezas óseas utilizadas para la extracción de muestras histológicas .....   | 43 |
| <b>Figura 6.</b> Técnicas microscópicas e histoquímicas empleadas en los estudios revisados .....  | 44 |
| <b>Figura 7.</b> Tipos de métodos utilizados en los artículos revisados .....  | 46 |
| <b>Figura 8.</b> Frecuencia cuartiles Scimago de las revistas académicas en las que se publicaron los estudios incluidos en la revisión..... | 49 |
| <b>Figura 9.</b> Frecuencia de mediciones e índices empleados en los artículos incluidos en la revisión .....                                | 50 |
| <b>Figura 10.</b> Aplicación de microscopía de luz transmitida por año de publicación .....  | 51 |
| <b>Figura 11.</b> Aplicación de microscopía de luz polarizada por año de publicación.....  | 53 |
| <b>Figura 12.</b> Aplicación de microtomografía computarizada (Micro-CT) por año de publicación  | 54 |
| <b>Figura 13.</b> Aplicación de espectroscopía/espectrometría por año de publicación .....   | 55 |
| <b>Figura 14.</b> Medición Number of Fragmentary Osteons por año de publicación.....   | 56 |
| <b>Figura 15.</b> Medición Number of Intact Osteons por año de publicación .....   | 57 |
| <b>Figura 16.</b> Medición Osteon Population Density por año de publicación.....   | 58 |
| <b>Figura 17.</b> Medición Osteon Area por año de publicación .....  | 59 |
| <b>Figura 18.</b> Crystallinity Index por año de publicación.....  | 60 |
| <b>Figura 19.</b> Distribución de variables medidas en fémur .....   | 61 |
| <b>Figura 20.</b> Distribución de variables medidas en costillas .....   | 62 |
| <b>Figura 21.</b> Distribución de variables medidas en cráneo .....  | 62 |
| <b>Figura 22.</b> Métodos histomorfológicos por año de publicación.....  | 63 |

|   |    |
|---|----|
| <b>Figura 23.</b> Métodos histomorfométricos por año de publicación ..... | 64 |
| <b>Figura 24.</b> Métodos histoquímicos por año de publicación .....      | 64 |

## Resumen

El tejido óseo está de un individuo cambia constantemente a lo largo del ciclo vital, a estos procesos se les denomina en histología ósea Absorción, Resorción y Formación o secuencia ARF. Esta secuencia necesita de la acción de osteoblastos, osteoclastos y osteocitos, conocidos en conjunto como Unidad Multicelular Básica (Basic Multicellular Unit) y de cuya acción resultan las unidades básicas de análisis del tejido óseo que son las *osteonas* o *sistemas de Havers*. La monografía que aquí se expone presenta un protocolo para la búsqueda e identificación de artículos, estudios y publicaciones referentes a la histología ósea en el campo antropológico a la vez que explora los métodos, técnicas y aplicaciones de la histología ósea en este último campo. De igual manera se describe estadísticamente la bibliometría de los ítems mencionados, esto es, de los métodos, técnicas y aplicaciones de la histología ósea en la antropología.

*Palabras clave:* antropología, histología, histomorfología, histomorfometría, métodos, técnicas, revisión sistemática



### **Abstract**

The bone tissue changes constantly through the life cycle of each individual, this process is known in bone histology as Absorption, Resorption and Formation or also known as ARF sequence. This sequence needs the action of osteoblasts, osteoclasts, and osteocyte, altogether known as Basic Multicellular Unit and whose action results in the basic units of analysis present in the bone tissue: osteon or Havers System. This monography presents a protocol to search and identify articles, studies, and publications concerning bone histology in the anthropological field and at the same time explores methods, techniques, and applications of bone histology in this last said field. In addition, this monography statically describes the bibliometrics of these items already mentioned such as methods, techniques, and applications of bone histology in the anthropology field

*Keywords:* anthropology, histology, histomorphology, histomorphometry, methods, techniques, systematic review

## Introducción

La *histología ósea* encuentra sus cimientos en ciencias como la biología y la medicina, sin embargo, por sus aplicaciones, ha trascendido de forma gradual y cada vez con más fuerza las fronteras de las últimas explicado en parte por la pertinente dimensión que ha adquirido para otros campos y subcampos del conocimiento. Harold M. Frost, cirujano y ortopedista estadounidense en su artículo *The “new bone”: Some anthropological potentials* (1985), explica los mecanismos multicelulares presentes en el hueso y las funciones que cumplen. Las funciones incluyen crecimiento, modelado, remodelado, fisiología de microdaños y otros fenómenos que se consideran fundamentales para el crecimiento estructural y fisiológico del hueso: homeostasis, y mecanismos independientes que reparan lesiones tanto a nivel micro como macro (Frost, 1985). De este modo, la base de todo análisis histológico óseo se soporta en la comprensión e interpretación de la biología del hueso en tanto entender los procesos que controlan el crecimiento del hueso, su desarrollo y mantenimiento permite que el analista interprete los resultados histológicos y evalúe el hueso a un nivel histológico de manera confiable (García-Donas, Dyke, Paine, Nathana, & Kranioti, 2016).

A partir de esto último, Frost hace un llamado de atención sobre antropólogos, patólogos forenses y paleontólogos frente aquello que denominó *el nuevo hueso*. Éste tiene potencial para estudios antropológicos, forenses y paleontológicos sobre restos óseos y observar el efecto que tiene el sexo, la edad, la enfermedad, la nutrición, la actividad física, los hábitos corporales y la genética en el esqueleto (Frost, 1985). Dichas características y elementos tienen una expresión en el hueso y por tanto adquieren relevancia al momento de la *identificación* asertiva de personas.

Aunque el llamado que hace Frost se ubica temporalmente en 1985, Ellis R. Kerley, antropólogo, ya había advertido también en su artículo *The Microscopic Determination of Age in Human Bone* (1965) sobre las potencialidades que en ese momento poseía y posee aún la histología ósea en cuanto a los aportes que puede hacer a la resolución de los retos que supone la *identificación humana*. De esta manera, Kerley centró su análisis histológico en la *estimación de la edad al momento de la muerte* teniendo en cuenta que los métodos tradicionales para determinar la edad de los restos óseos se ven limitados en su aplicación por la condición o estado de estos últimos. Los indicadores de edad más útiles usualmente se encuentran fragmentados, erosionados o incompletos. En consecuencia, la precisión de la evaluación puede depender de la experiencia y experticia del analista (Kerley, 1965).

Así, es posible vislumbrar las posibilidades que ofrece la histología ósea en cuanto a la estimación de la edad, pero también a lo que ya se elude en líneas anteriores y es que permite acceder a información importante sobre los *efectos* que tienen las patologías, la nutrición, actividad física, el envejecimiento y el trauma sobre el esqueleto. Todas estas cuestiones de central relevancia al momento de la identificación de personas así como elementos importantes en la arqueología y por tanto parte fundamental del análisis antropológico.

Observaciones de este tipo se pueden hacer en el hueso de manera macroscópica, sin embargo, bien anota Kerley (1965), rasgos del hueso pueden encontrarse erosionados, deteriorados o fragmentados; es allí donde un análisis microscópico, que es posible realizar sin la totalidad de la pieza ósea, adquiere aún más sentido en tanto permite el ensanchamiento de la información y al mismo tiempo un acercamiento más preciso a contextos en donde es poco probable hallar la pieza ósea completa por la naturaleza misma del deceso y factores postmortem (desastres naturales, explosiones, conflagraciones, accidentes), por las características del hueso (fragmentado, deteriorado, frágil), por las peculiaridades del suelo en el que fue depositado -en cuyo caso puede encontrarse muy afectado por factores tafonómicos- o por hallarse y obedecer a contextos de guerra en donde los restos de las personas son deliberadamente fragmentados, aislados o mezclados para imposibilitar su identificación (Ubelaker, 2018). Este último asunto es de especial importancia ya que es a partir de dicha posibilidad que la histología ósea adquiere un papel preponderante en los desafíos que presenta el caso colombiano.

Conforma a ello, se proyecta aquí la elaboración de una *revisión sistemática* que posibilite el conocimiento a profundidad de los métodos, técnicas y aplicaciones que tiene la histología ósea en el campo de la antropología, así como disponer de evidencia actualizada alrededor de este tema y la pregunta de investigación planteada. De esta manera se pretende mostrar sus potencialidades en el contexto local a la vez que permita entrever hacia dónde apuntan las investigaciones y publicaciones de este tipo y valorar por qué es importante actualizar, afianzar y analizar dichos conocimientos.

Este acercamiento tiene como objetivo además la identificación de patrones, tendencias o divergencias en los resultados y el análisis de la información incluida que proporcione estimaciones sobre las investigaciones tenidas en cuenta y su posterior evaluación estadística siguiendo los lineamientos propuestos por Cardona, Higueta, & Ríos en *Revisiones Sistemáticas de la Literatura*

*Científica* (2016), *La declaración PRISMA para la elaboración y reporte de revisiones sistemáticas* (Moher et al., 2009) y la *Guía Cochrane* (Higgins & Green, 2011).

### Planteamiento del problema

La *osteología* se define como el estudio de los huesos humanos. El conocimiento que produce es empleado por científicos para la recuperación e interpretación de los huesos (White, Black, & Folkens, 2012). Uno de los campos que están por fuera de las ciencias anatómicas y médicas con más aplicación es la *osteología forense*, subcampo de la *antropología forense*; contribuyendo a una de las áreas de interés más antiguas de los antropólogos y antropólogas como es la determinación o estimación de la edad, sexo, ascendencia o filiación poblacional, estatura, patologías y otras anomalías (Cattaneo, 2007; White et al., 2012). Para este propósito, una recuperación, registro e inventariado correctos son el primer y fundamental paso, además de servir a la coordinación y aplicación de investigaciones en diferentes poblaciones (Adams & Byrd, 2008; Buikstra & Ubelaker, 1994; Cattaneo, 2007) y ayudar a la consolidación de colecciones de referencia. Esto último teniendo en cuenta que la heterogeneidad poblacional es el límite principal para la realización de mencionados objetivos (Desántolo, 2012).

Desde el campo *bioantropológico*, sin embargo, no se han desarrollado sólo técnicas macroscópicas que permitan alcanzar la caracterización, conocimiento e interpretación de los restos óseos; las técnicas histológicas complementan y aportan a la consecución de estos objetivos (Desántolo, 2012).

La *histología*, definida como el estudio de los tejidos a nivel microscópico (White et al., 2012) y su inclusión en el campo antropológico aplicada principalmente en huesos, puede robustecer los análisis que tienen como objeto proveer información importante a la que no sería posible acceder por otros métodos (Crowder et al., 2018). La base de cualquier análisis histológico es el entendimiento y la interpretación de la *biología ósea* que guía la creación de las estructuras histológicas; entender el proceso que rige el crecimiento óseo, su desarrollo y mantenimiento permite al analista interpretar y evaluar el hueso de manera confiable a nivel microscópico (Crowder et al., 2018).

Los estudios de Currey (1964), Kerley (1965) y Frost (1965) centrados en los *cambios* estructurales y morfológicos para hablar de *edad* o *envejecimiento* son referenciados como cimentales en cuanto a la medición y caracterización del tejido óseo. A partir de allí, diversas evaluaciones a través de distintos métodos y técnicas tienen lugar en la *histología ósea* y consecuentemente en el campo antropológico. Como resultado, es posible realizar un acercamiento

al crecimiento y desarrollo del hueso histológicamente y su posterior potencial forense en la medida en que es un proceso caracterizado por la complejidad de la interacción entre sistemas biológicos jerárquicos que se constituyen, precisamente, como las áreas a estudiar: influencia de la genética, dieta/nutrición, crecimiento lineal o estatura y la adaptación ósea funcional. De la misma manera, la identificación oportuna de las diferencias y semejanzas entre *hueso humano* y *no-humano* a una escala microscópica, además de la posibilidad de descarte temprano, tiene potencialidades importantes en áreas de estudio como *desarrollo*, *evolución* y *biomecánica*, pero además contribuye a aplicaciones prácticas en antropología forense que apuntan a la identificación del origen del hueso (Crowder & Stout, 2012).

Por otro lado, las *técnicas histológicas* aunadas principalmente a la instrumentación microscópica también ocupan un espacio importante en las investigaciones y publicaciones propias de este campo. Esto requiere un conocimiento amplio tanto del tejido óseo y sus propiedades así como de la microscopía y los artefactos y herramientas diseñadas con este objetivo.

En términos generales, la mayoría de los métodos desarrollados y aplicados en este campo del conocimiento tienen su origen en países del norte global, esto implica que el desarrollo y diseño de dichos métodos tengan como principal referencia las características de la población de esos países. En el contexto local, dada la complejidad demográfica de la población —10,5% afrocolombianos, 3,4% indígenas 37% blancos y 49% mestizos — (Monsalve & Hefner, 2016) y la interminable tarea de caracterizar una población mayoritariamente *mestiza* da como resultado que aquellos métodos que apuntan a la obtención del *perfil biológico* de los individuos terminan sin ser completamente aplicables y adquieren un mayor margen de error en comparación con las estimaciones que se hacen en aquellos países donde se tiene una población más homogénea. Teniendo en cuenta que se aborda aquí un campo del conocimiento que se abrió hace alrededor de 70 años y que su exploración en Sudamérica y Colombia ha sido poco, cabe preguntarse así por lo que se ha hecho en *histología ósea* aplicada al campo antropológico en diferentes lugares del planeta y cómo ha sido dicho abordaje: *¿Cuáles son los principales métodos, técnicas y aplicaciones de la histología ósea sobre el campo antropológico?*

### Antecedentes

El estudio de Ellis Kerley (1965) es el antecedente más antiguo que se tiene para los temas aquí propuestos. En tanto fue necesarios ir más allá de las observaciones y análisis morfoscópicos; en la citada investigación se utilizó un método basado en el análisis y la observación microscópica de la cortical de los huesos largos y el conteo de osteonas completas y fragmentarias. Otro antecedente aquí previamente citado e importante de resaltar es el de Frost (1985) donde se describen de manera pertinente y clara las estructuras y mecanismos del hueso a nivel microscópico. Allí se menciona la *Basic Multicellular Unit* (BMU), objeto principal de los estudios, métodos y técnicas que florecieron posteriormente en esta área.

En nuestro continente los estudios de Desántolo (2012) y Restrepo (2016) aparecen como los antecedentes más inmediatos para los temas presentes. En el primero se analiza la validez y ajuste de diferentes métodos microscópicos para estimar edad a la muerte en restos óseos humanos adultos documentados del Cementerio Municipal de La Plata. En el segundo se estima la edad aplicando el método histomorfológico en costilla de Streeter (2010) en restos óseos de individuos subadultos pertenecientes a la colección de referencia del Laboratorio de Antropología Osteológica de la Universidad de Antioquia. Para antecedentes en cuanto a revisiones se hallaron los estudios de Milovanovic & Busse (2019), en el cual hace una revisión de las técnicas para acceder a la información sobre la variabilidad de la red lagunar de osteocitos en el hueso humano. También se resalta aquí la revisión hecha por Maggio & Franklin (2020) en el que aparte de la revisión mencionada se aplica un análisis de los métodos reportados para estimación de edad en el córtex del fémur. Pese a estos antecedentes existe una escasez bastante pronunciada de revisiones sistemáticas acerca de este tema en todos los idiomas. No se hallaron antecedentes de revisiones sistemáticas sobre este tema en español o realizado por investigadores en países de habla hispana.

## Justificación

A pesar de la luz que pueden arrojar estos asuntos y el camino que nos señala al momento de la identificación de un individuo, se deben considerar primero las situaciones que son usuales al momento de estimar las características que lo permiten. Es posible inferir a partir de ciertas observaciones del hueso tanto microscópica como macroscópicamente, caracteres individualizantes que guíen un acercamiento preciso a la identificación y elaboración del *perfil biológico*, sin embargo, cuando se consideran los retos que se presentan a antropólogos y antropólogas en un escenario medicolegal o arqueológico, donde las condiciones de los restos pueden ir desde tejido blando intacto hasta fragmentos de hueso con altos grados de calcinación y fragmentación, el camino de la identificación no siempre empieza con la pregunta ‘¿quién es este individuo?’ (Crowder, Andronowski, & Dominguez, 2018). Así pues, se tiene que en algunos casos la pregunta guía inicial gira entorno a conocer la naturaleza de los restos hallados, es decir, comprobar si en efecto corresponden a un ser humano o si por el contrario pertenecen a otro animal ya que, en una investigación de este tipo, la identificación rápida del hueso como no-humano ahorra tiempo valioso y recursos (Crowder & Stout, 2012). En casos donde los restos se encuentran aislados, incompletos o alterados por enfermedad o factores tafonómicos, las colecciones comparativas en conjunto con la literatura científica han probado ser de bastante ayuda en el momento de aclarar si los restos tienen origen humano o no (Ubelaker, 2018).

Para determinar dicho origen, es necesario entonces conocer las diferencias y semejanzas que tienen los seres humanos y algunos animales, así como las formas y las razones de estas a nivel microestructural. Los patrones de crecimiento, los requerimientos nutricionales y las fuerzas mecánicas de los seres humanos son diferentes si se comparan con los de otros animales, viéndose esto reflejado en la microestructura del hueso (Crowder & Stout, 2012).

Otro potencial que se señala de la investigación en histología ósea es el aporte de información en contextos *arqueológicos* que de otra manera no se podría acceder, y que se expande teniendo en cuenta la cantidad de trabajos publicados en los que se aplican métodos histológicos a muestras arqueológicas (C. Crowder & Stout, 2012). De esta manera se incluye también en el campo de la *bioarqueología* definida como el estudio de restos humanos procedentes de sitios arqueológicos, entendidos e interpretados considerando el contexto del que derivan (Crowder & Stout, 2012).



En el caso colombiano estas acepciones terminan siendo fundamentales si consideramos lo que se referenció aquí con anterioridad y es que, dada la naturaleza del conflicto armado interno que ha padecido el país por cerca de 60 años y su degradación, se cuenta —pese al subregistro— con la cifra de más de 60 mil personas desaparecidas forzosamente (Centro Nacional de Memoria Histórica, 2016). En Colombia este delito “es un problema de dimensiones insospechadas, ya que la construcción de cifras rigurosas, exactas, fidedignas y verificables es —de hecho— un ejercicio de la máxima complejidad por ser un delito que, dada su naturaleza, entraña el ocultamiento” (Centro Nacional de Memoria Histórica, 2014, p. 244).

La construcción de los aportes que puede hacer la histología ósea desde la antropología en el sentido que aquí se ha discutido, debe hacerse desde los cimientos, de ahí que el propósito del presente proyecto sea identificar y abordar de manera sistemática y analítica lo que ya se ha construido desde lo teórico, técnico y metodológico en este campo del conocimiento así como el tratamiento y las aplicaciones que han tenido estos temas de investigación en distintas áreas y latitudes; realizando así un acercamiento a las especificidades y necesidades implicadas en cada caso, posibilitando de esta manera un mapeo estadístico detallado en diferentes niveles del tema en cuestión aportando de esta manera a la suma en cuanto al abordaje de la histología ósea y sus aplicaciones en la antropología en nuestro lado del globo debido a la escasez de información sobre este.

## **Objetivos**

### **Objetivo general**

Presentar una revisión sistemática de los métodos, técnicas y aplicaciones de la histología ósea empleados en el campo antropológico.

### **Objetivos específicos**

- Realizar un protocolo para la búsqueda e identificación de estudios y publicaciones referentes a la histología ósea en el campo antropológico
- Identificar los métodos, técnicas y aplicaciones de la histología ósea empleados en el campo antropológico
- Describir la bibliometría de la histología ósea, sus métodos, técnicas y aplicaciones de la histología ósea en el campo antropológico.
- Analizar las asociaciones estadísticas entre los métodos, técnicas y aplicaciones de la histología ósea en el campo antropológico

## 1. Apuntes teóricos sobre el hueso

### 1.1 Osteología: alcances y limitaciones

La osteología en tanto definida como el estudio de los huesos humanos, constituye una parte fundamental de los análisis y estudios en antropología biológica. Su aplicación en el campo arqueológico (bioarqueología) se observó antes de adquirir un papel de importancia superlativa en el campo forense dado que cuando se recuperan restos óseos en dichos contextos (forenses o arqueológicos), usualmente se requiere que se hagan estimaciones que van más allá de la pregunta sobre si se trata de restos humanos o no. Dichos restos se encuentran con frecuencia sin documentación que de alguna una idea sobre la *edad, el sexo, la estatura o la ascendencia* del individuo.

La literatura que aborda la osteología humana contiene la descripción del desarrollo de métodos que permiten la identificación precisa de rasgos presentes en las piezas óseas. El objetivo de la osteología forense a menudo involucra la identificación de un individuo desconocido (White, 2012). Para agotar las posibilidades el investigador debe establecer y explorar las características individuales del esqueleto. En contextos arqueológicos, dicha identificación no se realiza de esta forma, en su lugar el osteólogo se concentra sobre los restos de tantos individuos como sea posible, es decir, que representen una población biológica de la que se pueda obtener información como dieta, salud o afinidad biológica (White, 2012).

Sumado a esto, y teniendo en cuenta que los análisis forenses ocupan una parte importante de las preguntas que se le hacen al hueso, tenemos que muchos de estos análisis abordan diversos problemas que van más allá de la consecución del *perfil biológico*, tales como intervalo de muerte, trauma (tiempo, factores biomecánicos e implementos usados) y por último circunstancias de la muerte (Dirkmaat, Cabo, Ousley, 2008).

El análisis osteológico tiene entonces como principal potencial el desarrollo de métodos y técnicas que aporten a la precisión para el conocimiento e interpretación de los huesos, esto último se inscribe como un aporte primordial si aceptamos la definición de antropología forense como la disciplina científica que se centra en la vida, muerte y posmuerte de un individuo específico reflejadas principalmente en sus restos óseos y el contexto físico y forense en el que se hallan

(Dirkmaat, Cabo, Ousley, 2008). En un escenario forense se espera sin embargo que los antropólogos forenses vayan más allá de la reconstrucción de la vida del individuo y consideren las circunstancias específicas alrededor de la muerte y la alteración del cuerpo después de la muerte (Dirkmaat, Cabo, Ousley, 2008). Así, la inclusión de métodos y técnicas en el hueso y que se ubican otros niveles de interpretación como a nivel micro, puede robustecer los resultados analizados y lo que es más importante, brindar información que no puede ser obtenida por otros métodos utilizados en la construcción del perfil biológico del individuo (Crowder, Andronowski, & Dominguez, 2018).

## 1.2 Histología: el hueso a nivel micro

La *histología* es el estudio de los tejidos, usualmente a un nivel microscópico. Se encuentran dos tipos de hueso en mamíferos: *inmaduro* y *maduro*. El hueso inmaduro es el primer tipo de hueso en desarrollarse durante la vida prenatal y su existencia es usualmente temporal a medida que el crecimiento continúa y se reemplaza por hueso maduro. El hueso inmaduro se suele formar rápidamente y es característico del esqueleto embrionario, sitios donde se está reparando una fractura, una variedad de tumores óseos (White, 2012) y hueso animal o perteneciente a mamíferos de otras especies (Ubelaker, 2018).

El tejido óseo es un tejido conjuntivo especializado que está compuesto por células y matriz extracelular. La característica que distingue el tejido óseo de otros tejidos conjuntivos es la mineralización de su matriz, produciendo de esta manera un tejido duro capaz de proveer sostén y protección. Dicha mineralización se realiza a través de fosfato de calcio en forma de *cristales de hidroxapatita*. Dado su contenido mineral, el tejido óseo también recibe y deposita calcio que puede ser captado por la sangre para mantener las concentraciones adecuadas en el organismo, cumpliendo de esta manera también una función *homeostática* (Ross & Wojciech, 2008). En la matriz se encuentra un tipo de célula ósea: *osteocito*; estos se ubican en las *lagunas de howship* u *osteoplastos* y extienden una gran cantidad de prolongaciones denominados canalículos (Ross & Wojciech, 2008). Así como los osteocitos, en el hueso se encuentran otros cuatro tipos de células de importancia para el estudio y análisis antropológico: *osteoblastos*, *osteoclastos* y *células de revestimiento óseo*.

El metabolismo óseo, sea para crecimiento, adaptación u homeostasis requiere de los dos primeros: osteoblastos (formadores de hueso) y osteoclastos (reabsorción de hueso) (Crowder & Stout, 2012; Ross & Wojciech, 2008). Estas células se asocian en su actividad normal con dos procesos fisiológicos conocidos como *modelado* y *remodelado*. La segunda es el mecanismo por el cual hueso más antiguo es reemplazo por la acción de los osteoclastos y osteoblastos, en conjunto denominados Unidad Multicelular Básica (Basic Multicellular Unit-BMU). Este proceso se describe en tres fases distintas: Activación, Resorción y Formación. (ARF) (Crowder & Stout, 2012). El remodelado óseo ocurre en todas las superficies del hueso, incluyendo el endostio y hueso trabecular, sin embargo, la evidencia histomorfológica sugiere que las observaciones son más confiables si se hacen en el hueso cortical dado que en este último las osteonas y su microestructura se encuentra bien definidas, de allí también que la mayoría de métodos empleados en los análisis antropológicos se basen en el remodelado del hueso cortical (Crowder & Stout, 2012).

El hueso maduro se encuentra compuesto principalmente por unidades llamadas *osteonas* o *sistemas de Havers* y consisten en laminillas concéntricas de matriz ósea alrededor de un conducto central conocido como *conducto de Havers* (Ross & Wojciech, 2008). El término *osteona secundaria* es usado comúnmente para referirse a las estructuras resultantes de la actividad de remodelación intracortical, diferenciándose de las *osteonas primarias* que son similares en apariencia. Estas últimas no son producto de remodelado sino formación de hueso laminillar alrededor de un canal central sin una resorción de la secuencia ARF. Las osteonas se consideran completas cuando sus líneas reversas se encuentran intactas. A lo largo del proceso de remodelado óseo es posible el desarrollo de distintos tipos de osteonas tales como *osteonas tipo I*, *osteonas tipo II*, *osteonas de doble zona* y *osteonas de deriva* (Crowder & Stout, 2012).

La base de cualquier análisis histológico se haya en la interpretación y entendimiento de la biología del hueso la cual guía la creación de las estructuras histológicas presentes en el mismo. Entender el proceso que gobierna el crecimiento óseo, su desarrollo y mantenimiento permite al analista interpretar y evaluar de manera confiable el hueso a nivel histológico y los posteriores resultados (Crowder, Andronowski, & Dominguez, 2018). El análisis histológico requiere del examen de secciones delgadas de hueso cortical bajo el microscopio para cualificar y cuantificar las estructuras observadas. La cuantificación de la remodelación ósea, microarquitectura y actividad celular dinámica y estática, se realiza a través de medidas y conteo de estructuras para caracterizar así los cambios que se dan en el hueso en una dimensión histomorfológica (Crowder

& Stout, 2012). Los métodos cuantitativos para caracterizar, conocer e interpretar tales cambios suelen referenciarse como *histomorfométricos* y son la cuantificación de las microestructuras en el tejido óseo o sus características. Análisis de este tipo proveen información cuantitativa en términos de remodelado y microarquitectura que no puede ser obtenida por medio de otros acercamientos (Crowder & Stout, 2012). La histomorfología ósea, por otro lado, se refiere a la forma de los tejidos y células, e involucra un acercamiento cualitativo para examinar la estructura y la forma del hueso microscópicamente. A través de los análisis histomorfológico e histomorfométrico se hace posible para antropólogos y antropólogas desarrollar y probar hipótesis que nutren la interpretación de la biología ósea. La cuantificación de los cambios óseos, la microestructura y la actividad celular estática y dinámica es realizada a través de mediciones y conteos de las estructuras para caracterizar cambios en la histomorfología (Crowder et al., 2018).

### ***1.2.1 Hueso humano y no-humano***

En la práctica de la antropología forense, el reconocimiento de la especie o especies a las que pertenecen los restos hallados son un objetivo importante. Si las piezas se encuentran en un alto grado completas, los antropólogos forenses están altamente calificados y con las suficientes habilidades y herramientas para determinar la especie a partir de sus características morfológicas (Ubelaker, 2018). Sin embargo, en casos donde se presentan aislados, incompletos o alterados por factores tafonómicos, las colecciones de referencia aunadas a la literatura científica ayudan a aclarar si se trata de restos humanos. En muchos de los casos entregados a la antropología forense existe fragmentación extendida de los restos asociados con una considerable alteración tafonómica.

La evidencia fragmentada puede representar un reto importante incluso para antropólogos experimentados. Situaciones de diversos tipos pueden producir fragmentación, incluido el trauma contundente, herida por arma de fuego y factores postmortem (Ubelaker, 2018). De esta manera, el análisis forense no siempre inicia con la pregunta '*¿quién es este individuo?*' (Crowder, Andronowski, & Dominguez, 2018) sino que es necesario remitirse a la diferenciación entre hueso humano y no humano en un primer momento sin perder de vista los desafíos que traen consigo los distintos y variados contextos forenses y arqueológicos y, como se anotó, las condiciones en las que se encuentre el material óseo. Bajo esta idea, la inclusión de métodos microscópicos robustece de manera considerable el acercamiento y el resultado final sobre el análisis del hueso (Crowder,

Andronowski, & Dominguez, 2018). En un contexto medicolegal una rápida identificación de los huesos como no-humanos ahorra tiempo y recursos que pueden terminar siendo valiosos.

Los humanos sostienen diferencias sustanciales en los patrones de crecimiento, requerimientos nutricionales y estrés mecánico si se comparan con otros animales; esto se ve claramente reflejado en la microestructura del hueso. *¿Cómo y por qué el hueso humano difiere del hueso de otros animales a nivel de microestructura?* (Mulhern & Ubelaker, 2012) es la pregunta que guía la necesidad de identificar las diferencias y semejanzas tanto cualitativas como cuantitativas entre hueso humano y hueso no-humano y es importante porque ayuda a abordar estudios sobre crecimiento, desarrollo, evolución, requerimientos nutricionales y estrés biomecánico pero también porque tiene una aplicación práctica en la antropología forense que apunta a la identificación del origen de un hueso que ha sido alterado de forma tafonómica (Mulhern & Ubelaker, 2012).

Las diferencias en el tejido óseo entre individuos de un mismo taxón se deben a su vez a las diferencias en la cantidad relativa de tres tipos de hueso: lamelar, laminar y Haversiano (Mulhern & Ubelaker, 2012). El hueso lamelar tiene una disposición más organizada que el hueso entetejido o *woven bone* e incluye hueso primario que se ubica en una superficie de hueso ya existente como puede ser el hueso circunferencial o el hueso laminar así como hueso secundario que reemplaza el hueso existente. Los sistemas de Havers u osteonas secundarias son el producto de la remodelación ósea realizada por osteoclastos y osteoblastos donde una cavidad es excavada y luego llenada con láminas concéntricas dejando un canal vascular en el centro. Con pocas excepciones, la mayoría de los vertebrados y mamíferos no dejan huellas de remodelado (Mulhern & Ubelaker, 2012), es decir que en el tejido óseo humano el hueso presenta una disposición organizada y con signos de remodelado óseo que dejan como producto sistemas de Havers, contrario a lo que se observa en animales en los cuales el hueso entetejido es predominante.

### ***1.2.2 Estimación de edad***

La estimación de la edad del esqueleto por medio de métodos antropológicos se trata del establecimiento de la *edad biológica* para en un segundo momento relacionarla con la *edad cronológica* al momento de la muerte, en este sentido, *crecimiento* y *maduración* son términos que desde la literatura aluden directamente a los procesos del hueso y sus cambios estructurales durante

el ciclo vital. La edad biológica hace referencia al tiempo de desarrollo de un individuo que va desde su concepción hasta el momento de realizar el estudio, la edad cronológica por su parte se refiere al lapso que va desde el nacimiento hasta el momento en que se le aplica la estimación de la edad al individuo (Restrepo, 2016).

Los cambios biológicos están influenciados por el sexo, la ascendencia, la actividad ocupacional, las enfermedades y la nutrición, dando como resultado que la relación entre edad biológica y edad cronológica no siempre coinciden (Restrepo, 2016); el efecto más significativo de la nutrición en el desarrollo óseo, por ejemplo, es cuando hay una deficiencia de nutrientes; teniendo como efecto inmediato la reducción del crecimiento longitudinal en niños (Crowder & Stout, 2012). El crecimiento es un término utilizado para describir los cambios progresivos en tamaño y morfología durante el desarrollo de un individuo. Está positivamente correlacionado con la estimación de la edad generalmente y consiste en dos factores: incremento en tamaño y maduración, y aunque estos elementos se encuentran claramente integrados, su relación no es linear (Scheuer & Black, 2004).

La estimación de la edad histológica en humanos es posible porque el remodelado ocurre a lo largo de la vida y produce rasgos definibles y cuantificables tales como las *osteonas* (C. Crowder & Stout, 2012). En su naturaleza cuantitativa se apoya usualmente en la *histomorfometría* y se suele caracterizar a través de la evaluación de la densidad poblacional de las mismas osteonas, (Osteon Population Density-OPD), el número de canales vasculares primarios, la cantidad de hueso laminillar sin remodelar, el porcentaje remodelado y el tamaño promedio de las osteonas o canales de Havers (C. Crowder & Stout, 2012). Algunos métodos también se apoyan en métodos *histomorfológicos* que recurren a una evaluación cualitativa de las microestructuras ya mencionadas (Streeter, 2010). La estimación de edad histológica es particularmente aplicable cuando se trata de esqueletos calcinados o sumamente fragmentados en los que la morfología se ve alterada en extensión y no puede estimarse la edad a través de métodos morfológicos (C. Crowder & Stout, 2012).

El remodelado óseo entonces ocurre a lo largo de la vida en los seres humanos e involucra secuencias para la activación celular, la resorción y formación de hueso. En el hueso cortical la actividad de remodelado produce las estructuras histomorfológicas llamadas osteonas. La continua producción de osteonas a partir de los procesos de remodelado tiene como resultado una profunda correlación entre la edad de un individuo y el número de osteonas por unidad-área presentes en una



sección transversal del hueso. Dicha asociación es la base para la mayoría de los métodos histológicos en cuanto a la estimación de edad (Cho et al., 2002).

Fue a partir de la publicación del método desarrollado por Kerley (1965) que los métodos histomorfológicos para la estimación de edad se tornaron prácticos (Streeter, 2010). En el método desarrollado por Kerley (1965) se contaron el número de osteonas, fragmentos de osteonas y canales no-haversianos a partir de muestras de hueso en secciones delgadas provenientes del fémur, la tibia y el peroné. Dado que este último así como el estudio de Damsten (1969) requieren secciones completas de los huesos largos y a su vez estos huesos tienen importancia para análisis osteométricos, Stout y Paine (1992) apoyados en estudios previos proponen un método menos invasivo en el que sólo es necesario extraer del hueso una pequeña parte del centro para su evaluación. Así, los autores presentan los resultados de un estudio que apuntó al desarrollo de un método empleando clavícula y costilla en el que se examinaron desde la tercera hasta la sexta costilla y el eje medio de la clavícula izquierda de 40 individuos midiendo las siguientes variables: *Cortical area, intact osteon density, fragmentary osteon density* y *total visible osteon density* (Stout & Paine, 1992). Diez años más tarde y a partir de evaluaciones en los que se observa que los métodos para la estimación de edad desarrollados previamente son susceptibles a la variación intrapoblacional —principalmente por aplicarse y desarrollarse sobre poblaciones genéticamente homogéneas— Helen Cho, Sam Stout, Richard Madsen y Margaret Streeter (2002) proponen un método con una fórmula nueva para la estimación de edad que tuviera en cuenta dicha variación intrapoblacional y se midieron las siguientes variables: *Mean Osteonal Cross-Sectional Area, Intact Osteon Density, Fragmentary Osteon Density, Osteon Population Density, Relative Cortical Area*. (Cho et al., 2002). En cuanto a métodos histomorfológicos, es prominente también el desarrollado por Streeter (2010) para el cual se caracteriza el tejido óseo en cuatro fases, cada una asociada a un rango de edad específico del esqueleto.

### ***1.2.3 Histotafonomía y diagénesis***

La *tafonomía* es la ciencia de las leyes que rigen los enterramientos. Más específicamente es el estudio de la transición de orgánicos, en todo su detalle, de la biósfera a la litósfera. La tafonomía se concentra y aborda la historia postmortem, pre y post enterramiento de los restos (Lyman, 1994). La *histotafonomía* es la tafonomía a una escala microestructural, aplicable a

cualquier tejido, pero para el propósito de la discusión, los tejidos óseos y dentales son los que revisten interés. Tiene aplicaciones importantes en el campo forense y es un horizonte que se amplía y que cobra cada vez más relevancia en esta área ya que hay un incremento en la creación de conocimiento direccionado particularmente al entendimiento de las tasas de descomposición y desarticulación del cuerpo humano. La *diagénesis microestructural*, como también es conocida, puede ser de gran utilidad en tanto estudio centrado en la preservación y cambios de los tejidos en tales condiciones. Dichos cambios son descritos como *diagenéticos*, término tomado de la geología y que se refiere esencialmente a todos los procesos envueltos en la creación de depósitos sedimentarios y que pasan antes del metamorfismo (Bell, 2012).

Los cadáveres se descomponen en varios sentidos. La autólisis es el quebrantamiento de los tejidos por la acción de las enzimas presentes en los mismos inmediatamente después de la muerte. El proceso autolítico no cambia la microestructura de los componentes del hueso mineralizados o calcificados pero puede destruir células y tejido blando. Como regla, los tejidos mineralizados o calcificados no deberían verse afectados por la descomposición posterior que ocurre principalmente por la actividad bacteriana, fúngica y de artrópodos que puede tardar meses y años. El término “diagénesis” caracteriza la desintegración de los tejidos mineralizados posterior a la descomposición. El proceso de diagénesis se caracteriza por la destrucción del hueso debido a agentes físicos y químicos producidos por factores precedente. Se conoce poco sin embargo sobre la fisiología de la fauna y flora presente en los cadáveres (Schultz, 2002). Este conocimiento es importante y existe una necesidad de caracterizar los procesos ya mencionados así como las acciones resultantes en la alteración del tejido óseo y los agentes que allí participan, en tanto el daño producido por la degradación del hueso puede resultar en un falso diagnóstico de enfermedades o lesiones por paleopatólogos (Schultz, 2002).

Estimar el momento de la muerte tiene un peso amplio en las investigaciones y trae consigo la necesidad de comprender la descomposición como proceso. Se sabe que la microflora intestinal habrá transmigrado al sistema vascular en un período de 15 horas después de la muerte, alcanzando todos los órganos grandes del cuerpo, lo que indica que la actividad bacteriana llegará rápidamente a la microestructura osteonal interna del hueso por medio de la sangre suministrada al canal Haversiano. Esta extensión de la actividad bacteriana es un indicador del intervalo post mortem. El cambio diagenético o descomposición del hueso es entendido como disolución, precipitación, reemplazo y recristalización del mineral (Bell, 2012). Hackett (1981) sugiere una clasificación de

las áreas de hueso diagenéticamente alteradas denominadas como *Wedl tunnels*, *linear longitudinal*, *budded* y *lamellate*. Los túneles de Wedl son considerados como producto de la acción lítica de hongos, mientras que los otros tres tipos son producto de la acción de bacterias (Bell, 1990).

Estudios *paleopatológicos* también revisten importancia en este punto. Dichos estudios se basaron en otros estudios en medicina general en la mitad del siglo pasado (Greig, 1931, citado por Bell, 1990) y se difundieron en otras áreas como en arqueología. Se abordó el material arqueológico como una forma de interpretar la enfermedad en poblaciones antiguas. La información resultante de tales estudios no sólo dio información valiosa a arqueólogos en la salud general y dieta de dichas poblaciones sino que también ayudó a la medicina a considerar la epidemiología de ciertas condiciones patológicas específicas (Bell, 1990). Análisis microscópicos en paleopatología lleva tanto a diagnósticos de enfermedades antiguas así como a una estimación de edad más precisa. Adicional a esto, a un nivel microscópico es posible identificar cambios tales como inactividad atrófica, la cual no sería observable macroscópicamente (Schultz, 2002). Así como es posible observar alteraciones en el hueso a escala microscópica que no son observables macroscópicamente, también es posible diferenciar de forma clara entre alteraciones por enfermedades ocurridas durante la vida y cambios debidos a reacciones post-mortem (Schultz, 2002).

### 1.3 Métodos y técnicas en histología

La histología ósea y el analista deben ir más allá de la observación a la microestructura del hueso; requiere del conocimiento amplio de las propiedades del material, su función y desarrollo, así como de la microscopía y sus técnicas (Crowder & Stout, 2012). La preparación para un análisis microscópico de las muestras es fundamental en este sentido. De esta manera, el primer paso para montar las muestras y su posterior análisis de microscópico es la buena calidad de las láminas delgadas.

El equipo Buehler es el más usado para la producción de secciones sin descalcificar, sin embargo, existe una cantidad variada de métodos alternativos para la preparación de láminas histológicas que emplean distintos tipos de instrumentación y consumibles (Cho, 2012). Las muestras histológicas ya sean removidas de piezas óseas pequeñas o grandes, deben medir al menos

de 2 a 3cm de largo para que sea suficiente. Las muestras se deben preparar para el *embebido*, cuyo propósito es mantener la integridad estructural durante los procesos de *corte*, *polichado* y consiste en que la muestra de hueso esté rodeada por una resina plástica y, en casos forenses, donde la cadena de custodia es una preocupación latente, la muestra está preservada de forma segura con su rótulo respectivo. Aunque algunos tipos de muestras pueden no requerirlo por sus características (hueso fresco), para el caso de muestras arqueológicas (hueso seco) resulta completamente necesario (Cho, 2012).

En cuanto al *corte* de las muestras, hay detalles a considerar, por ejemplo, en el fémur el corte debe ser perpendicular la diáfisis ya que, para los casos en los que se quiere estimar la edad, un corte oblicuo distorsionará la morfología de las estructuras longitudinales como las osteonas haciendo su medición imprecisa. Las láminas delgadas se reducen para que queden de un grosor entre 50 y 100  $\mu\text{m}$ , lo suficientemente delgadas para permitir que la luz penetre y que las microestructuras puedan ser observadas bajo el microscopio (Cho, 2012).

En esta misma línea, tanto la *microscopía de luz* como la *microscopía electrónica de barrido* han emergido en los últimos 20 años como herramientas importantes en *paleopatología* (Ortner, 2003). Análisis microscópicos en este campo conducen a diagnósticos de enfermedades antiguas, así como a la mejora en la determinación de la edad de restos antiguos (Crowder & Stout, 2012; Frost, 1985; Ortner, 2003). Adicionalmente, las investigaciones a nivel micro pueden detectar cambios de este tipo que pueden no ser observables de forma clara macroscópicamente (Ortner, 2003). El uso de la *microscopía de luz polarizada* sirve para el análisis de secciones producidas a partir de hueso seco. De manera que la identificación de fibras de colágeno y patrones de las estructuras mineralizadas en hueso normal y patológicamente alterado así como en tejido osificado y calcificado (Schultz, 2002). La microscopía de luz polarizada es usada también en el campo de la paleontología y paleoantropología para el estudio de las microestructuras en el hueso fósil. Una técnica alternativa para la histomorfometría es emplear un sistema de análisis de imagen, con el montaje de una cámara de vídeo o digital en un microscopio trinocular con el fin de capturar imágenes digitales y, posteriormente, un software captura y observa las imágenes digitalizadas. Medidas de área y longitudinales de microestructuras se pueden conseguir con este software (Cho, 2012).

Tomografía computarizada (CT) es una técnica basada en rayos-x que genera una serie de imágenes (tomogramas) que pueden ser utilizadas para visualizar estructuras internas de forma no

invasiva en 3D. *La microtomografía computarizada o micro-computed tomography* (Micro-CT) representa una extensión de dicha tecnología en un nivel microscópico. (Cooper, Thomas & Clement, 2012). Desde sus inicios, la aplicación principal de la Micro-CT ha sido la estimación de estructuras de hueso trabecular concentrándose en los cambios asociados a esta como es el caso de la osteoporosis. Rápidamente se reconoció su potencial en los estudios antropológicos y se ha empleado en numerosos estudios y artículos en este campo, permitiendo reconocer, por ejemplo, la ontogenia de la adaptación del hueso trabecular en primates y la morfología del hueso trabecular en humanos, estimaciones paleopatológicas y también más allá del hueso teniendo aplicación en estudios dentales (Cooper, Thomas & Clement, 2012). El hueso cortical constituye un reto mayor para la microtomografía computarizada en tanto las estructuras internas del hueso son mucho más pequeñas que las existentes en el hueso trabecular. Una visualización consistente de la porosidad del hueso cortical requiere de resoluciones de 10 micras e incluso resoluciones más amplias son necesarias para visualizar estructuras como canales vasculares. (Cooper, Thomas & Clement, 2012).

Isotope Ratio Mass Spectrometry (IRMS) es el método más utilizado para analizar isotopos. En esta técnica los materiales se deben convertir a gases simples para su medición. (Chesson et al. 2018).

Tienen especial importancia en este apartado tres métodos desarrollados en histología que, apoyados en las técnicas microscópicas a las que se hizo mención, obtienen mediciones o en su defecto realizan una caracterización cualitativa del tejido óseo. En el primero de Stout & Paine (1992), se obtuvieron muestras a partir de la costilla y clavícula de 40 individuos y, bajo microscopía de luz se obtuvieron las siguientes variables de las estructuras observadas: *cortical area*, *intact osteon density*, *fragmentary*, *osteon density* y *total visible osteon density*. Posteriormente, en 2002, este método tuvo una modificación en el que se incluían individuos de ascendencia afro en vista de que el primer método desarrollado en 1992 era susceptible a ser menos preciso cuando se trataba de poblaciones con mayor variabilidad genética. Así, Cho, Stout, Madsen y Streeter (2002) tomaron muestras de costillas de 154 individuos midiendo las siguientes variables: *Mean Osteonal Cross Sectional Area* (On.Ar), *Intact Osteon Density* (N.On), *Fragmentary Osteon Density* (N.On.Fg), *Osteon Population Density* (OPD), *Relative Cortical Area* (Ct.Ar/Tt.Ar) también bajo microscopía de luz. Se menciona dichos métodos en este punto por la importancia de las variables medidas y la técnica utilizada ya que, como se verá más adelante

esta revisión apunta a la descripción tanto de las técnicas que aparecen en los artículos revisados como a las variables que más se midieron y, en el mismo sentido, los métodos más utilizados en la literatura de interés.

## 2. Metodología

### 2.1 Declaración PRISMA

Para la ejecución de la revisión sistemática que aquí se propone se siguieron las recomendaciones la *Declaración PRISMA* (Moher et al., 2009). En cuya guía se especifica una lista de chequeo de 27 ítems para el reporte de revisiones sistemáticas y ejecución de metaanálisis. La adhesión de un flujograma a la lista de chequeo mencionada hace que sean identificables cuatro fases para le ejecución de una revisión sistemática (Cardona et al., 2016).

#### 2.1.1 Identificación

Los términos de búsqueda utilizados fueron seleccionados a partir de un texto base: Bone Histology (C. Crowder & Stout, 2012). Así, bone histology, anthropology, hitomorphology y diagenesis se ingresaron en las bases de datos seleccionadas para el propósito de este estudio con todas las combinaciones posibles y utilizando los operadores booleanos “AND”, “OR” y “NOT”. Las bases de datos bibliográficas utilizadas fueron Ommbid, PubMed, Academic Search Complete, Medline Complete y Springer Link. Todas las bases de datos mencionadas hacen parte de los recursos electrónicos y de información provistos por el Sistema de Bibliotecas de la Universidad de Antioquia.

Aunque los términos de búsqueda no son extraídos de tesauros o descriptores por las características del tema a investigar, la misma no se realizó a partir de literatura gris o con palabras clave sin restringir, es decir, es una búsqueda que se desarrolló por especificidad (Cardona et al., 2016). Se utilizó el gestor de referencias bibliográficas Mendeley Desktop Versión 1.19.4 © para la recopilación de los estudios seleccionados y la posterior eliminación de duplicados.

### 2.1.2 Tamización

En este punto se aplicaron los criterios de inclusión de los estudios identificados previamente. Para ello, se tuvo en cuenta la *temporalidad*: La ventana temporal para el abordaje de artículos académicos se fijó entre 1970 y el presente año, 2021. El *idioma* no se utilizó como criterio de inclusión, sin embargo, la búsqueda se realizó únicamente en inglés y español, descartando de esa forma estudios potenciales en otros idiomas. También se incluyeron aquellos estudios en los que los términos de búsqueda utilizados están presentes en abstract, título o palabras clave. De esta manera, se eliminaron aquellos artículos académicos que se hayan publicado antes de 1970, que estuvieran en un idioma distinto al inglés y español o que no presentara las palabras clave en los apartados ya descritos. Se eliminaron también los artículos duplicados en este punto. No se aplicaron en este punto criterios de inclusión *académicos* ya que estos se aplican en la lectura fulltext de los artículos.

El propósito de la aplicación de estos criterios es el control o reducción de sesgos potenciales como el de *tipo de publicación, idioma y selección* (Cardona et al., 2016). En esta fase se obtuvieron un total de 679 documentos y se eliminaron 81 por tratarse de documentos sobre congresos, simposios o eventos académicos similares que tratan el tema de interés. También en esta fase se descartaron 144 artículos por tratarse de textos duplicados.

### 2.1.3 Elección

En esta fase se aplicaron los criterios de exclusión y que tiene como finalidad eliminar los estudios que pueden generar sesgos en los resultados con base a: *población de estudio, forma de medir las variables y la validez interna o externa de los estudios* (Cardona et al., 2016). Para ello, se analizó el tamaño de muestra de aquellos estudios donde se incluyen análisis estadísticos, se suele hacer con la elaboración de un *score* que unifique la aplicación de los criterios de selección. La declaración PRISMA define algunos elementos que hacen parte de la estructura de los artículos pero no define una forma de valoración para estos elementos.

Se descartaron en esta fase un total de 235 documentos, de estos 136 se eliminaron de la revisión por tratarse de artículos que abordan los términos de la búsqueda pero que no son pertinentes o escapan a otras áreas del saber. Los 99 artículos restantes fueron descartados por no



tratarse de *estudios originales*, es decir que aunque abordaban el tema de interés y los términos de la búsqueda aparecían en sus resúmenes y títulos, no tenían un muestreo y aplicación de métodos y técnicas directamente sobre dicha muestra. Entre ellos se incluyen revisiones, capítulos de libros, reportes de casos y evaluaciones de métodos desarrollados en estudios originales. Se excluyeron en esta fase igualmente un total de 113 artículos que aplicaban como estudios originales pero que por su abstract, palabras clave y materiales y métodos no cumplían con los criterios de inclusión a los que se hizo alusión en líneas anteriores pero que además no explicitaban el tamaño o número de muestra, la técnica utilizada o que se trataba de estudios donde, aunque se cumpliera con dichos criterios, no terminaban de ser pertinentes para el campo antropológico en los términos que aquí se ha discutido, esto es, de valor forense o bioarqueológico.

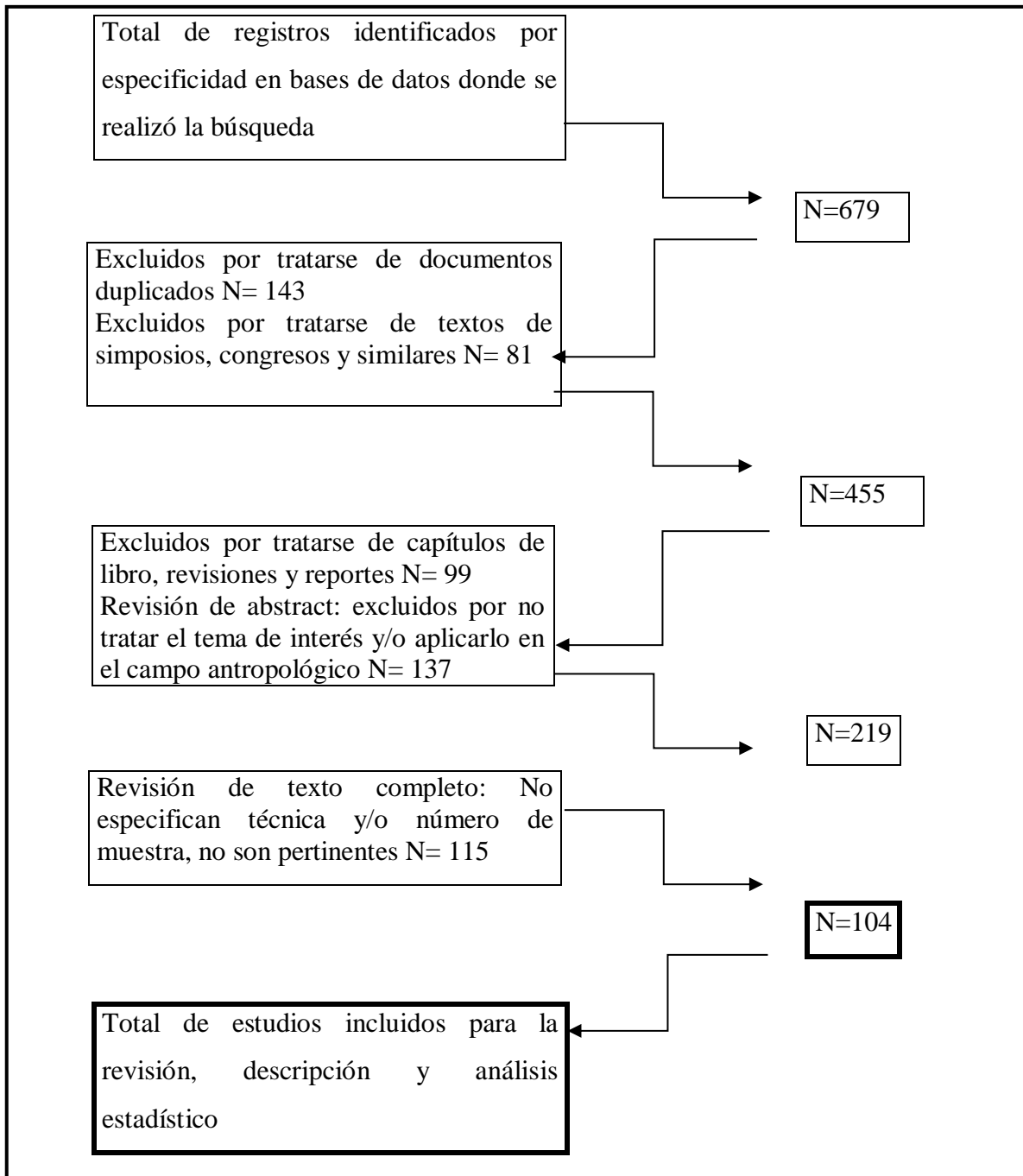
#### **2.1.4 Inclusión**

Como última fase, en la inclusión se definió el número de artículos objeto de la revisión y con los cuales se presentará una síntesis cualitativa o cuantitativa (metaanálisis). Con esta etapa finalizada, la realización del *flujograma de selección*, que indica el tamaño de la muestra de cada frase y el número de artículos excluidos. El flujograma es garante entonces de que debe ser este un proceso **reproducible**.

En esta fase, bajo revisión explícita de resúmenes y palabras clave se incluyeron un total de 104 estudios originales que cumplen con los criterios de inclusión señalados y que explicitan y aplican las técnicas y métodos histológicos e histoquímicos que permitan el análisis estadístico posterior.

### 2.1.5 Flujograma

**Figura 1.** Flujograma



## 2.2 Variables seleccionadas

A partir del protocolo planteado se seleccionaron las siguientes variables para su descripción y posterior análisis estadístico:

*Año de publicación:* Se trata del año en que se publicó el estudio

*País:* El país de origen de la muestra

*Idioma:* El idioma en el que se escribió el estudio

*N (número de muestra):* El número de muestras utilizados en el análisis del estudio

*Origen muestra:* Esta variable especifica si la muestra proviene de colecciones osteológicas, restos arqueológicos, autopsias, casos forenses o donaciones

*Método:* En esta variable se ubica el método utilizado en cada estudio, esto es, si se trata de un método histomorfométrico, histomorfológico o químico.

*Técnica:* La técnica de microscopía utilizada para el análisis de la muestra

*Hueso:* El hueso del que se obtuvo la muestra

*Variables medidas:* En aquellos métodos histomorfométricos y químicos, las variables que más veces se midieron

*Journal:* La revista académica en la que se publicó el estudio

*Clasificación journal:* El cuartil de la clasificación Scimago en el que se encuentra la revista académica en la que se publicó el estudio

## 2.3 Descripción y análisis

La descripción de las variables y su posterior análisis se realizó con el paquete estadístico IBM® SPSS® Statistics V.24

### 3. Resultados

#### 3.1 Distribución por países

Muestras provenientes de un total de 33 países fueron registradas, de los 33, 6 estudios obtuvieron muestras de países distintos para su posterior análisis, de este subgrupo el primer estudio se realizó con muestras de Bolivia y Perú, posteriormente se halló un estudio con muestras de México, Egipto, Emirados Árabes Unidos y Estados Unidos. En otro estudio perteneciente a este subgrupo se emplearon muestras de México, Turquía y Alemania. En un cuarto artículo las muestras fueron obtenidas del Reino Unido, Egipto y Sudán. En el estudio siguiente los investigadores emplearon muestras obtenidas de Dinamarca y Sudáfrica. Finalmente, muestras de hueso obtenidas del Reino Unido, Sudáfrica y Canadá fueron empleadas en el último artículo de investigación de este subgrupo.

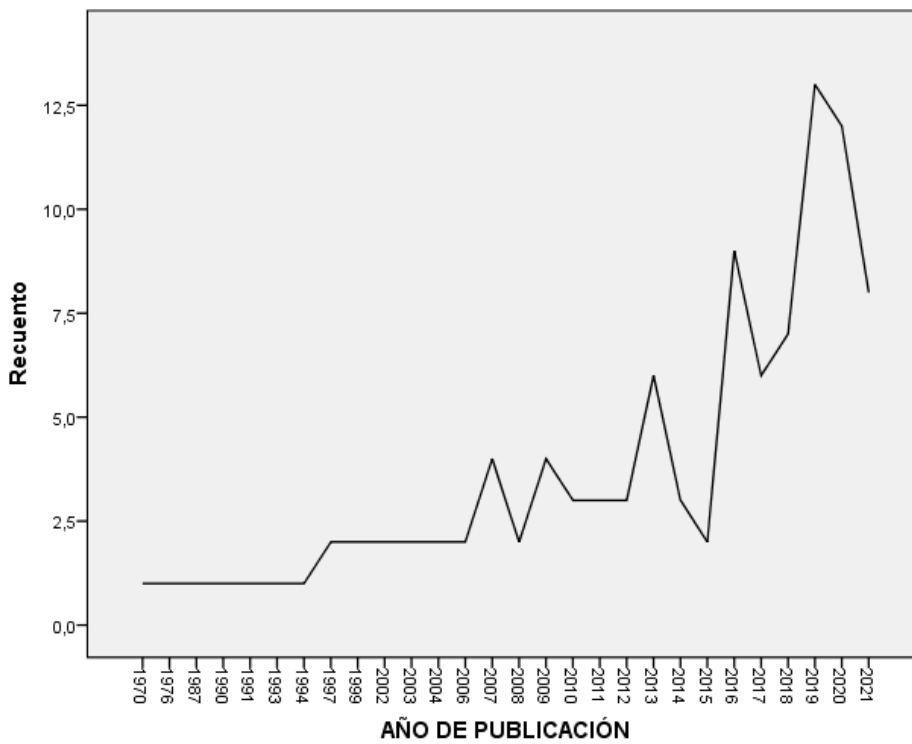
Los 27 estudios restantes (no se suma su participación en estudios con muestras simultáneas) se clasificaron de la siguiente forma: En un primer grupo se incluyeron aquellos países de los que se obtuvieron muestras para 1 o 2 estudios, dentro de este rango se encuentran los siguientes países: Albania, Austria, Bélgica, Brasil, Canadá, Egipto, Grecia, Hungría, Israel, Japón, México, Países Bajos, Polonia, República Checa, Sudán, Suiza y Tailandia. Otro rango definido se trata de aquellos países de los que se obtuvieron muestras aportando al rango de 3 a 5 estudios: Alemania, Australia, Dinamarca, Portugal, Serbia y Sudáfrica. El tercer rango se definió para aquellos países que aportaron muestras a 6 estudios o más pero menos de 10: España y Francia.

Por último se agruparon aquellos países que aportaron muestras para más de 10 estudios: Estados Unidos, Italia y Reino Unido.



**Figura 3.**

*Año de publicación de los artículos revisados*



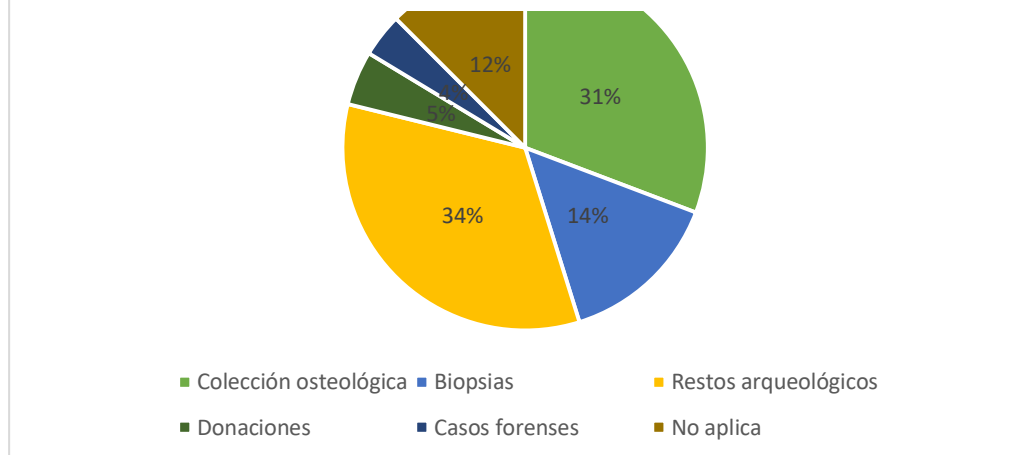
### 3.3 Muestras analizadas

Del total de los estudios incluidos en la revisión, 32 utilizaron muestras extraídas de huesos pertenecientes a colecciones osteológicas, 15 lo hicieron a partir de autopsias o cadáveres y 35 de restos arqueológicos, es decir, de restos provenientes de excavaciones arqueológicas en diferentes lugares. Además, 5 investigaciones utilizaron muestras extraídas de huesos pertenecientes a donaciones realizadas para dichos objetivos y a 13 estudios del universo total de la muestra incluida no especifican procedencia de las muestras o, por la naturaleza del estudio (hecho en animales) no se explicita la misma. Los porcentajes correspondientes (Fig. 3) es un 30% en colecciones osteológicas, 14,4% autopsias, 33,7 restos arqueológicos, 4,8% donaciones 3,8% casos forenses y un 12,5% de aquellos estudios a los que no aplica esta variable.

**Tabla 1.**

*Procedencia de las piezas óseas utilizadas para extracción de la muestras histológicas.*

|                              | <b>Frecuencia</b> | <b>Porcentajes (%)</b> |
|------------------------------|-------------------|------------------------|
| <b>Colección osteológica</b> | 32                | 30,8                   |
| <b>Autopsias</b>             | 15                | 14,4                   |
| <b>Restos arqueológicos</b>  | 35                | 33,7                   |
| <b>Donaciones</b>            | 5                 | 4,8                    |
| <b>Casos forenses</b>        | 4                 | 3,8                    |
| <b>No aplica</b>             | 13                | 12,5                   |

**Figura 4.***Distribución procedencia de las muestras histológicas*

De igual forma, el número de muestra empleadas en el total de los estudios (Tabla 2) oscilaron entre 1 siendo el mínimo de muestras utilizadas en un estudio y 581 siendo el máximo. Así, el 25% de los estudios utilizaron entre 1 y 7 muestras, la mitad de los estudios incluidos en la revisión utilizaron entre 1 y 24 muestras. El 50% restante de los estudios utilizaron entre 24 y 581 muestras, destacando el último 25% ya que, como se puede apreciar en la tabla, la mayoría de los artículos (el 75%) utilizaron sólo entre 1 y 54 muestras.



**Tabla 2.***Muestras empleadas en los estudios revisados*

| <b>N=</b>                  |      |
|----------------------------|------|
| <b>Media</b>               | 54,5 |
| <b>Mediana</b>             | 24,5 |
| <b>Desviación estándar</b> | 94,5 |
| <b>Mínimo</b>              | 1    |
| <b>Máximo</b>              | 581  |
| <b>Q1</b>                  | 7,25 |
| <b>Q2</b>                  | 24,5 |
| <b>Q3</b>                  | 54   |

Se describen también en este punto las piezas óseas más utilizadas para extracción de muestras, en el caso del fémur (Tabla 3) se encontró que un total de 44 estudios correspondientes a un 42,3%, extrajeron muestras de este hueso, los 60 estudios restantes se repartieron entre otros huesos (47,1%) y datos perdidos (10,6) correspondientes a estudios que o bien no especificaron procedencia de la muestra o que no se realizaron en piezas óseas humanas.

**Tabla 3.***Muestras obtenidas del fémur*

| <b>Fémur</b>    | <b>Frecuencia</b> | <b>Porcentajes (%)</b> |
|-----------------|-------------------|------------------------|
| <b>SI</b>       | 44                | 42,3                   |
| <b>NO</b>       | 49                | 47,1                   |
| <b>Perdidos</b> | 11                | 10,6                   |

Un total de 24 artículos correspondientes al 23,1% de los estudios incluidos en la revisión extrajeron muestras de las costillas (Tabla 4). Los 80 estudios restantes lo hicieron de otros huesos o se trató de datos perdidos o sin especificar.

**Tabla 4.**

*Muestras obtenidas de las costillas*

| <b>Costillas</b> | <b>Frecuencia</b> | <b>Porcentajes (%)</b> |
|------------------|-------------------|------------------------|
| <b>SI</b>        | 24                | 23,1                   |
| <b>NO</b>        | 69                | 66,3                   |
| <b>Perdidos</b>  | 11                | 10,6                   |

Por otro lado, de los 104 estudios incluidos en la revisión, solo el 14,4% correspondiente a 15 artículos utilizaron huesos del cráneo (Tabla 5) para la obtención de las muestras analizadas.

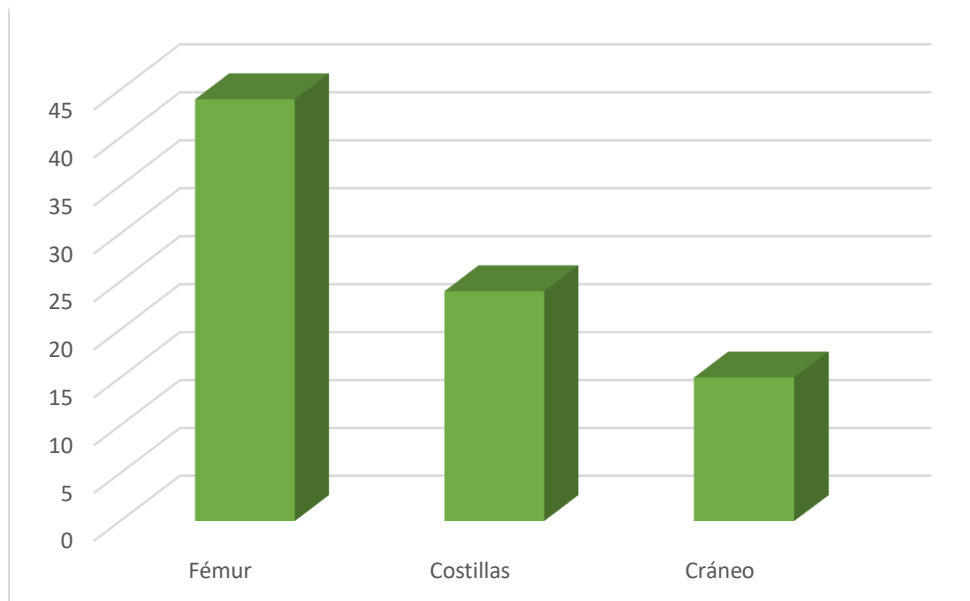
**Tabla 5.**

*Muestras obtenidas de huesos del cráneo*

| <b>Cráneo</b>   | <b>Frecuencia</b> | <b>Porcentajes (%)</b> |
|-----------------|-------------------|------------------------|
| <b>SI</b>       | 15                | 14,4                   |
| <b>NO</b>       | 78                | 75                     |
| <b>Perdidos</b> | 11                | 10,6                   |

**Figura 5.**

*Piezas óseas utilizadas para la extracción de muestras histológicas*

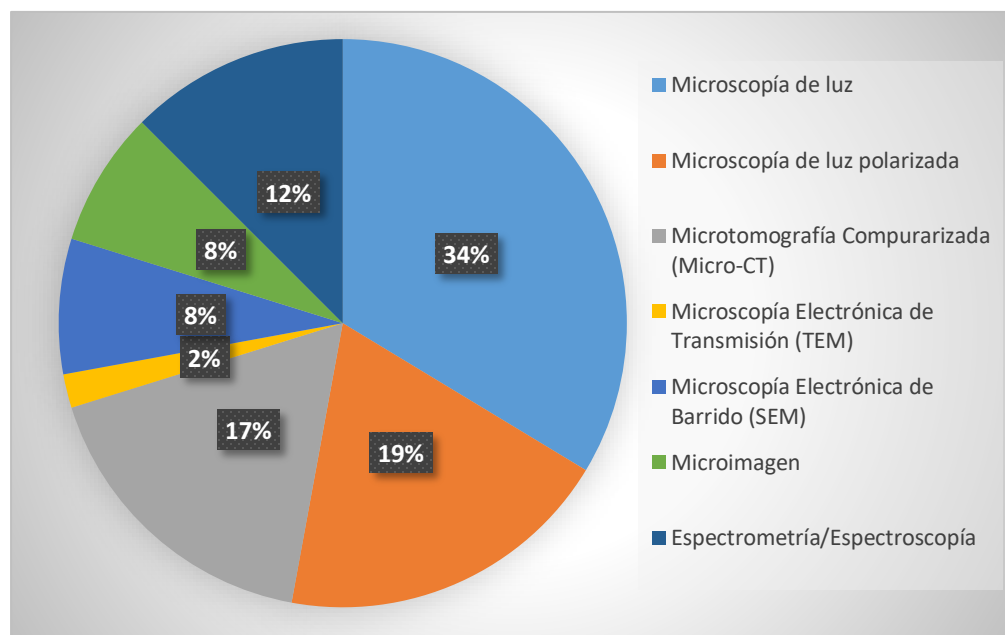


### 3.4 Técnicas

En cuanto a las técnicas (Tabla 6, Fig. 5) empleadas para el análisis de las muestras obtenidas, las más utilizadas fueron la microscopía de luz y microscopía de luz polarizada con un 33,7% y un 19,2% respectivamente. Más de la mitad de los artículos incluidos en la revisión se valieron de estas dos técnicas para sus análisis, de estos, 35 aplicaron la microscopía de luz y 20 aplicaron microscopía de luz polarizada. Otra técnica que obtuvo un porcentaje importante fue la técnica microtomografía computarizada o micro-CT con 18 estudios aplicándola para sus análisis, lo que corresponde a un 17,3% del total. La microscopía electrónica de barrido o SEM, la microscopía electrónica de transmisión o TEM, la microimagen y la espectrometría/espectroscopía aparecen en 8, 2, 8 y 13 estudios respectivamente.

**Tabla 6.***Técnicas microscópicas e histoquímicas utilizadas en los artículos de investigación revisados*

|  | Recuento | Porcentajes (%) |
|--|----------|-----------------|
| Microscopía de luz                           | 35       | 33,7            |
| Microscopía de luz polarizada                | 20       | 19,2            |
| Microtomografía Compurarizada (Micro-CT)     | 18       | 17,3            |
| Microscopía Electrónica de Transmisión (TEM) | 2        | 1,9             |
| Microscopía Electrónica de Barrido (SEM)     | 8        | 7,7             |
| Microimagen                                  | 8        | 7,7             |
| Espectrometría/Espectroscopía                | 13       | 12,5            |

**Figura 6.***Técnicas microscópicas e histoquímicas empleadas en los estudios revisados*

### 3.5 Métodos

De los 104 estudios incluidos en la presente revisión, los métodos histomorfométricos fueron los preferidos por los investigadores para analizar sus muestras: un total de 62 artículos de

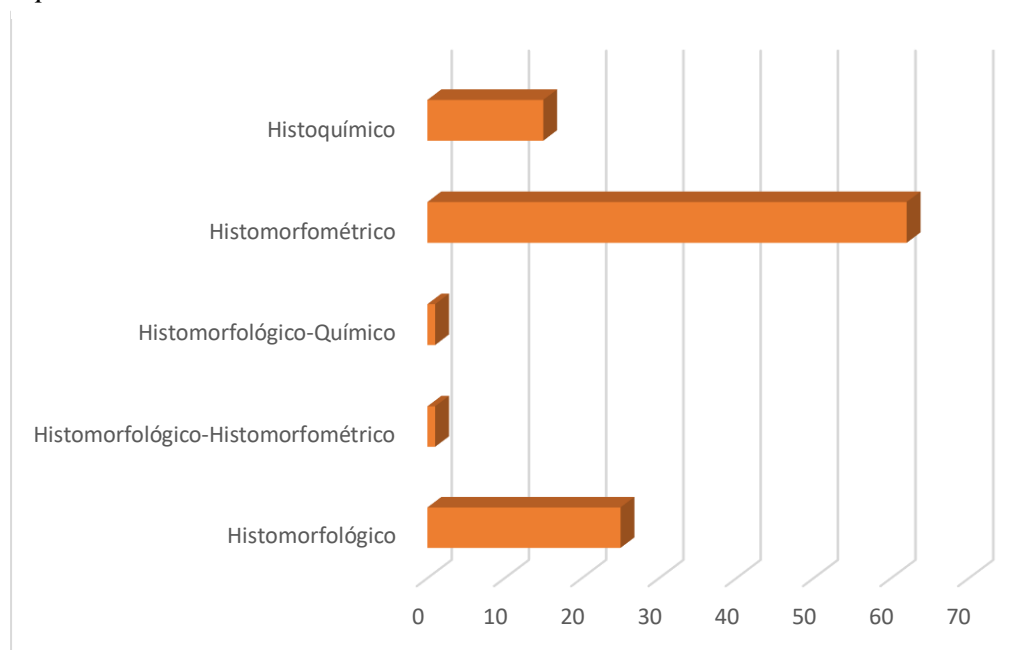
investigación correspondientes a un 59,6% midieron las microestructuras presentes en el tejido óseo. Un 24% de los estudios correspondientes a 25 investigaciones hicieron las observaciones propias de forma cualitativa, esto es, se emplearon métodos histomorfológicos para advertir las microestructuras y su caracterización correspondiente. En 15 de los 104 estudios se utilizaron métodos histoquímicos para las estimaciones que se pueden hacer del hueso. También se registran dos investigaciones que utilizaron dos tipos de métodos para ampliar los análisis, así, se halló un estudio que utilizó tanto métodos histomorfológicos como histomorfométricos y otro que utilizó tanto métodos histomorfológicos para la caracterización del tejido óseo e hizo las estimaciones a partir de métodos químicos.

**Tabla 7.**

*Tipos de métodos empleados en los estudios revisados*

| <b>Método</b>                             | <b>Recuento</b> | <b>Porcentajes (%)</b> |
|---|-----------------|------------------------|
| <b>Histomorfológico</b>                   | 25              | 24                     |
| <b>Histomorfológico-Histomorfométrico</b> | 1               | 1                      |
| <b>Histomorfológico-Químico</b>           | 1               | 1                      |
| <b>Histomorfométrico</b>                  | 62              | 59,6                   |
| <b>Histoquímico</b>                       | 15              | 14,4                   |

**Figura 7.**  
*Tipos de métodos utilizados en los artículos revisados*



### 3.6 Revistas académicas

Se registraron 37 revistas académicas (Tabla 8) en las que se publicaron la totalidad de los estudios incluidos en la revisión. De las 37, aquellos *journals* en los que más veces se publicaron investigaciones referentes al tema de interés fueron los siguientes: *Forensic Science International* con 15 estudios publicados correspondientes a un 14,4% de los artículos de investigación, *Journal of Archaeological Science* con 13 investigaciones correspondientes al 12,5% de los artículos de investigación revisados. Es importante mencionar en este punto también al *American Journal of Physical Anthropology*, en esta revista académica se publicaron un total de 11 estudios incluidos en la revisión que corresponden al 10,6%. El *Journal of Forensic Sciences* aportó 7 estudios publicados y, junto a la revista *Calcified Tissue International* con 6, conformaron el 12,5% de los estudios registrados. En cuanto a la clasificación Scimago de los *journals* registrados (Tabla 9), el 64,4% se ubicó en el primer cuartil (Q1), 22 revistas académicas de las 37 registradas se ubicaron en el segundo cuartil (Q2) y sólo el 12,5% correspondiente a 13 revistas se ubicaron en el cuartil 3 (Q3). Por último únicamente la revista *Journal of Legal Medicine* se ubicó en el cuartil 4 (Q4) y la Revista Argentina de Antropología Biológica no se encuentra indexada.

**Tabla 8.**

*Revistas académicas en las que se publicaron los estudios incluidos en la revisión y su clasificación en Scimago.*

| <b>Journal</b>                                     | <b>Recuento</b> | <b>Porcentajes (%)</b> | <b>Clasificación Scimago</b> |
|--|-----------------|------------------------|------------------------------|
| <b>American Journal of Physical Anthropology</b>   | 11              | 10,6                   | Q1                           |
| <b>Anthropological Review</b>                      | 1               | 1                      | Q2                           |
| <b>Archaeological and Anthropological Sciences</b> | 4               | 3,8                    | Q1                           |
| <b>Bone</b>  | 2               | 1,9                    | Q1                           |
| <b>Bone Reports</b>                                | 1               | 1                      | Q2                           |
| <b>Calcified Tissue International</b>              | 6               | 5,8                    | Q2                           |
| <b>Clinical Oral Investigations</b>                | 1               | 1                      | Q1                           |
| <b>Current Osteoporosis Reports</b>                | 1               | 1                      | Q1                           |
| <b>Forensic Imaging</b>                            | 1               | 1                      | Q3                           |
| <b>Forensic Science International</b>              | 15              | 14,4                   | Q1                           |
| <b>Heritage Science</b>                            | 2               | 1,9                    | Q3                           |
| <b>HOMO</b>  | 2               | 1,9                    | Q3                           |
| <b>Human Evolution</b>                             | 1               | 1                      | Q1                           |
| <b>International Journal of Anthropology</b>       | 1               | 1                      | Q3                           |
| <b>International Journal of Legal Medicine</b>     | 5               | 4,8                    | Q1                           |
| <b>International Journal of Osteoarchaeology</b>   | 1               | 1                      | Q1                           |
| <b>International Journal of Paleopathology</b>     | 2               | 1,9                    | Q1                           |
| <b>Journal of Anatomy</b>                          | 2               | 1,9                    | Q3                           |
| <b>Journal of Archaeological Method and Theory</b> | 1               | 1                      | Q1                           |
| <b>Journal of Archaeological Science</b>           | 13              | 12,5                   | Q1                           |
| <b>Journal of Bone and Mineral Metabolism</b>      | 4               | 3,8                    | Q2                           |
| <b>Journal of Forensic and Legal Medicine</b>      | 2               | 1,9                    | Q1                           |
| <b>Journal of Forensic Radiology and Imaging</b>   | 1               | 1                      | Q3                           |
| <b>Journal of Forensic Sciences</b>                | 7               | 6,7                    | Q2                           |
| <b>Journal of Legal Medicine</b>                   | 1               | 1                      | Q4                           |
| <b>Microchemical Journal</b>                       | 1               | 1                      | Q2                           |
| <b>Micron</b>                                      | 1               | 1                      | Q3                           |
| <b>Morphologie</b>                                 | 2               | 1,9                    | Q3                           |
| <b>Naturwissenschaften</b>                         | 1               | 1                      | Q2                           |

|  |   |     |    |
|--|---|-----|----|
| Nuclear Instruments and Methods in Physics           | 1 | 1   | Q2 |
| Osteoporosis International                           | 1 | 1   | Q1 |
| Paleogeography,<br>Paleoclimatology,<br>Paleoecology | 4 | 3,8 | Q1 |
| Revista Argentina de Antropología Biológica          | 1 | 1   | -  |
| Revista Española de Medicina Legal                   | 1 | 1   | Q3 |
| Science & Justice                                    | 1 | 1   | Q1 |
| Science of Total Environment                         | 1 | 1   | Q1 |
| Wiener Medizinische Wochenschrift                    | 1 | 1   | Q3 |

**Tabla 9.**

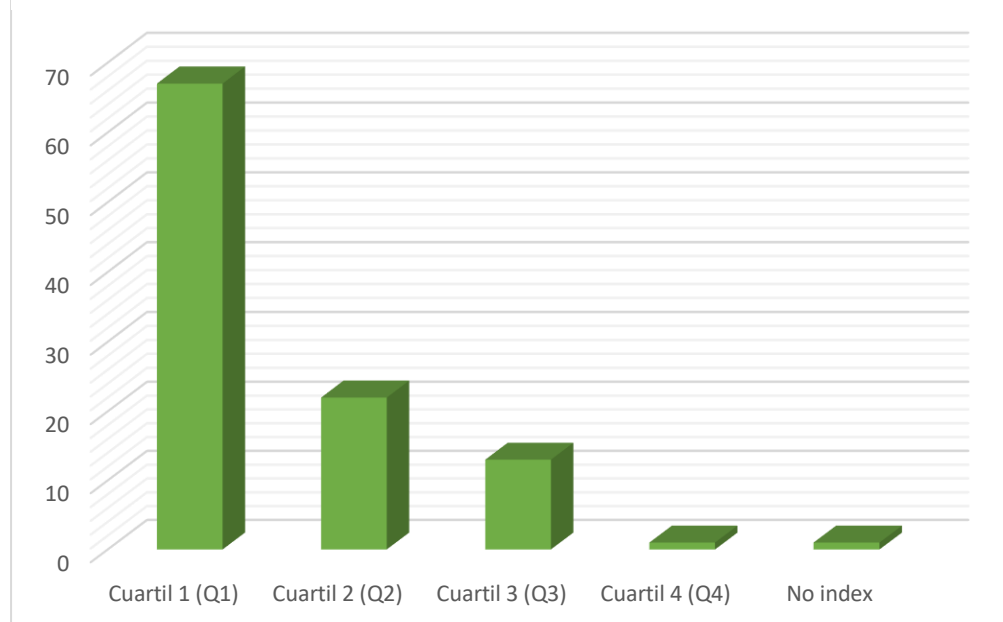
*Clasificación Scimago de las revistas académicas en las que se publicaron los estudios incluidos en la revisión*

| Clasificación Scimago Revistas Académicas | Frecuencia | Porcentaje |
|---|------------|------------|
| Cuartil 1 (Q1)                            | 67         | 64,4       |
| Cuartil 2 (Q2)                            | 22         | 21,2       |
| Cuartil 3 (Q3)                            | 13         | 12,5       |
| Cuartil 4 (Q4)                            | 1          | 1          |
| No index                                  | 1          | 1          |



**Figura 8.**

*Frecuencia cuartiles Scimago de las revistas académicas en las que se publicaron los estudios incluidos en la revisión*

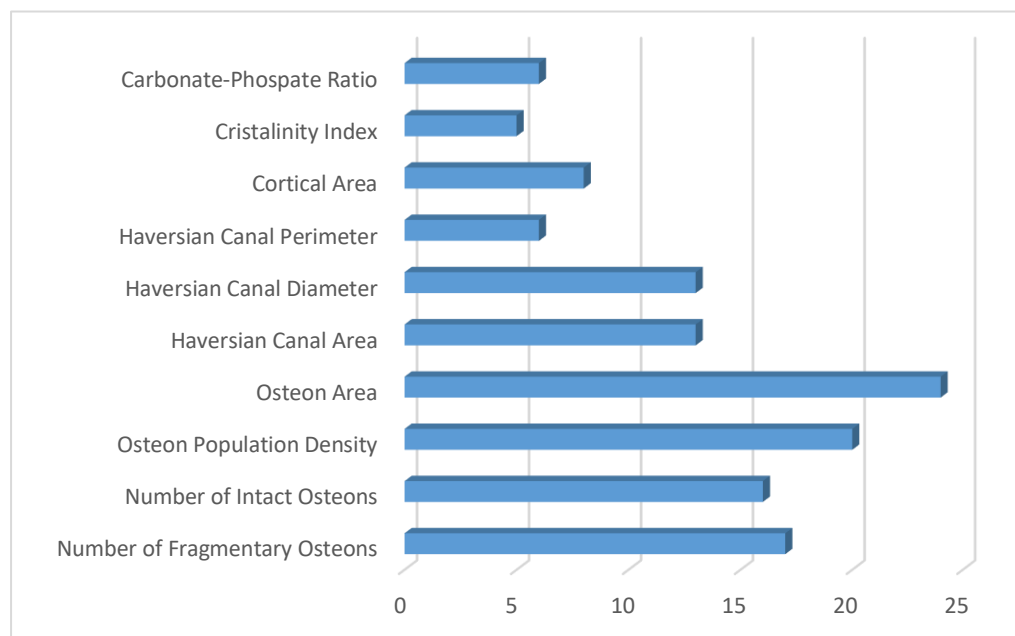
**3.7 Variables medidas**

Del universo de los artículos de investigación que aplicaron métodos histomorfométricos e histoquímicos, las siguientes variables constituyeron las medidas más utilizadas en los diferentes artículos de investigación incluidos en la revisión: Number of Fragmentary Osteons se midió 17 veces, Number of Intact Osteons se tuvo en cuenta en 16 de los 104 estudios. Asimismo, se midió Osteon Population Density un total de 20 veces y la que más veces apareció en los estudios registrados fue Osteon Area la cual fue una medida aplicada 24 veces. Después, en la región canalicular, Haversian Canal Area se midió en 13 estudios y el mismo número de veces se registró para el análisis la medida Haversian Canal Diameter, dejando la variable Haversian Canal Perimeter relegada en tanto sólo se observó en 6 investigaciones. La variable Cortical Area se aplicó en 8 estudios de los 104 incluidos en la revisión. Por otro lado, los índices utilizados en los métodos químicos aparecieron un total de 11 veces. El Crystallinity Index se registró en 5 oportunidades y el Carbonate-Phosphate Ratio se registró en 6 de los 104 estudios en cuestión.

**Tabla 10.**  
*Mediciones e índices empleados en los estudios revisados*

| <b>Variables medidas</b>             | <b>Frecuencia</b> |
|--------------------------------------|-------------------|
| <b>Number of Fragmentary Osteons</b> | 17                |
| <b>Number of Intact Osteons</b>      | 16                |
| <b>Osteon Population Density</b>     | 20                |
| <b>Osteon Area</b>                   | 24                |
| <b>Haversian Canal Area</b>          | 13                |
| <b>Haversian Canal Diameter</b>      | 13                |
| <b>Haversian Canal Perimeter</b>     | 6                 |
| <b>Cortical Area</b>                 | 8                 |
| <b>Cristalinity Index</b>            | 5                 |
| <b>Carbonate-Phospate Ratio</b>      | 6                 |

**Figura 9.**  
*Frecuencia de mediciones e índices empleados en los artículos incluidos en la revisión*



### 3.2 Análisis

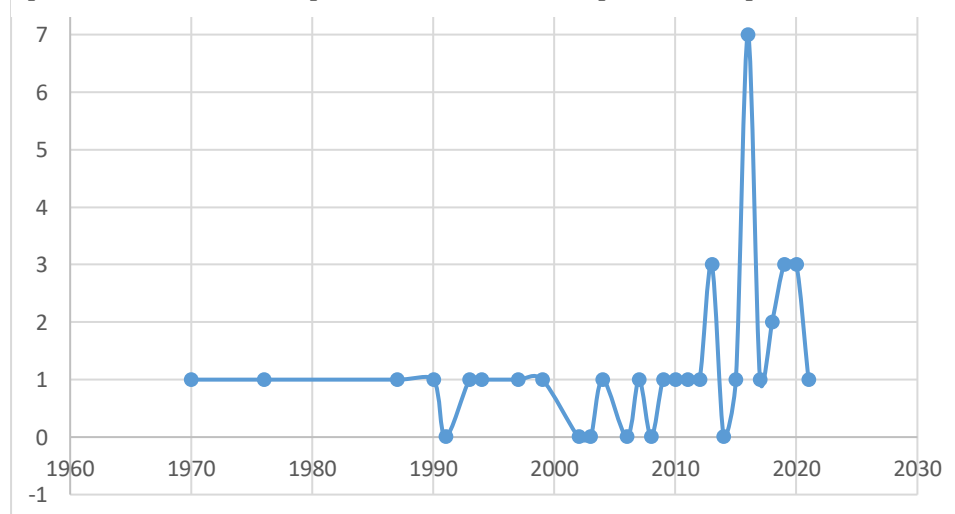
Agrupadas de distintas formas, algunas de las variables anteriormente descritas aportan luces sobre hacia dónde se dirigen las investigaciones, cuáles son las técnicas que más se utilizaron en distintos años, las variables y métodos más utilizados a lo largo del tiempo, entre otros. Así, se procede con un análisis bivariado agrupado de la siguiente manera: *Técnicas por año de publicación, variables medidas por año de publicación, variables medidas por pieza ósea empleada y métodos por año de publicación.*

#### 3.2.1 Técnicas por año de publicación

Cuando se agrupan la aplicación de la técnica microscopía de luz transmitida con año de publicación (Fig. 9) se observa que la tendencia es a utilizarla cada vez más en los últimos años, esto es, desde el 2010 hacia acá. Aunque dicha tendencia se explica en parte porque como se vio en la descripción la mitad de los estudios se ubican en años más recientes, se debe observar también en este punto que la microscopía de luz transmitida se viene aplicando y aparece en los estudios más antiguos que se incluyeron en la revisión. Desde 1970 hasta el año 2000 la microscopía de luz transmitida apareció en 8 de 9 estudios revisados.

**Figura 10.**

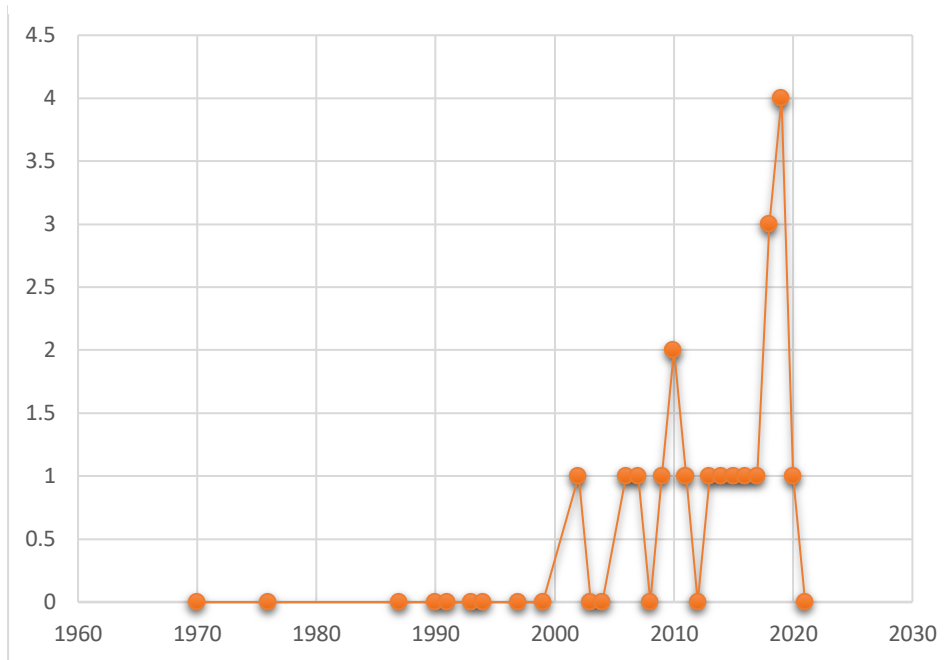
*Aplicación de microscopía de luz transmitida por año de publicación*



Para el caso de la microscopía de luz polarizada (Fig. 10) se tiene que empieza a tener incidencia a partir del año 2000, desde 1970 hasta el 2001 la microscopía de luz polarizada no fue muy tenida en cuenta, desde el 2001 hasta el 2020, se utilizó en 20 de 26 estudios revisados marcando así una tendencia clara a utilizarse mucho más en años más recientes.

**Figura 11.**

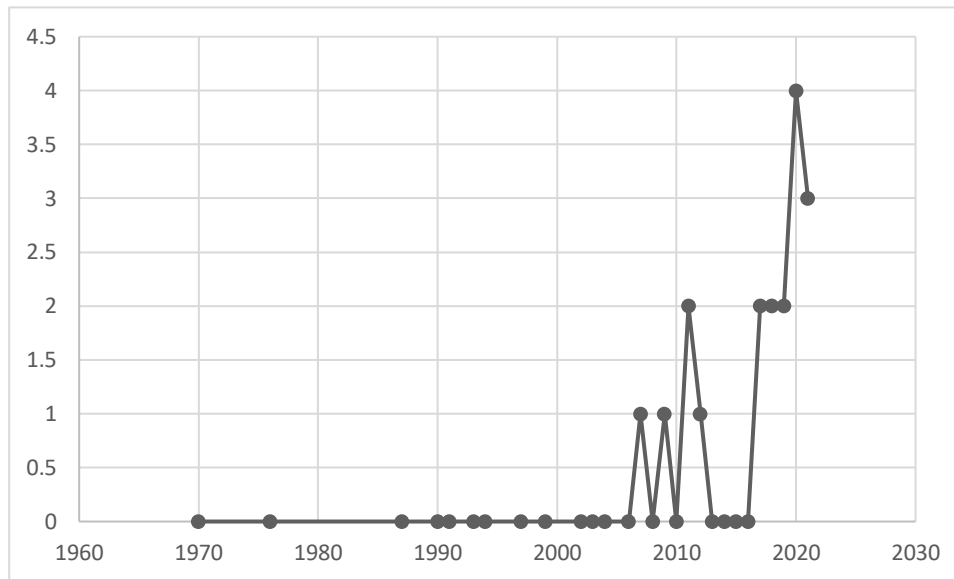
*Aplicación de microscopía de luz polarizada por año de publicación*



En cuanto a la utilización de la microtomografía computarizada (Fig. 11), es posible observar que su uso ha sido cada vez más frecuente en los últimos años, marcando una tendencia clara en cuanto a su aplicación ya que sólo desde del año 2007 se registra su uso. A partir de allí, de 24 publicaciones revisadas, se empleó en 18. Antes del 2007 su uso ha sido completamente nulo, indicando de igual forma la novedad que representa esta técnica para los estudios histológicos.

**Figura 12.**

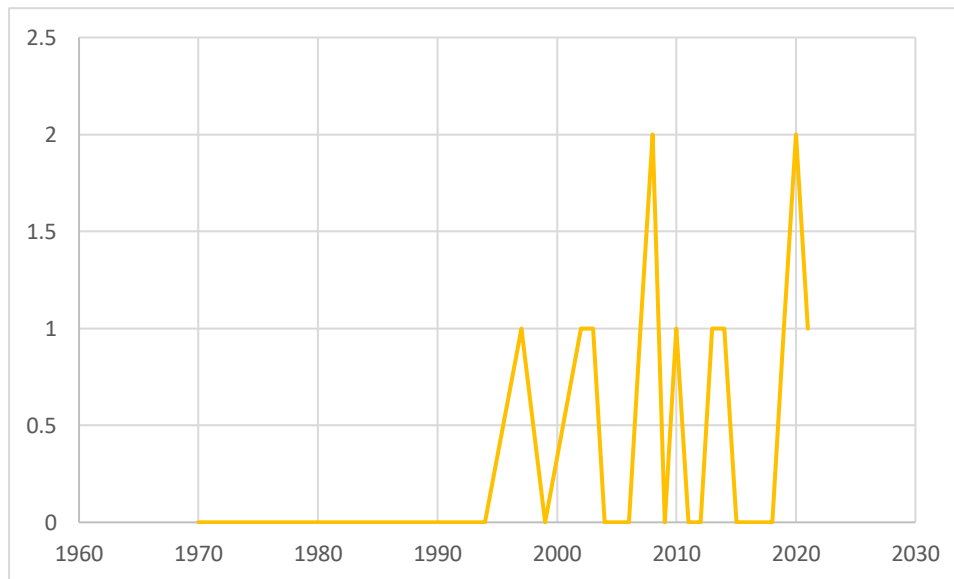
*Aplicación de microtomografía computarizada (Micro-CT) por año de publicación*



Cuando se agrupan las técnicas que se utilizan en los métodos histoquímicos, es decir, la espectrometría y espectroscopía (Fig. 12), se puede observar que estos marcan una tendencia más irregular en comparación con las técnicas analizadas en las líneas inmediatamente anteriores. Su uso dentro de la población estudiada empieza a partir del año 1997, y a partir de allí, se aplican más que en años anteriores para los diferentes análisis pero no es una tendencia constante.

**Figura 13.**

*Aplicación de espectroscopía/espectrometría por año de publicación*

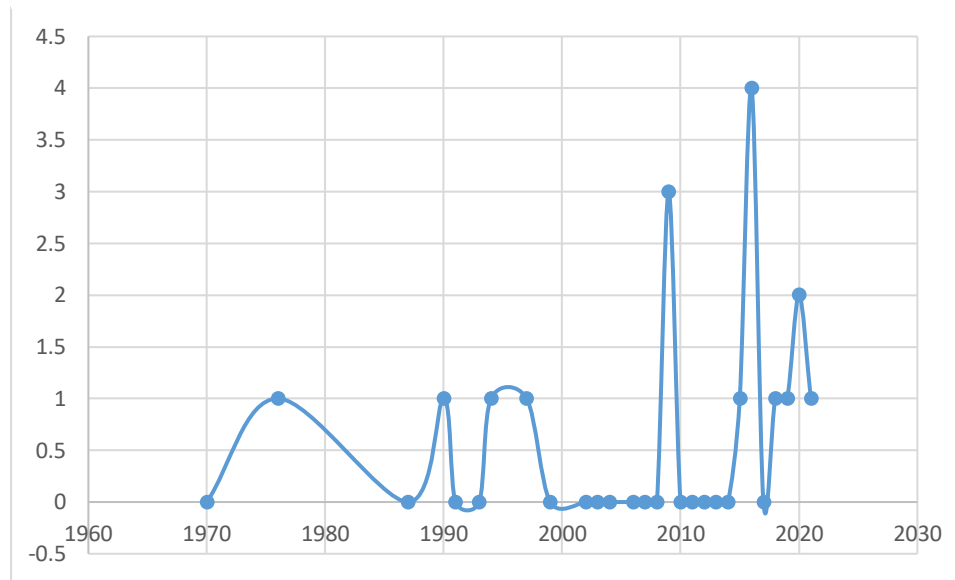


### **3.2.2 Variables medidas por año de publicación**

Al momento de agrupar las mediciones tomadas en cuenta en los diferentes estudios que aplicaron métodos histomorfométricos e histoquímicos con el año de publicación es posible observar que, en el caso de *Number of Fragmentary Osteons* (Fig. 13), el registro más antiguo de esta medición en la muestra seleccionada es del año 1976, y sólo hasta 1990 se volvió a aplicar, a partir de allí tiene un uso más extendido en las publicaciones incluidas, de tal manera que de 31 artículos publicados desde el año señalado hasta 2021, 16 midieron esta variable para su análisis, anotando en este punto que desde 1997 hasta 2009 no se tienen registros de esta medición en la muestra seleccionada.

**Figura 14.**

*Medición Number of Fragmentary Osteons por año de publicación*

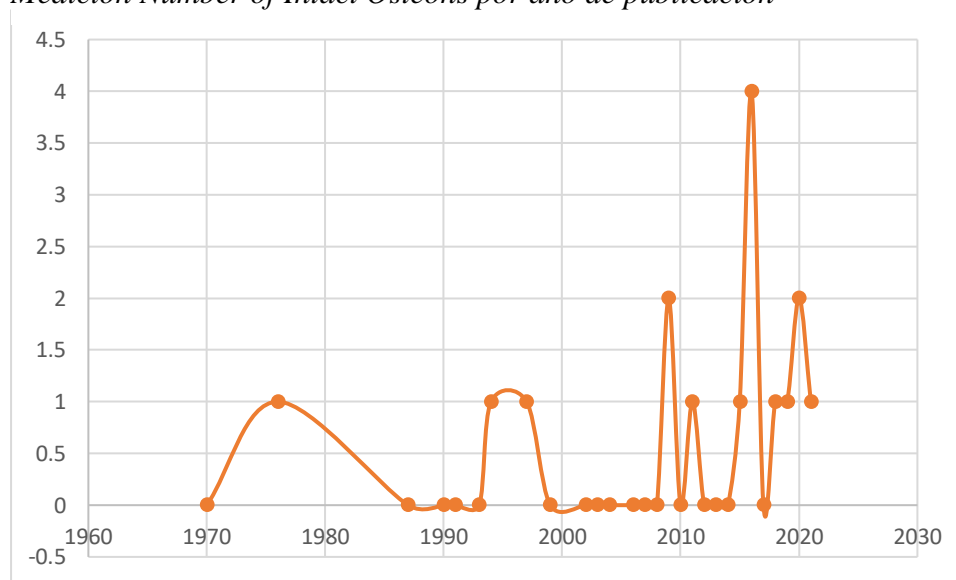


La tendencia de la medición *Number of Intact Osteons* cuando se agrupa por año (Fig. 14) es bastante similar a la que se describió en referencia a *Number of Fragmentary Osteons*. Su aparición más anterior se registra en el año 1976, aparece en la década de los noventa dos veces, en 1994 y 1997, después tiene un valle largo en la década del 2000 volviendo a medirse en el año 2009, después de estos años alcanza un pico en el 2016 con cuatro publicaciones que tomaron esta medida como referencia para el análisis histomorfométrico.



**Figura 15.**

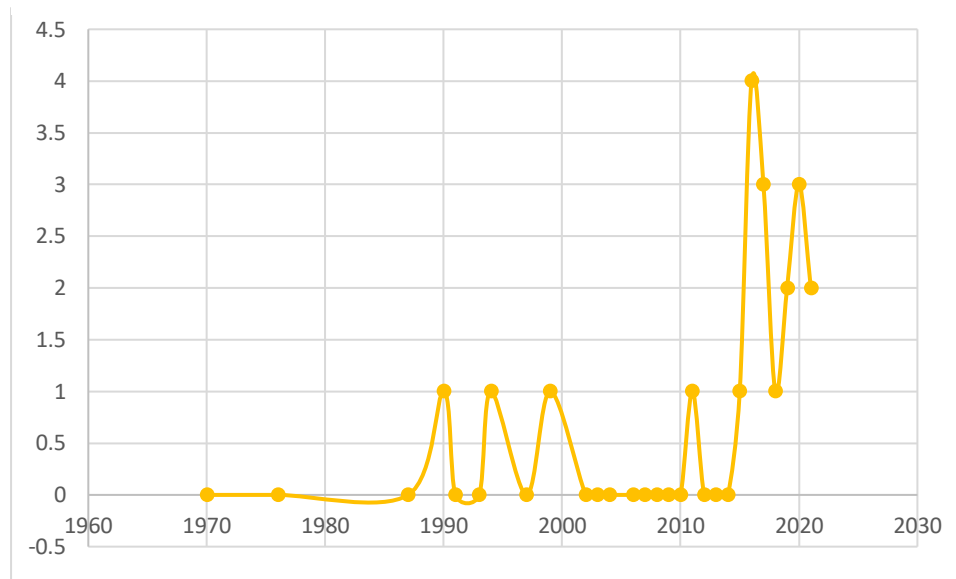
*Medición Number of Intact Osteons por año de publicación*



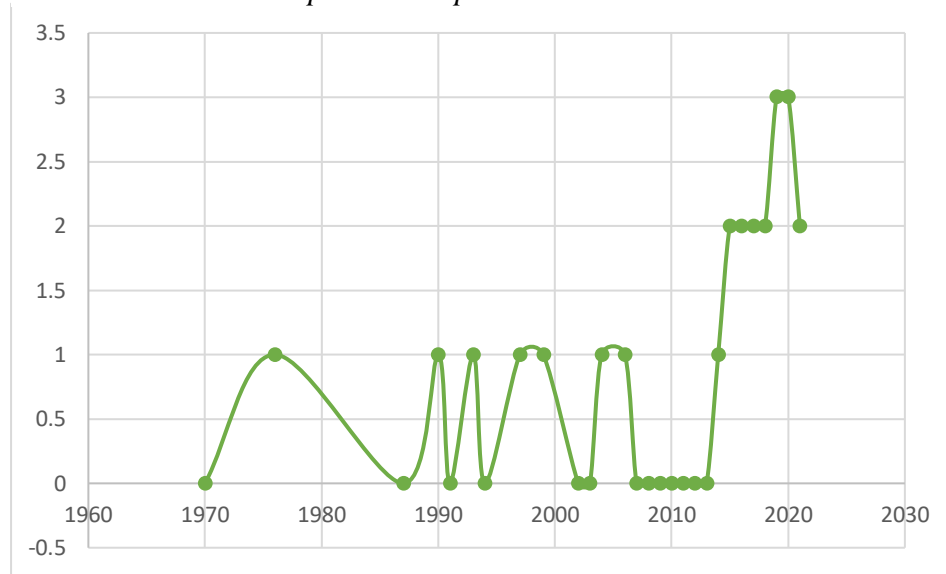
Cuando se agrupa la variable *Osteon Population Density* con el año de publicación (Fig. 15) se observa una tendencia clara a su uso cada vez más popularizado durante los últimos años, no se tienen registros de esta medida en las publicaciones incluidas en la revisión desde 1970 hasta 1990, a partir de allí aparece esporádicamente pero su “explosión” se da sobre todo a partir de la década pasada, es decir, desde el 2010 su uso aplicación ha sido cada vez más frecuente en los análisis histomorfométricos. De tal manera, desde el mencionado año aparece en un total de 16 artículos académicos.

**Figura 16.**

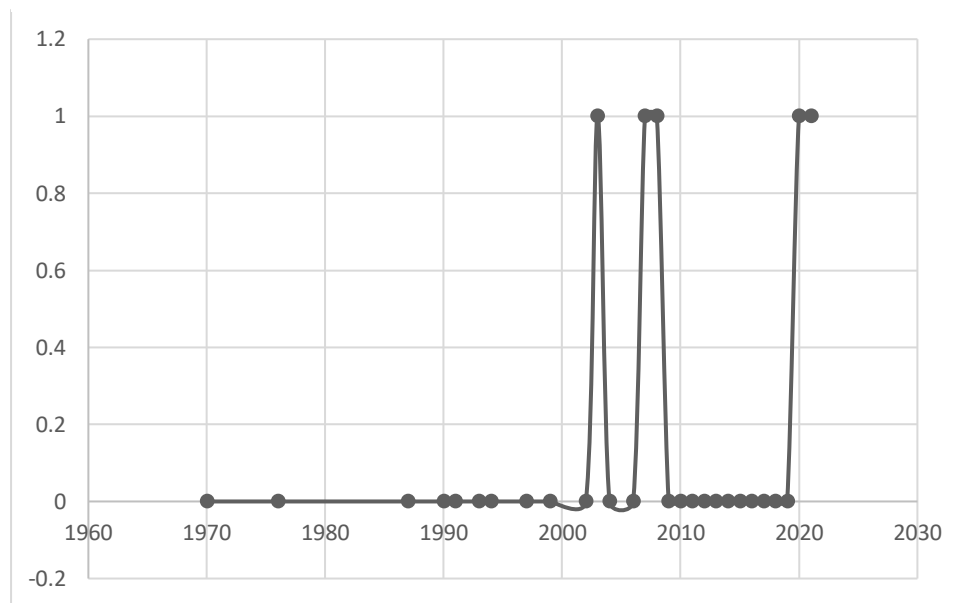
*Medición Osteon Population Density por año de publicación*



Agrupando la variable de medición *Osteon Area* por año de publicación (Fig. 16), se observa que su aplicación se ha extendido desde 1976 hasta el presente año. Es una medición que se ha empleado en los análisis histológicos a lo largo de la ventana temporal que se tiene para la muestra seleccionada mostrando un aumento considerable en su aplicación en los últimos diez años.

**Figura 17.***Medición Osteon Area por año de publicación*

Agrupando *Cristalinity Index* con año de publicación encontramos que se trata de un índice poco utilizado dentro de la muestra seleccionada para la revisión que aquí se presenta. Así, no se tiene registro de su aplicación desde el año 1970 hasta el 2002. Se tiene que avanzar hasta el 2003 para encontrar su aplicación más anterior. Esta variable no marca una tendencia clara en los estudios revisados cuando se agrupa por año de publicación, esto se debe también a que su aparición es escasa en la población de publicaciones revisadas y tampoco aparece en muchas ocasiones dentro del subgrupo en este punto señalado, es decir, dentro de los métodos histoquímicos.

**Figura 18.***Cristalinity Index por año de publicación*

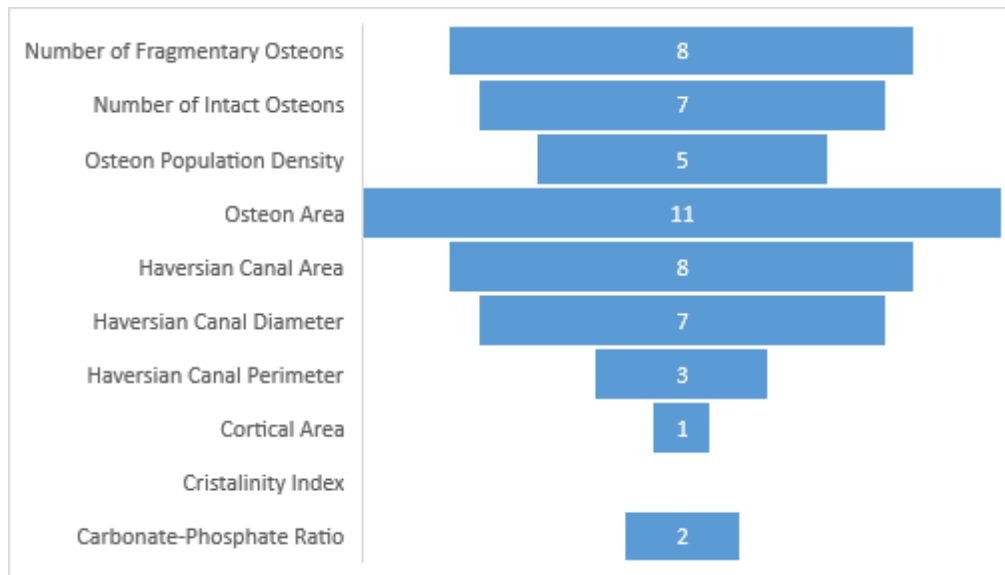
### 3.2.3 Variables medidas por pieza ósea empleada

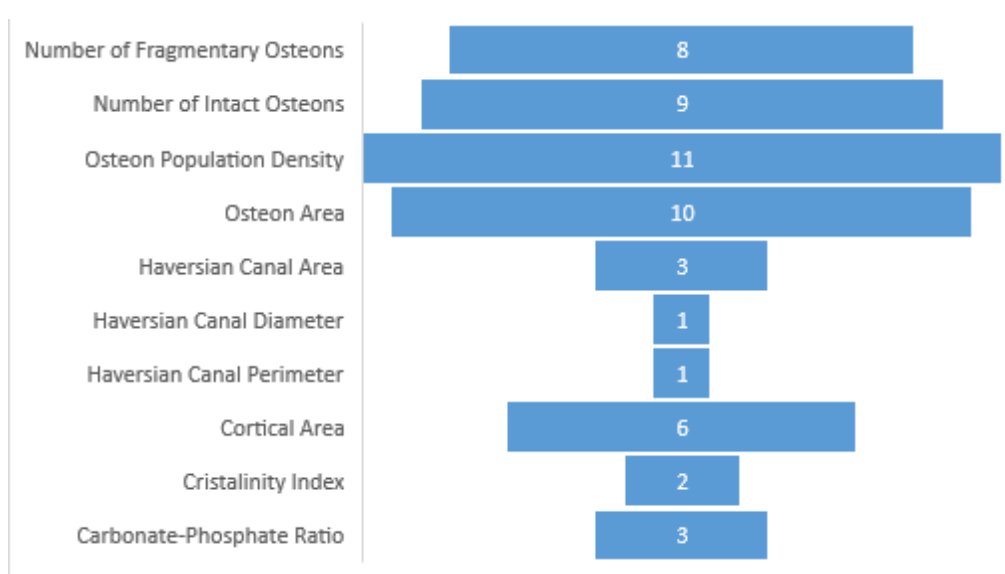
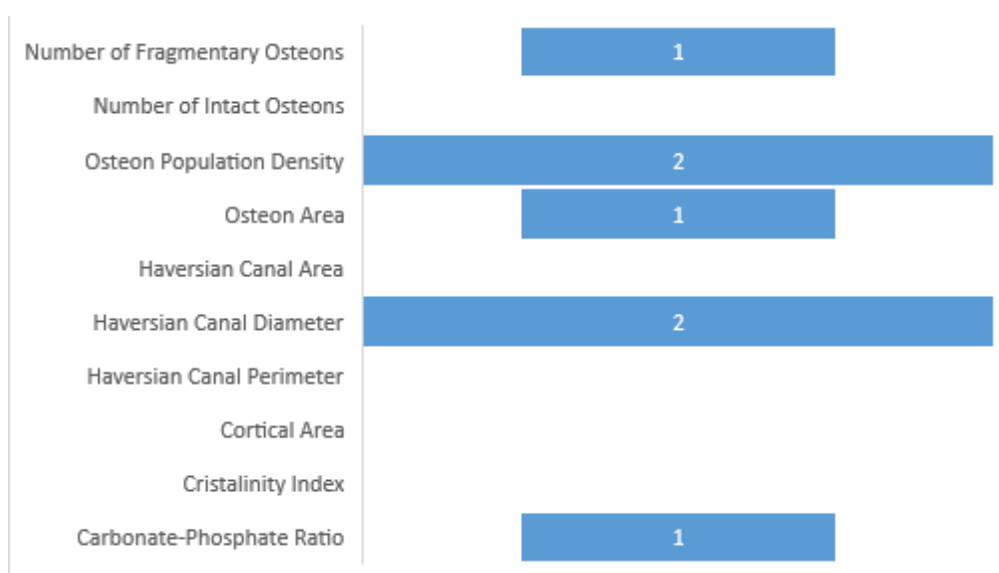
Cuando se agrupan las variables medidas con las piezas óseas de donde se extraen las muestras para el análisis es posible notar lo siguiente: para las muestras extraídas del fémur (Fig. 18) la medición que más se aplica es *Osteon Area*, luego, *Number of Fragmentary Osteons* y *Haversian Canal Area*. De igual forma, las mediciones *Haversian Canal Diameter* y *Number of Intact Osteons* aparecen como variables importantes cuando se aplican análisis histológicos en muestras que proceden del hueso en cuestión. *Osteon Population Density*, *Cortical Area* y *Haversian Canal Perimeter* son las mediciones que menos se aplican a las muestras histológicas que se extraen del fémur. Por otro lado, en el caso de las muestras originarias de las costillas (Fig. 19) la medición que más se utilizó fue *Osteon Population Density*, seguida por *Osteon Area*, *Number of Intact Osteons* y *Number of Fragmentary Osteons*, respectivamente. También se debe resaltar que de las tres piezas óseas analizadas (fémur, costillas, cráneo) es en las costillas donde más se aplica la medición *Cortical Area*. En el caso de las muestras que se obtienen a partir de huesos del cráneo (Fig. 20) las variables son más escasas que en los otros dos huesos indicando que en su mayoría los huesos del cráneo no se emplean para la aplicación de métodos

histomorfométricos. Sólo se resalta en este punto *Osteon Population Density* que, para este tipo de muestras aparece con más frecuencia que las otras variables de medición aquí referenciadas.

**Figura 19.**

*Distribución de variables medidas en fémur*



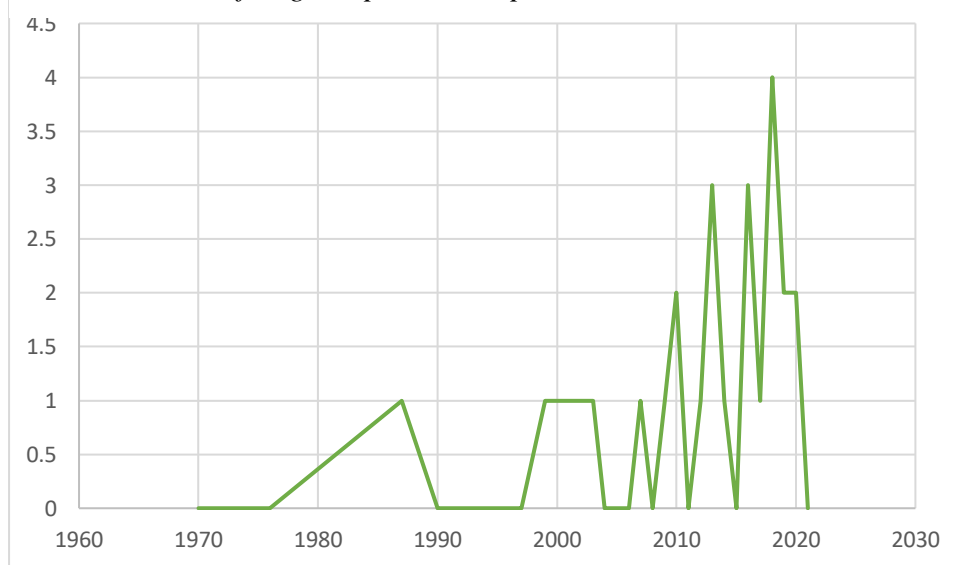
**Figura 20.***Distribución de variables medidas en costillas***Figura 21.***Distribución de variables medidas en cráneo*

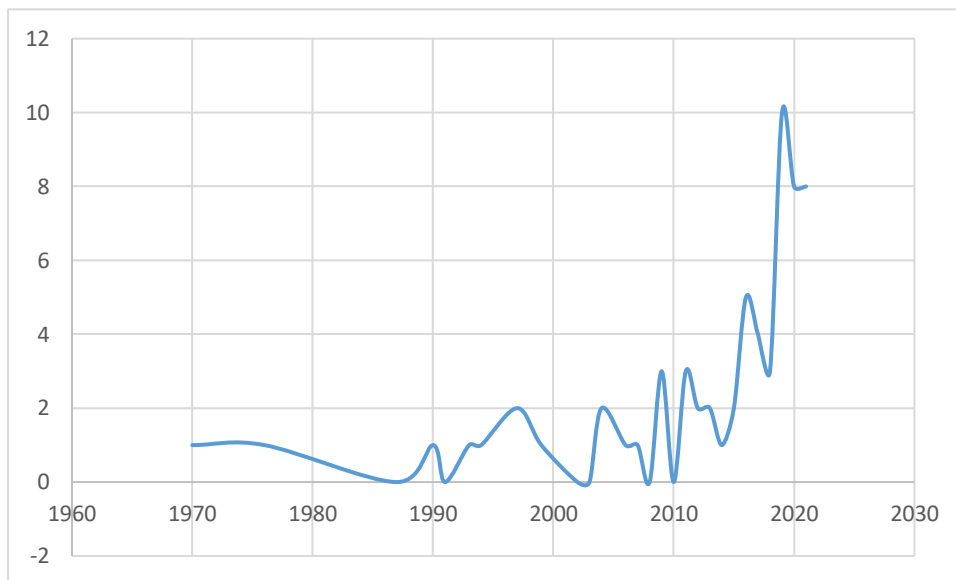
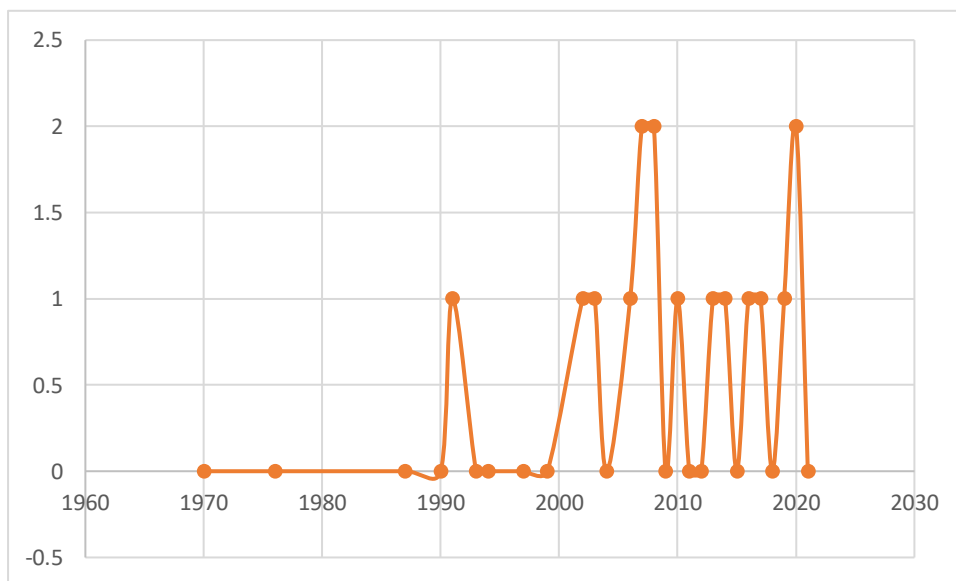
### 3.2.4 Métodos por año de publicación

Agrupados por el año de publicación, el tipo de método utilizado sigue la tendencia observada para las técnicas cuando se agrupan con la misma variable, sin embargo cuando se miran individualmente los gráficos que expresan esta relación, en el caso de los métodos histomorfométricos, (Fig. 22) estos superan ampliamente a los métodos histomorfológicos e histoquímicos en representación a lo largo de los años observados en la revisión que aquí se presenta. Así, a partir de 1990 los métodos histomorfométricos son superlativos en comparación con los otros dos tipos de métodos empleados en el total de los estudios expuestos. Los métodos histomorfométricos alcanzan un pico alto en el año 2019 registrando 10 investigaciones que emplean las mediciones y el conteo de microestructuras en el tejido óseo para estimaciones histológicas.

#### Figura 22.

*Métodos histomorfológicos por año de publicación*



**Figura 23.***Métodos histomorfométricos por año de publicación***Figura 24.***Métodos histoquímicos por año de publicación*



#### 4 Discusión y conclusiones

La histología ósea ha demostrado tener un potencial único cuando se trata de realizar estimaciones fundamentales en antropología forense y cuando se trata de conocer y aproximarnos a las características propias de poblaciones enteras de nuestro pasado. Todo este potencial puede ser explotado sin la necesidad de hallar piezas óseas completas. Se pudo observar en lo aquí expuesto que, aún con los retos que plantean nuestros días, bastan fragmentos para hacer innumerables preguntas al tejido óseo. A pesar de que, como se vio ampliamente en la descripción estadística, los estudios y publicaciones en histología ósea e el campo antropológico toman cada vez más fuerza y la evidencia parece indicar que con los años por venir esta tendencia va a continuar, se siguen presentando retos colosales referentes al tema abordado y que, más allá de lo exploratorio de la revisión presentada, son posibles de vislumbrar a partir de las descripciones y análisis estadísticos presentados en este proyecto.

En un país como Colombia dichos retos se multiplican, el primero y más importante significa la consecución de colecciones osteológicas en las universidades, siendo ese el primer paso para el acercamiento a análisis histológicos que nos acerquen cada vez más a estimaciones más precisas de la realidad. Estas aproximaciones son imposibles de realizar si no se cuenta con una colección bien documentada de individuos con las características y la genética de la población local para la creación de estándares propios; más aún cuando se trata de un país que ha padecido por más de 50 años un conflicto armado interno que abraza la degradación de los derechos humanos y entraña el ocultamiento de evidencias y de seres humanos. Son importantes también en este punto las colecciones arqueológicas, bien documentadas y cumpliendo igualmente estándares internacionales. Lo segundo que cabe en este punto es lo que tiene que ver con la financiación y obtención de recursos para los objetivos que aquí se enumeran. Las universidades y la academia en general en Latinoamérica no reconocen las potencialidades señaladas para el conocimiento de la histología ósea cuando se aplica a campos del saber como la antropología. Quedó claramente expuesto que, aun cuando se hace una revisión sistemática acudiendo a las bases de datos de una universidad pública ubicada en un país de Sudamérica y empleando un método sistemático para la búsqueda de estudios potencialmente relevantes junto con unos criterios explícitos y reproducibles fijados de antemano, la cantidad de registros publicados en nuestro idioma y en nuestro continente

resulta casi inexistente en cuanto al tema que aquí se presenta. De los 104 estudios que se incluyeron finalmente en la revisión, únicamente dos estaban en español y de los países que aportaron muestras para los análisis de los estudios, ninguno de los ubicados en nuestro continente lo hicieron a través de colecciones osteológicas. Son referentes en este punto las colecciones osteológicas de la Universidad de Coimbra, en Portugal, la colección osteológica de la Kent University, en Reino Unido, la colección osteológica de Praga y la colección osteológica de Melbourne, Australia. Al ser las colecciones osteológicas limitadas en número y tamaño con pocas donaciones de individuos, las colecciones virtuales se erigen como una alternativa importante para el desarrollo, investigación y aplicación de métodos así como para la enseñanza y aprendizaje de las propiedades del hueso.

La evidencia sugiere una vanguardia académica que apunta a la consecución de métodos y técnicas cada vez más sofisticados, especializados y precisos. Los métodos histomorfométricos en este punto actúan como un claro y real ítem de demostración de qué tanto se ha avanzado sobre el tema en cuestión en los diferentes lugares del planeta donde se está tratando, es a través del conocimiento y las bases en una estadística que interroga y abre innumerables ventanas a panoramas casi impensados para muchos profesionales de la antropología una aproximación más coherente con lo que enfrentamos diariamente en nuestra disciplina y en nuestros países. Para acercarse a esta vanguardia, el conocimiento y aproximación a dichas bases es fundamental. Como se pudo apreciar en líneas anteriores, las técnicas están aunadas al obligatorio conocimiento de la microscopía lo que trae consigo el conocimiento profundo de las propiedades físicas y químicas del material óseo y de los equipos utilizados. Sólo bajo dichos parámetros es posible avanzar en este sentido.

Existe también un vacío gigantesco en la información referente a la histología ósea aplicada en el campo antropológico más allá de la cantidad de, como también se expuso aquí, revistas académicas, artículos de investigación, libros y revisiones. El carácter compilatorio de la información desarrollada y aplicada en histología ósea es escaso a nivel general y se profundiza cuando se trata de países del sur global. La evidencia sugiere que cada vez más se publican estudios e investigaciones en histología ósea aplicada al campo antropológico, sin embargo, no es posible rastrear más de 5 investigaciones que aborden este tema en Colombia.

Para citar un ejemplo que aquí se expuso, es posible afirmar que el método para estimación de edad propuesto por Cho, et al. (2002) ha probado ser de bastante utilidad y precisión en diferentes latitudes teniendo en cuenta que las mediciones de las microestructuras propuestas por los autores son las que más se repiten en la muestra de publicaciones seleccionada; sabiendo de igual manera que se trata del ajuste al método desarrollado por Stout & Paine (1992) 10 años antes tomando como principal característica la variabilidad étnica al método desarrollado por estos últimos y aunque el estudio y aproximación a estos métodos puede constituirse como un buen punto de partida para el desarrollo de métodos propios, únicamente el conocimiento amplio y profundo de la población local aunado la comprensión amplia del hueso y el tejido óseo así como el conocimiento técnico y estadístico mencionados, van a permitir el desarrollo de dichos métodos dado que, como se expuso en líneas anteriores, la población local es profundamente variable.

Es necesario ampliar la muestra de estudios y publicaciones para llegar a conclusiones más sólidas. En tanto la presente se constituye como una Revisión Sistemática Cualitativa, es necesario también utilizar métodos estadísticos para combinar los resultados de dos o más estudios encontrados para que sea una Revisión Sistemática Cuantitativa, es decir que incluya *Metaanálisis*.

---

## Referencias

- Adams, B. J., & Byrd, J. E. (2008). *Recovery, analysis, and identification of commingled human remains. Recovery, Analysis, and Identification of Commingled Human Remains*. <https://doi.org/10.1007/978-1-59745-316-5>
- Agnew, A, Bolete, J. (2012). Bone Fracture: Biomechanics and Risk. En *Bone Histology: An Anthropological Perspective*. (C. Crowder & S. Stout, Eds.) (1st Editio). Boca Raton, FL: CRC Press. <https://doi.org/https://doi.org/10.1201/b1139>
- Bell, L. (2012). Histotaphonomy. En *Bone Histology: An Anthropological Perspective*. (C. Crowder & S. Stout, Eds.) (1st Editio). Boca Raton, FL: CRC Press. <https://doi.org/https://doi.org/10.1201/b1139>
- Bell, L. (1990). Palaeopathology and diagenesis: an SEM evaluation of structural changes using backscattered electron imaging. *Journal of Archaeological Science*, 17(1), 85-102.
- Buikstra, J., & Ubelaker, D. H. (1994). *Standards for Data Collection from Human Skeletal Remains*. (J. Buikstra & D. H. Ubelaker, Eds.). Fayetteville, Arkansas: Library of Congress.
- Cardona, J., Higueta, L., & Ríos, L. (2016). *Revisiones sistemáticas de la literatura científica*. Bogotá: Ediciones Universidad Cooperativa de Colombia.
- Cattaneo, C. (2007). Forensic anthropology: developments of a classical discipline in the new millennium. *Forensic Science International*, 165(2–3), 185–193. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2006.05.018>
- Centro Nacional de Memoria Histórica, C. (2014). *Normas y dimensiones de la desaparición forzada en Colombia. Tomo I*. Bogotá.
- Centro Nacional de Memoria Histórica, C. (2016). *Hasta encontrarlos*. Bogotá. Retrieved from <http://centrodememoriahistorica.gov.co/descargas/informes2016/hasta-encontrarlos/hasta-encontrarlos-drama-de-la-desaparicion-forzada-en-colombia.pdf>
- Crowder, C. M., Andronowski, J. M., & Dominguez, V. M. (2018). Bone Histology as an Integrated Tool in the Process of Human Identification. In *New Perspectives in Forensic Human Skeletal Identification* (pp. 201–213). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-805429-1.00018-1>
- Crowder, C., & Stout, S. (2012). *Bone Histology: An Anthropological Perspective*. (C. Crowder & S. Stout, Eds.) (1st Editio). Boca Raton, FL: CRC Press. <https://doi.org/https://doi.org/10.1201/b11393>
- Crowder, C., & Stout, S. (2012). Bone Remodeling, Histomorphology, and Histomorphometry. En *Bone Histology: An Anthropological Perspective*. (C. Crowder & S. Stout, Eds.) (1st Editio).

- Boca Raton, FL: CRC Press. <https://doi.org/https://doi.org/10.1201/b1139>
- Currey, J. (1964). Some Effects of Ageing in Human Haversian Systems. *Journal of Anatomy*, 98, 69–75. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14109815> <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC1261313>
- Cho, H. (2012). The Histology Laboratory and Principles of Microscope Instrumentation. En *Bone Histology: An Anthropological Perspective*. (C. Crowder & S. Stout, Eds.) (1st Editio). Boca Raton, FL: CRC Press. <https://doi.org/https://doi.org/10.1201/b1139>
- Cho, H., Stout, S. D., Madsen, R. W., & Streeter, M. A. (2002). Population-specific histological age-estimating method: a model for known African-American and European-American skeletal remains. *Journal of Forensic Science*, 47(1), 12-18.
- Desántolo, B. (2012). *Validación metodológica para la estimación de edad y sexo en restos óseos humanos adultos*. Universidad Nacional de La Plata.
- Dirkmaat, D. C., Cabo, L. L., Ousley, S. D., & Symes, S. A. (2008). New perspectives in forensic anthropology. *American Journal of Physical Anthropology: The Official Publication of the American Association of Physical Anthropologists*, 137(S47), 33-52.
- Egger, M., Smith, G. D., & Altman, D. G. (Eds.). (2001). *Systematic Reviews in Health Care*. London: BMJ Publishing Group. Retrieved from [file:///C:/Users/youhe/Downloads/kdoc\\_o\\_00042\\_01.pdf](file:///C:/Users/youhe/Downloads/kdoc_o_00042_01.pdf)
- Epker, B. N., & Frost, H. M. (1965). A histological study of remodeling at the periosteal, haversian canal, cortical endosteal, and trabecular endosteal surfaces in human rib. *The Anatomical Record*, 152(2), 129–135. <https://doi.org/10.1002/ar.1091520203>
- Ferreira González, I., Urrútia, G., & Alonso-Coello, P. (2011). Systematic reviews and meta-analysis: Scientific rationale and interpretation. *Revista Espanola de Cardiologia*, 64(8), 688–696. <https://doi.org/10.1016/j.recesp.2011.03.029>
- Frost, H. M. (1985). The “new bone”: Some anthropological potentials. *American Journal of Physical Anthropology*, 28(6 S), 211–226. <https://doi.org/10.1002/ajpa.1330280511>
- García-Donas, J. G., Dyke, J., Paine, R. R., Nathana, D., & Kranioti, E. F. (2016). Accuracy and sampling error of two age estimation techniques using rib histomorphometry on a modern sample. *Journal of Forensic and Legal Medicine*, 38, 28–35. <https://doi.org/10.1016/j.jflm.2015.11.012>
- Gosman, J. (2012). Growth and Development: Morphology, Mecanismos, and Abnormalities. En *Bone Histology: An Anthropological Perspective*. (C. Crowder & S. Stout, Eds.) (1st Editio). Boca Raton, FL: CRC Press. <https://doi.org/https://doi.org/10.1201/b1139>

- Green, S. (2003). Systematic reviews and meta-analyses. *Evidence in Mental Health Care*, 46(6), 53–59. <https://doi.org/10.1016/b978-0-443-06367-1.50015-6>
- Higgins, J. [Ed], & Green, S. [Ed]. (2011). *Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions* [Manual Cochrane de revisiones sistemáticas de intervenciones, in Spanish]. *The Cochrane Collaboration*, (March), 1–639. Retrieved from [www.cochrane-handbook.org](http://www.cochrane-handbook.org)
- Kerley, E. R. (1965). The microscopic determination of age in human bone. *American Journal of Physical Anthropology*, 23(2), 149–163. <https://doi.org/10.1002/ajpa.1330230215>
- Lyman, R. (1994). WHAT IS TAPHONOMY? In *Vertebrate Taphonomy* (Cambridge Manuals in Archaeology, pp. 1-11). Cambridge: Cambridge University Press. doi:10.1017/CBO9781139878302.002
- Maggio, A., & Franklin, D. (2020). Femoral histomorphometric age-at-death studies: The issue of sample size and standard error. *Medicine, Science and the Law*, 60(4), 257-265.
- Maggiano, C. (2012). Making the Mold: A microstructural Perspective on Bone Modeling during Growth and Mechanical Adaptation. En *Bone Histology: An Anthropological Perspective*. (C. Crowder & S. Stout, Eds.) (1st Editio). Boca Raton, FL: CRC Press. <https://doi.org/https://doi.org/10.1201/b1139>
- Milovanovic, P., & Busse, B. (2019). Inter-site variability of the human osteocyte lacunar network: implications for bone quality. *Current osteoporosis reports*, 17(3), 105-115.
- Monsalve, T., & Hefner, J. T. (2016). Macromorphoscopic trait expression in a cranial sample from Medellín, Colombia. *Forensic science international*, 266, 574-e1.
- Moher, D., Liberati, A., Tetzlaff, J., Altman, D. G., Altman, D., Antes, G., ... Tugwell, P. (2009). Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: The PRISMA statement. *PLoS Medicine*, 6(7). <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1000097>
- Mulhern, D, Ubelaker, D. (2012). Differentiating Human from Nonhuman Bone Microstructure. En *Bone Histology: An Anthropological Perspective*. (C. Crowder & S. Stout, Eds.) (1st Editio). Boca Raton, FL: CRC Press. <https://doi.org/https://doi.org/10.1201/b1139>
- Ortner, D. J. (2003). *Identification of Pathological Conditions in Human Skeletal Remains* (2nd ed.). San Diego, CA: Elsevier Ltd.
- Pfeiffer, S, Pinto, D. (2012). Histological Analyses of Human Bone from Archeological Contexts. En *Bone Histology: An Anthropological Perspective*. (C. Crowder & S. Stout, Eds.) (1st Editio). Boca Raton, FL: CRC Press. <https://doi.org/https://doi.org/10.1201/b1139>
- Restrepo, N. (2016). *Estimación de la edad histológica en individuos subadultos de una muestra osteológica de la Universidad de Antioquia*. [Tesis de Maestría]. Universidad de Antioquia.

- 
- Ross, M. H., & Wojciech, P. (2008). *Histología. Texto y Atlas color con Biología Celular y Molecular. Histología: texto y atlas color con biología celular y molecular* (5th ed.). Buenos Aires: Médica Panamericana.
- Scheuer, L., & Black, S. (2004). *The Juvenile Skeleton*. Wallington: Elsevier Ltd.
- Stout, S. D., & Paine, R. R. (1992). Histological age estimation using rib and clavicle. *American Journal of Physical Anthropology*, 87(1), 111-115.
- Streeter, M. (2012). Histological Age-at-Death Estimation. En *Bone Histology: An Anthropological Perspective*. (C. Crowder & S. Stout, Eds.) (1st Editio). Boca Raton, FL: CRC Press. <https://doi.org/https://doi.org/10.1201/b1139>
- Streeter, M. (2010). A four-stage method of age at death estimation for use in the subadult rib cortex. *Journal of Forensic Sciences*, 55(4), 1019–1024. <https://doi.org/10.1111/j.1556-4029.2010.01396.x>
- Ubelaker, D. H. (2018). Species Determination From Fragmentary Evidence. In *New Perspectives in Forensic Human Skeletal Identification* (pp. 197–200). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-805429-1.00017-x>
- White, T. D., Black, M. T., & Folkens, P. A. (2012). *Bone Osteology* (3rd ed.). San Diego, CA: Elsevier Inc.

**Anexos**

Se anexa en el documento presentado el protocolo de revisión realizado en paquete de Microsoft Office 365®, Microsoft Excel®.