Małgorzata Kępa, Henryk Głąb, Beata Stepańczak, Wojciech Branicki,
Tomasz Kupiec, Krzysztof Szostek, Anna Kozłowska

Ludzkie szczątki wyeksplorowane w zakrystii kościoła św. Andrzeja w Krakowie w świetle analiz anatomo-antropologicznych, biochemicznych i molekularnych

Wstęp

Współczesna antropologia historyczna i bioarcheologia koncentrują się na analizach mających na celu poznanie zróżnicowania wielkości i proporcji szkieletu, stanu zdrowia, jak również na opisie schorzeń i badaniu częstości występowania różnych chorób. Bardzo ważny element stanowią badania demograficzne, pozwalające odtworzyć strukturę populacji pradziejowych i historycznych w kontekście płci i wieku oraz określenia częstości zgonów w poszczególnych kategoriach wiekowych. Odrębną częścią, jednocześnie uzupełniającą standardowe metody, są analizy chemiczne i molekularne. Specjalnego podejścia wmagają badania pojedynczych szkieletów. Podejmowane są one m.in. w sytuacji, kiedy przedmiotem opracowań stają się pojedyncze szczątki sławnych, historycznych postaci, co dotarcza wiedzy na temat ich życia. Taki właśnie charakter miały badania przedstawione w niniejszej pracy.

Przedmiotem badań anatomo-antropologicznych, biochemicznych i molekularnych były dwa szkielety wyeksplorowane w zakrystii (dawnej kaplicy grobowej) kościoła św. Andrzeja w Krakowie. Szkielety te odkryto przy okazji prowadzonych w 2011 roku prac konserwatorsko-remontowych związanych z zabezpieczeniem ścian i poziomu użytkowego budowli przed wilgocią i zagrzybieniem. Grobowiec, w którym znajdowały się szkielety, usytuowany był wzdłuż osi kaplicy, tuż przy ołtarzu. Na dnie złożone były szczątki ludzkie w dobrym stanie zachowania, ułożone w pozycji naturalnej i stanowiące regularny, pierwotny pochówek. Szczątki te określono jako „szkielet dolny". Tuż nad nim natomiast odkryto przemieszane wtórnie kości ludzkie, stanowiące jeden pochówek o nieregularnym i nieanatomicznym ułożeniu – „szkielet górny".

Celem kompleksowych badań antropologicznych było ustalenie płci oraz przybliżonego wieku w chwili śmierci. Podjęto się także oszacowania przyżyciowej wysokości ciała oraz wyznaczenia podstawowych parametrów opisujących budowę czaszki. W sposób makroskopowy dokonano oceny zmian chorobowych, jakie można było zaobserwować na kościach. Wykonano także specjalistyczne badania biochemiczne i molekularne, dostarczające informacji w kontekście diety, migracji oraz pokrewieństwa dwóch osobników, stanowiących przedmiot niniejszego opracowania. Szczegółowe analizy, jakie przeprowadzono, pozwoliły na pozyskanie istotnych informacji na temat szczątków ludzkich spoczywających w podziemnym grobowcu kościoła św. Andrzeja w Krakowie.

Materiał i metodyka badań

W celu określenia płci i oceny wieku zmarłych zastosowano powszechnie wykorzystywane w antropologii fizycznej metody. Ze względu na dobry stan zachowania kości i kompletność szkieletu płeć i wiek zostały określone z uwzględnieniem kilku metod badawczych. Płeć badanych osobników oceniono na podstawie morfologii czaszki oraz miednicy, analizując cechy uznane powszechnie za diagnostyczne[1]. Pod uwagę brano również budowę mofrologiczną żuchwy, według charakterystyki podaną przez Nadira I. Gülekona i Basriego H. Turguta[2] oraz Tima D. White'a i Pietera A. Folkensa[3]. Z cech szkieletu postkranialnego uwzględniono charakter kąta podłonowego, masywność kości miednicznych i budowy kości krzyżowej, zgodnie z sugestiami podanymi przez White'a i Folkensa[4] oraz ukształtowanie wcięcia kulszowego większego, zgodnie z propozycją Buikstry i Ubelakera[5]. Dodatkowo oceniono ogólną wielkość, masywność oraz stopnień urzeźbienia szkieletu postkranialnego. Ustalając wiek w chwili śmierci,

[1] Acsádi G.Y., Nemeskéri J.: *History of Human Life Span and Mortality*. Budapest 1970; Buikstra J.E., Ubelaker D.H. (eds): Standards for Data Collecion from Human Skeletal Remains. In: *Proceedings of Seminar at the Field Museum of Natural History, 1994*. Arcansas Archeological Survey Research. Series No. 44. Fayetteville, Arkansas 1994; Piontek J.: *Biologia populacji pradziejowych. Zarys metodyczny*. Poznań 1999; White T.D., Folkens P.A.: *The Human Bone Manual*, 2005.

[2] Güllekon I.N., Turgut H.B: *The External Occipital Protuberance: Can It Be Used as a Criterion in the Determination of Sex?*. „Journal of Forensic Sciences" 2003, Vol. 48, Issue 3, pp. 513–516.

[3] White T.D., Folkens P.A.: *The Human Bone*…, pp. 385–398.

[4] *Ibidem*, pp. 393–397.

[5] Buikstra J.E., Ubelaker D.H. (eds): Standards for Data Collecion…, *passim*.

stosowano metodę kompleksową, rekomendowaną w przypadku osobników dorosłych. Analizowano stopień obliteracji szwów czaszkowych, a także związane z wiekiem zmiany w obrębie uzębienia, jak starcie powierzchni koron zębów czy stopień odsłonięcia szyjki zęba. Zwracano również uwagę na zmiany w morfologii spojenia łonowego oraz powierzchni uchowatej kości miedniczej.

W dalszej kolejności wykonano pomiary kraniometryczne i osteometryczne, zgodnie z powszechnie stosowaną metodyką według Rudolfa Martina[6]. Pomiary kraniometryczne pozwoliły na ocenę morfologii czaszki, zaś osteometryczne kości długich kończyn górnych i dolnych na oszacowanie przyżyciowej wysokości ciała. Posłużono się tutaj równaniami regresji według metody Trottera – Gleseraa[7] oraz Pearsona[8].

Dla każdego z osobników w sposób makroskopowy przeprowadzono analizę ewentualnych zmian patologicznych[9], mogących stać się bezpośrednią lub pośrednią przyczyną zgonu, oraz odnotowano charakterystyczne cechy morfologiczne, jak stopień wykształcenia przyczepów mięśniowych.

Dokonano także chemicznych analiz zębów w odniesieniu do diety oraz pochodzenia osobników. W przypadku określenia diety wybrano te pierwiastki, które stanowią najlepszy miernik przy rekonstrukcji strategii żywieniowych naszych antenatów. Współcześnie w antropologii szczególny nacisk kładzie się na analizy zawartości czterech ważnych pierwiastków: strontu, baru, wapnia oraz fosforu[10]. Dostarczają one informacji na temat diety w zakresie strategii żywieniowych, środowiskowym i socjoekonomicznym. Pozwalają określić rodzaj diety i proporcje spożywanych pokarmów: zwierzęcych, roślinnych czy pochodzenia morskiego. Dodatkowo jako pomocne narzędzie interpretacyjne przy rekonstrukcji paleodiety wykorzystuje się tzw. wskaźniki żywieniowe, określające wzajemny stosunek analizowanych pierwiastków Sr/Ca, Ba/Sr i Ba/Ca. Z kolei wzajemne relacje wapnia do fosforu pozwalają uchwycić zmiany, jakie mogły ewentualnie zajść w obrębie szkieletu przez czas zalegania w glebie.

Ze „szkieletu dolnego" pobrano kieł (C) oraz fragment kości udowej, zaś ze szkieletu górnego pierwszy ząb (M1) oraz fragment paliczka kości ręki. W przypadku zęba oznaczenia wykonano oddzielnie dla szkliwa oraz zębiny. Koncentracja pierwiastków w obrębie szkliwa informuje o wczesnych etapach rozwoju osobnika i w mniejszym stopniu podlega zmianom w późniejszym okresie życia. Z kolei koncentracje zawarte w zębinie mogą ulegać zmianie w trakcie życia ze względu na mniej stabilną strukturę tej części zęba. Zawartości charakterystyczne dla kości informują natomiast o okresie sprzed ok. 10 lat zanim nastąpił zgon osobnika.

W celu wykluczenia zmian diagenetycznych w obrębie analizowanych próbek obliczono wskaźnik Ca/P, będący wyznacznikiem określającym, w jakim stopniu materiał kostny zalegający w glebie podlegał wymianie jonowej po śmierci[11]. Jako tło analiz wykorzystano kości zwierzęce odnalezione przy pochówkach. Koncentrację wybranych pierwiastków analizowano również w próbkach gleby, aby wykluczyć ewentualny ich przepływ z glebowego otoczenia pochówków do kości.

Każdy próbka umyta została w myjce ultradźwiękowej w otoczeniu dejonizowanej wody (*Gen Pure System*) w celu usunięcia zanieczyszczeń, następnie osuszone w cieplarce labolatoryjnej w temperaturze około 60 °C przez dobę. Tak przygotowane próbki poddano mokrej mineralizacji w obecności spektralnie czystego kwasu azotowego (70%, Suprapur, Merck). Stężenia pierwiastków określano z zastosowaniem spektrofotometru ICP – AES PLASMA 40, Perkin Elmer.

Duże znaczenie dla rozwoju badań nad ustaleniem miejsca pochodzenia oraz migracji ludności historycznej i prehistorycznej miało wprowadzenie do analizy szczątków ludzkich metod biochemicznych. Szczególną wartość poznawczą mają badania kopalnego DNA oraz analiza trwałych izotopów w materiale kostnym, dostarczające jeszcze do niedawna nieosiągalnych informacji o osobniku oraz populacji[12]. Znaczące miejsce w tym nurcie badań zajmuje analiza trwałych izotopów tlenu ($^{18}O/^{16}O$). Podstawą jej

[6] Martin R., Saller K. (Hrsg.): *Lehrbuch der Anthropologie in systematischer Darstellung mit besonderer Berücksichtigung der anthropologischen Methoden*. Bd. 1. Stuttgart 1957.

[7] Trotter M., Gleser G.C.: *Estimation of Stature from Long Bones of American Whites and Negroes*. „American Journal of Physical Anthropology" 1952, Vol. 10, pp. 463–514.

[8] Za: Piontek J.: *Biologia populacji…*, *passim*.

[9] Ortner D.: *Identification of Pathological Conditions in Human Skeletal Remains*. Elsevier Science, 2003.

[10] Burton J.H., Price T.D., Cahue L., Wright L.E.: *The Use of Barium and Strontium Abundances in Human Skeletal Tissues to Determine their Geographic Origins*. „International Journal of Osteoarchaeology" 2003, Vol. 13, pp. 88–95; Katzenberg M.A., Harrison R.G.: *What's in a Bone? Recent Advances in Archaeological Bone Chemistry*. „Journal of Archaeological Research"1997, Vol. 5, Issue 3, pp. 265–293; Katzenberg M.A., Saunders S.R.: Bone Chemistry and Trace Element Analysis. In: *Biological Anthropology of the Human Skeleton*, 2008, pp. 444–460; Szostek K.: *Chemical Signals and Reconstruction of Life Strategies from Ancient Human Bone and Teeth – Problems and Perspectives.* „Anthropological Review" 2009, Vol. 72, pp. 3–30

[11] Fabig A., Herrmann B.: *Trace Elements in Buried Human Bones: Intra-population Vrability of Sr/Ca and Ba/Ca ratios – Diet or Diagenesis?*. „Naturwissenschaften" 2002, Vol. 89, pp. 115–119.

[12] Linderholm A.E.: „Migration in Prehistory. DNA and Stable Isotope Analyses of Swedish skeletal material". Stockholm University, doctoral dissertation, 2008; Knudson K.J., Price T.D.: *Utility of Multiple Chemical Techniques in Archaeological Residential Mobility Studies: Case Studies from Tiwanaku and Chiribaya – Affiliated Sites in the Andes*. „American Journal of Physical Anthropology" 2007, Vol. 132, pp. 25–39. Shaw B.J., Summerhayes G.R., Buckley H.R., Baker J.A. :*The Use of Strontium Isotopes as an Indicator of Migration in Human and Pig Lapita Populations in the Bismarck Archipelago, Papua New Guinea.* „Journal of Archaeological Science" 2009, Vol. 36, pp. 1079–1091

wykorzystania stały się wyniki pracy Antonio Longinellego[13], które pozwoliły sformułować fundamentalne założenia, na których do dziś opiera się metodyka analiz izotopowych tlenu w materiale szkieletowym. W badaniach tych stwierdzono istnienie zależności między proporcją $^{18}O/^{16}O$ w wodzie środowiskowej (pitnej) a mineralną frakcją tkanki kostnej człowieka. W połączeniu z obserwacjami hydrologicznymi, świadczącymi o powiązaniu składu izotopowego tlenu wody środowiskowej z warunkami geograficznymi i klimatycznymi występującymi na danym terenie, metoda umożliwia rekonstrukcję miejsc bytności zarówno pojedynczych osobników, jak i całych grup ludzkich[14]. Ponadto analiza trwałych izotopów tlenu w tkance kostnej stała się niezmiernie przydatna w śledzeniu sezonowych wędrówek zarówno zwierząt, jak i ludzi[15], migracji osobników między grupami oraz genezy zasiedlania danych terenów[16]. Metoda pozwala również na badanie zmian klimatu zachodzących w przeszłości[17].

Do analizy trwałych izotopów tlenu pobierano fragmenty istoty zbitej kości udowej, szkliwo oraz zębinę pierwotną z korzenia zębów trzonowych pierwszych stałych. Prowadzenie analizy izotopowej tlenu oddzielnie w szkliwie i zębinie pierwotnej korzenia, czyli tkankach obrazujących skrajne okresy rozwoju zęba, umożliwia uchwycenie szerokiego fragmentu ontogenezy danego osobnika w okresie jego dzieciństwa i wczesnej młodości (od 0 do 9/11 roku życia). Należy podkreślić fakt, że posługiwano się w tej kwestii nie tyle kolejnością wyrzynania się zębów, co czasem mineralizacji badanych elementów składowych[18]. Pobrane próbki szkliwa, zębiny i kości oczyszczano i mielono.

Analizę trwałych izotopów tlenu prowadzono w jonach fosforanowych wyizolowywanych z apatytu, stanowiącego część nieorganiczną kości, szkliwa oraz zębiny. Fosforany zostały oddzielone z kostnego i zębowego apatytu metodą zaproponowaną przez Jamesa R. O'Neila i jego zespół[19] i przygotowane do analiz w formie kryształków fosforanu srebra (Ag_3PO_4). Próbki fosforanu srebra poddawano spektrometrycznemu pomiarowi składu izotopowego tlenu, który przeprowadzano w Zakładzie Zastosowań Radioizotopów Politechniki Śląskiej w Gliwicach. Pomiar każdej próbki wykonano trzykrotnie, a wyniki uśredniono. Rezultaty analizy spektrometrycznej zostały wyrażone w postaci pomiaru względnego (w tzw. notacji delta), gdzie stosunek izotopowy tlenu badanej próbki odnoszono do składu izotopowego tlenu związku przyjętym jako wzorzec i wyrażano w promilach[20], według wzoru:

$$\delta^{18}O\ (‰) = \frac{^{18}O/^{16}O_{próbka} - ^{18}O/^{16}O_{wzorzec}}{^{18}O/^{16}O_{wzorzec}} \times 1000$$

Jako wzorca składu izotopowego tlenu używano fosforanu srebra przygotowanego z próbki NIST 120c. W czasie obliczeń jako wartość odniesienia przyjęto $\delta^{18}O$ dla NIST 120c równą 21,7‰ względem skali VSMOW[21]. Dlatego też wszystkie zamieszczone w pracy wyniki analizy izotopowej tlenu badanych próbek kostnych i zębowych wyrażane są w skali VSMOW[22].

[13] Longinelli A.: *Oxygen Isotopes in Mammal Bone Phosphate: a New Tool for Paleohydrological and Paleoclimatological Research?*. „Geochimica et Cosmochimica Acta" 1984, Vol. 48, pp. 385–390.

[14] Dupras T.L., Schwarcz H.P.: *Strangers in a Strange Land: Stable Isotope Evidence for Human Migration in the Dakhleh Oasis, Egypt.* „Journal of Archaeological Science" 2001, Vol. 28, pp. 1199–1208; Hoogewerff J., Papesch W., Kralik M., Berner M., Vroon P., Miesbauer H., Gaber O., Künzel K.H., Kleinjans J.: *The last Domicile of the Iceman from Hauslabjoch: a Geochemical Approach Using Sr, C and O Isotopes and Trace Element Signatures*. „Journal of Archaeological Science" 2001, Vol. 28, pp. 983–989 Kudson K.J.: *Oxygen Isotope Analysis in a Land of Environmental Extremes: the Complexities of Isotopic Work in the Andes*. "International Journal of Osteoarchaeology" 2009, Vol. 19, pp. 171–191.

[15] Rubenstain D., Hobson K.A.: *From Birds to Butterflies: Animal Movement Patterns and Stable Isotopes*. „Trends in Ecology and Evolution" 2004, Vol. 19, pp. 256–263; Britton K., Grimes, V., Dau J., Richards M.P.: *Reconstructing Faunal Migrations Using intra-Tooth Sampling And Strontium And Oxygen Isotope Analyses: a Case Study of Modern Caribou* (*Rangifer Tarandus Granti*). „Journal of Archaeological Science" 2009, Vol. 36, pp. 1163–1172; Henton E., Meier-Augenstein W., Kemp H.: *The Use of Oxygen Isotopes in Sheep Molars to Investigate Past Herding Practices at the Neolithic Settlement of Çatalhöyük, Central Anatolia*. „Archaeometry" 2010, Vol. 52, pp. 429–449

[16] White C.D., Spence M.W., Stuart-Williams Q., Schwacz H.P.: *Oxygen Isotopes and the Identification of Geographical Origins: the Valley of Oaxaca Versus the Valley of Mexico*. „Journal of Archaeological Science" 1998, Vol. 25, pp. 643–655; Prowse T.L., Schwarcz H.P., Garnsey P., Knyf M., Macchiarelli R., Bondioli L.: *Isotopic evidence for age-related immigration to imperial Rome.* „American Journal of Physical Anthropology" 2007, Vol. 132, pp. 510–519.

[17] Fricke H.C., Clyde W.C., O'Neil J.R.: *Intra-Tooth Variations in δ 180 (PO4) of Mammalian Tooth Enamel as a Record of Seasonal Variations in Continental Climate Variables*. „Geochimica et Cosmochimica Acta" 1998, Vol. 62, pp. 1839–1850; Daux V., Lécuyer C., Adam F., Martineau F., Vimeux F.: *Oxygen Isotope Composition of Human Teeth and the Record of Climate Changes in France (Lorraine) During the Last 1700 Years*. „Climatic Change 2005, Vol. 70, pp. 445–464.

[18] White T.D., Folkens P.A.: *The Human Bone*…, pp. 365–369.

[19] O'Neil J.R., Roe L.J., Reinhard E., Blake R.E.: *A Rapid and Precise Method of Oxygen Isotope Analysis of Biogenic Phosphate*. „Israel Journal of Earth Sciences" 1994, Vol. 43, pp. 203–212.

[20] Benson S., Lennard, C., Maynard, P., Roux, C.: *Forensic Applications of Isotope Ratio Mass Spectrometry – a Review*. „Forensic Science International" 2006, Vol. 157, pp. 1–22.

[21] Lécuyer C., Fourel F., Martineau F., Amiot R., Bernard A., Daux V., Escarguel G., Morrison J.: *High-Precision Determination of 18O/16O Ratios of Silver Phosphate by EA-Pyrolysis-IRMS Continuous Flow Technique.* „Journal of Mass Spectrometry" 2007, Vol. 42, pp. 36–41; Chedery C., Müldner G., Evans J., Eckardt H., Lewis M.: *Strontium and Stable Isotope Evidence For Diet and Mobility in Roman Gloucester, UK*. „Journal of Archaeological Science" 2001, Vol. 37, pp. 150–163.

[22] Coplen T.B.: *Reporting of Stable Hydrogen, Carbon, and Oxygen Isotopic Abundances.* „Pure and Applied Chemistry" 1994, Vol. 66, pp. 273–276.

Przeprowadzono także analizę mtDNA w celu określenia pokrewieństwa pomiędzy badanymi osobnikami[23]. Próbki materiału kostnego S-1.1 – „szkielet dolny" i S-2.1 – „szkielet górny" najpierw poddano dokładnemu oczyszczeniu (dekontaminacji) – myto pod bieżącą wodą, przez 30 sekund w podchlorynie sodu, 30 minut w 70-procentowym etanolu. Dodatkowo próbkę potraktowano promieniowaniem UV. Tak przygotowany materiał po wysuszeniu poddano kruszeniu w ciekłym azocie z zastosowaniem aparatu Freezer/Mill 6750. Uzyskany proszek kostny (S-1.1, S-2.1) poddano standardowej izolacji DNA metodą organiczną z ekstrakcją mieszaniną fenolu, chloroformu, alkoholu izoamylowego oraz dodatkowym zagęszczaniem i oczyszczaniem na kolumienkach typu Amicon Ultra 4-30k i Microcon 100. Wyizolowany materiał genetyczny poddano pomiarowi stężenia ludzkiego DNA z zastosowaniem zestawu Quantifiler Human Quantification Kit i aparatu 7500 RealTime PCR System firmy Applied Biosystems.

Wyniki i dyskusja

Analiza anatomo-antropologiczna

„Szkielet dolny"

Szkielet jest kompletny i reprezentowany przez wszystkie kości (ryc. 1.). Czaszka zachowana jest w dobrym stanie wraz z żuchwą. W swojej budowie morfologicznej wykazuje cechy typowo męskie. Na uwagę zasługuje silnie uwydatniona potylica, na której bardzo wyraźnie zaznaczona jest guzowatość potyliczna zewnętrzna z kresami karkowymi. Najsilniej wykształcona jest kresa karkowa górna, tworząca kanciasty brzeg w poprzek potylicy, pośrodku którego ku tylowi wystaje dość masywny wyrostek papuzi. Wyrostki sutkowate stanowiące część kości skroniowej są masywne, duże i stosunkowo długie. Patrząc na czaszkę w projekcji przedniej (*norma frontalis*), na uwagę zasługują silnie uwydatnione łuki brwiowe oraz silnie uwypuklony rejon gładyszki (*glabella*), położony pomiędzy oczodołami tuż nad nosem. Szwy czaszkowe wykazują całkowitą obliteracje, również łuska kości skroniowej zrośnięta jest z kością ciemieniową, co przemawia za tym, że badany osobnik zmarł w wieku sędziwym, powyżej 70 roku życia.

Na lewej części łuski kości czołowej tuż nad kresą skroniową górną widoczne jest podłużne delikatne zagłębienie, powstałe prawdopodobnie na skutek wcisku naczynia krwionośnego, niemniej jednak nie można również wykluczyć lekkiego, niezagrażającego życiu urazu za życia, gdzie rana była płytka i uległa szybkiemu wygojeniu. Z kolei na górnej ścianie lewego oczodołu zaobserwowano niewielkie, pojedyncze perforacje w postaci lizy komórek tkanki kostnej. Podobne zmiany, tylko bardzej rozległe i bardziej wyraźne, widoczne są u podstawy prawego kłykcia potylicznego od strony kości skroniowej, kształtu owalnego, mające postać nadżerki kości.

W obrębie żuchwy wyraźnie ukształtowany jest wyrostek bródkowy po wewnętrzenj stronie, bródka uwydatniona, również dość silnie zaznaczona jest guzowatość żwaczowa na bocznej stronie trzonu żuchwy. Zachowały się tylko pojedyncze zęby, w przypadku szczęki po stronie prawej obecny jest kieł (C), pozostałe zaś zęby utracone zostały *ante mortem*, o czym świadczy daleko posunięta obliteracja wrostka zębodołowego. Po lewej stronie natomiast obecne są dwa zęby: drugi przedtrzonowy (P^2) oraz pierwszy trzonowy (M^1). Korony tych zębów są bardzo silnie starte, do tego stopnia, że odkryta jest miazga zęba oraz korzeń, dodatkowo w obrębie zęba przedtrzonowego drugiego występują zmiany próchnicze obejmujące miazgę od strony mezjalno-lingwialnej. Bardziej zaawansowane zmiany próchnicze widoczne są także na zachowanym pierwszym zębie trzonowym. Próchnica zlokalizowana jest od strony policzkowej, z kolei od strony utraconego *ante mortem* drugiego zęba trzonowego wytworzyła się przetoka okołokorzeniowa na skutek gromadzenia się w tym miejscu ropy w efekcie rozległego stanu zapalnego. Pozostałe zęby utracone były za życia, zębodoły wykazują mniejszy bądź większy stopień obliteracji. Z kolei w żuchwie po stronie prawej obecny jest siekacz boczny (I_2), kieł (C) oraz pierwszy ząb przedtrzonowy (P_1). Na wysokości zachowanych zębów od przodu na wyrostku zębodołowym widoczne jest delikatne uwypuklenie. Pozostałe zęby były utracone przyżyciowo. Po lewej stronie żuchwy brak jest natomast zębów, oba siekacze oraz kieł zostały utracone *post mortem*, pozostałe zaś zęby jeszcze za życia. Na kłach prawej i lewej strony żuchwy oraz pierwszym zębie przedtrzonowym prawej strony żuchwy zaobserwowano dość głębokie linie hypoplastyczne przebiegające w poprzek szkliwa zęba. Są one reakcją szkliwa na czynniki stresogenne natury żywieniowej (niedobory) lub chorobowej (przewlekłe choroby wieku dziecięcego), na jakie organizm był narażony we wczesnych latach rozwoju, kiedy mineralizacji ulegały zęby stałe.

Patrząc na uzębienie badanego osobnika oraz obliteracje szwów, można wywnioskować, że dożył on bardzo sędziwego wieku. 70 lat jest dolną granicą jego śmierci, niewykluczone bowiem, że mógł również dożyć wieku 80 lat. O podeszłym wieku osobnika może także świadczyć obecność skostniałej chrząstki tarczowatej, pierścieniowatej i fragmentów nalewkowatej (wszystkie trzy są chrząstakmi wchodzącymi w skład krtani i kostnieniu ulegają w wieku starczym).

Szkielet pozaczaszkowy jest masywnej budowy, z wyraźnymi przyczepami mięśniowymi wykształconymi bardziej na kończynie górnej niż dolnej, co związane mogło być z większym obciążeniem górnych partii ciała. Na kościach ramieniowych bardzo silnie rozwinięte są przyczepy mięśniowe na guzku mniejszym dla mięśnia podłopatkowego, na grzebieniu guzka mniejszego i większego dla mięśnia ramiennego oraz na guzowatości naramiennej dla mięśnia naramiennego. Nasada dalsza obu kości ramiennych jest szeroka, z zaznaczonym wyraźnie przyczepami mięśniowy-

[23] Bogdanowicz W., Allen M., Branicki W., Lembring M., Gajewska M., Kupiec T.: Genetic Identification of Putatitive Remains of the Famous Astronomer Nicolaus Copernicus. In: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2009, Vol. 106, pp. 12279–12282.

mi w rejonach kłykci, w tym obszarze kości swoje przyczepy mają mięśnie prostowniki i odwracacze zarówno nadgarstka, jak i palców. Kość promieniowa prawa jest bardziej masywna od lewej, główka charakteryzuje się większym obwodem, a na guzowatości promieniowej występują nieliczne osteofity, brzeg międzykostny jest ostry i dość rozbudowany – miejsce przyczepu dla mięśnia nawrotnego obłego, przy nasadzie dalszej na wyrostku rylcowatym od strony grzbietowej zaznaczony grzebień kostny, miejsce przyczepu dla mięśni prostowników i odwracaczy kciuka. Podobnie w przypadku kości łokciowych również prawa wykazuje bardziej masywną budowę. Poszerzone są brzegi wcięcia bloczkowego w postaci kostnego obrąbka, silnie wykształcona guzowatość łokciowa – miejsce przyczepu dla mięśnia ramiennego, jak również dobrze rozwinięte są przyczepy mięśni zginaczy palców i nadgarstka. Na kończynie dolnej natomiast wyraźnie wykształcona jest guzowatość pośladkowa, stanowiąca miejsce przczepu dla mięśnia pośladkowego wielkiego oraz kresa chropawa do której przyczepiają się mięśnie przywodziciele oraz czterogłowy uda.

Na szkielecie stwierdzono zmiany chorobowe oraz zwyrodnieniowo-degeneracyjne związane również z podeszłym wiekiem. Na drugim kręgu szyjnym (*axis*) widoczne jest skostniałe więzadło poprzeczne kręgu szczytowego. Z kolei na kręgach odcinka piersiowego obserwowano osteofity, kostne wyrośla pojawiające się na brzegach trzonów, na jednym kręgu natomiast widoczny jest ślad po złamaniu w obrębie wyrostka kolczystego (charakterystycznie wygięty ku dołowi). Na kręgach piersiowch zaobserwowano także stawy rzekome na powierzchni grzbietowej wyrostka kolczystego, typowe dla kręgów odcinka lędźwiowego a wiązane z chorobą Baastrupa[24]. Schorzenie to ma charakter zwyrodnieniowy i spowodowane jest nadmierną ruchomością kręgosłupa lub zbyt długimi wyrostkami kolczystymi kręgów. W obu sytuacjach ocieranie się wyrostków kolczystych o siebie powoduje dolegliwości bólowe.

Na prawej łopatce przy kącie górnym od strony przyśrodkowej wystąpiła owalna perforacja w postaci nadżerki komórek kostnych, przenikająca do trójkąta łopatki. Zmiana ta ma postać zbliżoną do wcześniej opisanych. Podobne zmiany widoczne są w obrębie wyrostka mieczykowatego mostka. Prawdopodobnie zmienione w ten sposób wybrane rejony kości są miejsacami po przerzutach nowotworowych, niewykluczone, że osobnik ten cierpiał na nowotwór części miękkich i w stadium zaawansowanym nastąpiły przerzuty na kości. Nie można wykluczyć, że mogła to być bezpośrednia przyczyna zgonu mężczyzny.

„Szkielet górny"

Czaszka zachowana jest w dobrym stanie, również w swojej morfologii wykazuje cechy męskie. Szew wieńcowy i strzałkowy są zobliterowane za wyjątkiem końcowych odcinków, szew węgłowy zarośnięty częściowo, łuskowy na granicy łuski kości skroniowej i ciemieniowej wolny. W szczęce po stronie prawej obecne są wszystkie zęby z wyjątkiem trzeciego trzonowca (M^3), który zaginął *post mortem*. Po lewej stronie natomiast w szczęce znajduje się komplet uzębienia. Pomiędzy siekaczami przyśrodkowymi widoczna jest diastema (przerwa pomiędzy mezjalnymi



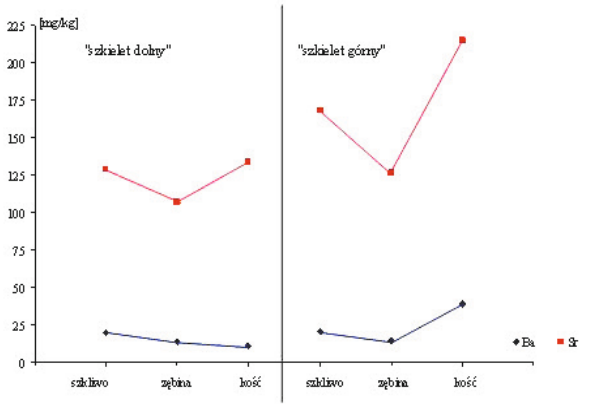
Ryc. 1. „Szkielet dolny" in situ; fot. J. Firlet

brzegami zębów). Na zębach widoczne są złogi kamienia nazębnego powodujące znaczne obniżenie wyrostka zębodołowego. W przypadku pierwszego zęba przedtrzonowego (P^1) lewej strony zauważono anamalię rozwojową przejawiającą się nieprawidłowym rozwojem korony, która skierowana jest ku stronie lingwialnej przez nieprawidłową erupcję korzenia w stronę bukalną. Żuchwa również wykazuje cechy męskie z silnie wykształconą guzowatością skrzydłowatą od strony wewnętrznej trzonu. W żuchwie obecne są wszystkie zęby z wyjątkiem siekaczy bocznych i przyśrodkowych, utraconych *post mortem.* Stopień starcia powierzchni żujących koron zębowych oraz obliteracja szwów wskazują na wiek między 60 a 65 lat.

Szkielet pozaczaszkowy w porównaniu do „szkieletu dolnego" jest mniej masywny. Przyczepy mięśniowe w większym stopniu wykształcone są tylko w obrębie kończyny górnej, na kości ramiennej, w obrębie guzka większego i mniejszego oraz na guzowatości naramiennej. Na szkielecie widoczne są pojedyncze zmiany o charakterze zwyrodnieniowo-degeneracyjnym (osteofity na trzonach kręgów oraz guzki Schmörla, będące efektem obciążenia części lędźwiowej kręgosłupa) oraz urazy. Wśród urazów rozróżniono na trzonie prawej kości łokciowej w części przynasadowej dalszej niewielkie zgrubienie i uwypuklenie jako ślad po silnym stłuczeniu kości. Z kolei prawe żebro drugiej pary nosi ślad po zagojonym złamaniu. Interesujący jest ślad po urazie widoczny na prawej kości miedniczej, w obrębie talerza kości biodrowej, po stronie miedniczo-krzyżowej, tuż pod grzebieniem biodrowym. W tym miejscu zlokalizowany jest niewielki, owalny otwór raczej regularnego kształtu. Powstał on prawdopodobnie po ciosie zadanym piką lub pocisku, który mógł przejść przez części miękkie i osiąść w kości. Niewykluczone, że mogła to być przyczyna zgonu.

Dla obu szkieletów wykonano pomiary kraniometryczne oraz osteometryczne kości długich kończyn, a uzyskane wyniki zestawiono poniżej, w tabelach 1–3.

[24] Ortner D.: *Identification of Pathological Conditions*…, pp. 463–467.



Ryc. 2. Zmiany stężenia strontu, baru, wapnia i fosforu w zębach oraz kościach badanych osobników

Tab. 1. Pomiary kraniometryczne czaszek (mm) – „szkielet górny" i „szkielet dolny"

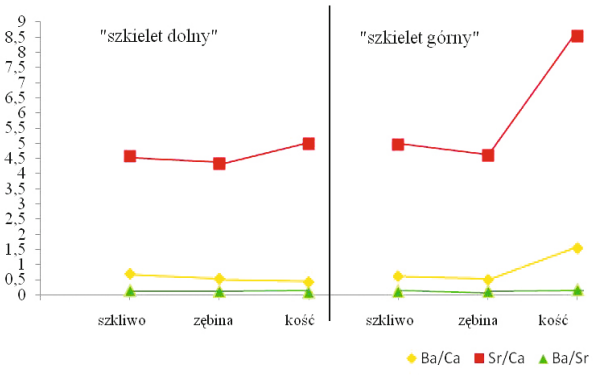
pomiar	oznaczenie	„szkielet górny	„szkielet dolny
długość największa czaszki	[*g-op*]	178,0	183,0
szerokość największa czaszki	[*eu-eu*]	139,0	147,0
wysokość największa czaszki	[*ba-b*]	125,0	141,0
najmniejsza szerokość czoła	[*ft-ft*]	92,0	95,0
największa szerokość twarzy	[*zy-zy*]	129,0	133,0
wysokość twarzy górna	[*n-pr*]	64,0	66,0
wysokość nosa	[*n-ns*]	45,0	44,0
szerokość nosa	[*al-al*]	21,0	25,0
szerokość oczodołów	[*mf-ek*]	38,0	39,0
wysokość oczodołów	[*spa-sbk*]	39,5	39,5

Na podstawie wykonanych pomiarów kraniometrycznych obliczono siedem podstawowych wskaźników czaszki. Wartości wskaźników zestawiono w tabeli 2.

Tab. 2. Wartości wskaźników czaszki – „szkielet górny" i „szkielt dolny"

rodzaj wskaźnika	„szkielet górny	„szkielet dolny
szerokościowo-długościowy	78,09	80,33
wysokościowo-szerokościowy	89,93	95,92
wysokościowo-długościowy	70,22	77,05
czołowo-szerokościowy	66,19	64,62
twarzy górnej	49,61	49,62
nosa	46,67	56,81
oczodołów	**103,94**	**101,28**

[25] Pike A.W.G., Richards M.P.: *Diagenetic Arsenic Uptake in Archeological Bone. Can We Really Identify Copper Smelters?*. „Journal of Archaeological Science" 2002, Vol. 29, pp. 607–611.



Ryc. 3. Zmiany wartości wskaźników Sr/Ca, Ba/Ca, Ba/Sr w kościach i zębach badanych osobników

Pod względem morfologicznym czaszki różnią się między sobą. Wartości wskaźników uzyskane dla czaszek osobników zakwalifkowały ich do odrębnych grup. Osobnik, którego opisano jako „szkielet dolny", charakteryzuje się czaszką średniej długości i wysokości, o średniej szerokości czole oraz średnioszerokiej twarzy, wąskim nosie i wysokich oczodołach. Natomiast mężczyzna, którego szkielet opisano jako „górny", odznacza się krótką i wysoką czaszką o wąskim czole oraz nosie. Twarz w ujęciu wskaźnika twarzy górnej jest szeroka. Oczodoły, podobnie jak w przypadku osobnika pierwszego, były wysokie.

Zmierzono również długość największą każdej z zachowanych kości długich kończyny górnej i dolnej, a wyniki zestawiono w tabeli 3.

Tab. 3. Pomiary długości największej kości długich kończyn (wartości średnie z prawej i lewej strony ciała, mm)

kość	„szkielet górny	„szkielet dolny
ramienna	338,5	**361,5**
promieniowa	237,0	**261,5**
łokciowa	256,0	**272,5**
udowa	462,0	**491,0**
piszczelowa	**374,0**	**387,0**

Wysokość ciała, jaką uzyskano dla badanych mężczyzn na podstawie pomiarów, wynosi odpowiednio: „szkielet górny" – 170,4 cm, „szkielet dolny" – 179,5 cm. Na podstawie oszacowanej wysokości ciała można przypuszczać, że mężczyźni pochowani w zakrystii kościoła św. Andrzeja wywodzili się z dobrze sytuowanych rodzin, a we wczesnych latach młodości nie cierpieli na żadne niedobory żywieniowe, które w jakiś sposób mogłyby przyczynić się do zahamowania wzrostu, a tym samym do znacznie niższych wartości wysokości ciała.

Badania biochemiczne

Problemy interpretacyjne wyników badań pierwiastków śladowych wynikają z faktu, że materiał osteologiczny zdeponowany po śmierci w środowisku glebowym podlegać może wymianie jonowej z otoczeniem[25]. Stąd też bardzo ważnym aspektem przed przystąpieniem do badań biochemicznych w kontekście rekonstrukcji diety jest sprawdzenie stopnia zaawansowania zmian diagenetyczych. Uzyskane wartości wskaźnika Ca/P dla badanych próbek utrzymane są w normie

(dla kości: 2,12–2,18, dla zębów: 1,82 do 2,06)[26], co świadczy o tym, że oba szkielety nie podlegały działaniu czynników diagenetycznych, a koncentracje w analizowanych próbkach odpowiadają wartościom *ante mortem*, jakie zostały zakumulowane w kościach i zębach wraz z pobieranym pokarmem (tab. 4).

Tab. 4. Wartości wskaźnika Ca/P u badanych osobników

osobnik	**„szkielet górny**			**„szkielet dolny**		
wartości Ca/P	Szkliwo	zębina	kość	szkliwo	zębina	**kość**
	1,79	2,08	2,2	2,1	2,1	**2,27**
zakres normy	**zęby: 1,82–2,10 kość: 2,12–2,28**					

W tabelach 5 i 6 zamieszczono uzyskane w wyniku przeprowadzonych analiz stężenia poszczególnych pierwiastków (strontu, wapnia, baru i fosforu) oraz wartości wskaźników międzypierwiastkowych (Sr/Ca, Ba/Ca i Ba/Sr) dla poszczególnych typów próbek pochodzących ze „szkieletu dolnego" i „górnego" oraz dla kości zwierząt i gleby.

Tab. 5. Stężenia badanych pierwiastków w różnych próbkach u obu osobników

Rodzaj próbki	**Ca (%)**	**Ba (µg/g)**	**Sr (µg/g)**	**P (%)**
szkliwo „szkielet dolny"	28,3	19,5	128,9	15,8
zębina „szkielet dolny"	24,7	13,3	106,7	11,8
kość „szkielet dolny"	26,8	10,9	133,3	12,2
szkliwo „szkielet górny"	34,0	20,3	168,1	16,2
zębina „szkielet górny"	27,4	14,1	126,1	12,6
kość „szkielet górny"	25,2	38,8	215,2	11,1
kość zwierzęca	**25,8**	**189,6**	**373,7**	**11,8**
kość zwierzęca	**26,3**	**107,4**	**274,3**	**11,8**
gleba	**19,1**	**121,0**	**54,3**	3,0

Tab. 6. Wartości wskaźników w różnych próbkach u obu osobników

Rodzaj próbki	**Ba/Ca**	**Sr/Ca**	**Ba/Sr**
szkliwo „szkielet dolny"	0,69	4,56	0,15
zębina „szkielet dolny"	0,54	4,32	0,12
kość „szkielet dolny"	0,41	4,98	0,08
szkliwo „szkielet górny"	0,60	4,95	0,12
zębina „szkielet górny"	0,51	4,60	0,11
kość „szkielet górny"	1,54	8,54	0,18
kość zwierzęca	**7,35**	**14,49**	**0,51**
kość zwierzęca	**4,08**	**10,43**	**0,39**
gleba	**6,34**	**2,84**	**2,23**

Na rycinach 2 i 3 przedstawiono zmienność indywidualną w stężeniach pierwiastków oraz wartościach wskaźników międzypierwiastkowych w zależności od rodzaju badanej tkanki, co związane jest bezpośrednio z odmiennym etapem rozwoju osobniczego.

U obu osobników widoczna jest podobna tendencja w akumulacji badanych pierwiastków. Wapń, fosfor i bar utrzymane są na podobnym poziomie, niezależnie od analizowanej tkanki. W przypadku stężenia strontu wykazano jego wzrost w kościach obu osobników, co odpowiada okresowi życia dorosłego, kiedy dieta była w pełni ustabilizowana. Stosunkowo wysokie stężenia strontu w zakresie 106,7–215,2 (µg/g) świadczą o diecie bogatej w pokarmy roślinne (rośliny strączkowe, kasze, zboża i ich pochodne).

Analizując wartości wskaźników międzypierwiastkowych, można również wyciągnąć wnioski, że w diecie badanych osobników dominowały przede wszystkim pokarmy roślinne (wysokie wartości wskaźnika Sr/Ca), natomiast udział pokarmów pochodzenia morskiego mógł być niski (osobnicy mogli spożywać niewielkie ilości ryb zarówno tych morskich, jak i żyjących w wodach śródlądowych), o czym świadczą niskie stężenia baru i niewielkie wartości wskaźnika Ba/Sr.

W celu rekonstrukcji aktywności badanych osobników dorosłych w okresach rozwoju ontogenetycznego, wydzielonych na podstawie czasu mineralizacji szkliwa i zębiny zębów trzonowych stałych oraz tempa przebudowy pierwiastkowej kości, przeprowadzono analizę porównawczą wartości $\delta^{18}O$ pomiędzy tymi tkankami. Wyniki odniesiono również do zakresu zmienności wartości $\delta^{18}O$, oznaczonych w kościach kontrolnej próby zwierzęcej wynoszący 13,85–16,40‰, który traktowano jako środowiskowy profil izotopowy tlenu charakterystyczny dla terenu Krakowa w okresie nowożytnym.

„Szkielet dolny"

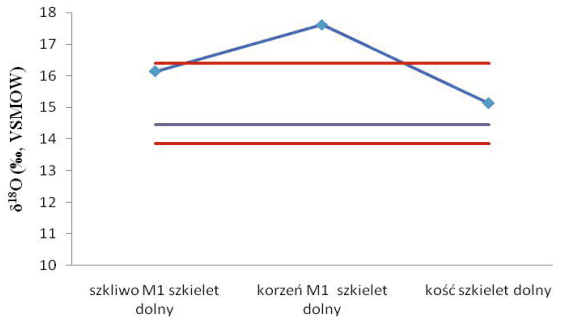
Wyniki analizy izotopowej tlenu próbek pobranych od osobnika 1 wskazują na podobny poziom $\delta^{18}O$ w szkliwie zęba M1 i kości udowej (ryc. 4). Dodatkowo próbki te charakteryzują się zbliżonym składem izotopowym tlenu do zakresu uzyskanego dla kości świni. Jedynie próbka zębiny zęba M1 przewyższa poziom zmienności środowiskowej proporcji izotopowych tlenu.

Opierając się na uzyskanych wynikach, można stwierdzić, że osobnik 1 w pierwszych trzech latach swego życia i ostatnich 10–20 latach życia przebywał na terenie Krakowa. Jednocześnie analizując wyniki $\delta^{18}O$ dla zębiny zęba M1, nie można wykluczyć, że w wieku 3–11 lat osobnik ten przebywał na terenie odrębnym pod względem składu izotopowego tlenu w porównaniu do obszaru Krakowa.

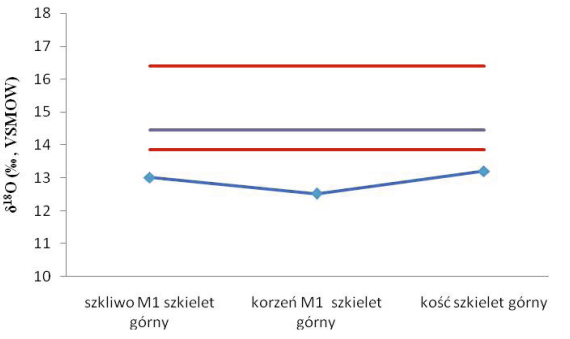
„Szkielet górny"

W trzech próbkach pobranych od osobnika 2 proporcje izotopowe tlenu są do siebie zbliżone (ryc. 5). Wynik ten wskazuje na korzystanie z tych samych zasobów środowiska na wszystkich obserwowanych w pracy etapach rozwoju osobniczego. Jednak wartości $\delta^{18}O$ oznaczone dla próbek są niższe w stosunku do środowiskowego zakresu izotopowego tlenu, co sugeruje, że osobnik ten zarówno w okresie dzieciństwa, jak

[26] Gawlik D., Behne D., Bratter P., Gatschke W., Gessner H., Kraft D.: *The Suitability of the Iliac Crest Biopsy in the Element Analysis of Bone and Marrow*. „Journal of Clinical Chemistry and Clinical Biochemistry" 1982, Vol. 20, pp. 499–507; Fabig A.: Herrmann B.: *Trace Elements in Buried Human Bones*…, pp. 115–119; Sanchez-Quevedo M.C., Ceballos-Salobrena G., Rodriguez I.A., Garcia J.M., Campos A.: *Quantitative X-Ray Microanalitical and Histochemical Patterns of Calcium and Phosphorus in Enamel in Human Amelogenesis Imperfecta*. „International Journal of Developmental Biology" 2001, Vol. 45, pp. 115–117.



Ryc. 4. Zmienność poziomu $\delta^{18}O$ w tkankach pobranych ze osobnik 1 „szkieletu dolnego" (czerwone linie oznaczają zmienność poziomu izotopowego w kościach świni – materiał z Rynku Głównego; na fioletowo poziom oznaczony w kości zwierzęcej z okolic badanych pochówków)



Ryc. 5. Zmienność poziomu $\delta^{18}O$ w tkankach pobranych od osobnika 2 „szkielet górny" (czerwone linie oznaczają zmienność poziomu izotopowego w kościach świni – materiał z Rynku Głównego; na fioletowo poziom oznaczony w kości zwierzęcej z okolic badanych pochówków)

i w trakcie 10–20 lat poprzedzających jego śmierć przebywał na terenie charakteryzującym się innym składem izotopowym tlenu niż obszar ówczesnego Krakowa. Można przypuszczać, że osobnik ten przybył do Krakowa na krótko przed śmiercią.

Dość znaczącym ograniczeniem analizy izotopowej tlenu jest brak możliwości ustalenia, gdzie przebywał osobnik, którego tkanki wykazują „nielokalne" wartości $\delta^{18}O$. Nie można zdiagnozować, czy imigranci pochodzili z grodów lub wiosek znajdujących się na pobliskim terenie, czy też byli oni przybyszami z bardziej odległych krain geograficznych. Dane hydrologiczne wskazują, że tereny położone bliżej oceanu (klimat oceaniczny) odznaczają się wyższym stężeniem cięższych izotopów tlenu w wodzie środowiskowej niż obszary usytuowane w głębi lądu o klimacie kontynentalnym[27]. Dlatego też otrzymane w niniejszej pracy wyniki mogą wskazywać, że osobnik 2, u którego wykazano niższe wartości $\delta^{18}O$ w stosunku do lokalnego poziomu izotopowego tlenu, może pochodzić z obszaru o niższej temperaturze lub położonego na wyższych bezwzględnych wysokościach. Natomiast osobnik 1 w dzieciństwie (3–11 lat) mógł przebywać na terenie o cieplejszym klimacie.

Badania molekularne

Badanie autosomalnych sekwencji mikrosatelitarnych (STR) jest użyteczne przy analizie identyfikacyjnej oraz analizie bliskiego pokrewieństwa (rodzic, dziecko, rodzeństwo)[28]. DNA poddano amplifikacji (PCR) przy wykorzystaniu zestawów NGM firmy Applied Biosystems umożliwiających analizę 15 autosomalnych systemów polimorficznych typu STR oraz markera płci (amelogeniny) PowerPlex ESX firmy Promega umożliwiającego analizę 16 autosomalnych systemów polimorficznych typu STR i markera płci (amelogeniny), a następnie rozdziałowi elektroforetycznemu z zastosowaniem analizatora DNA typu ABI Prism 3130 xl firmy Applied Biosystems[29]. Wyniki uzyskane dla obu zastawów zebrano w tabeli 7.

Tab. 7. Wyniki badania polimorficznych cech DNA wchodzących w skład zestawu NGM

Układ polimorficzny	S-1.1	S-2.1
D10	14,16	**13**
vWA	17	**15,17**
D16S539	–	**12,13**
D2S1338	–	**16,25**
AMEL	X,Y	**X,Y**
D8S1179	10,14	**15,16**
D21S11	–	**29**
D18S51	–	**13,16**
D22	15,16	**15**
D19S433	11,13	**13**
TH01	9,9.3	**7,9.3**
FGA	23	**20,21**
D2S441	10,14	**10,11**
D3S1358	14,15	**17,19**
D1S1656	12	**11,17.3**
D12S391	19,20	**17,21**
SE33	–	**24.2,26.2**

Badanie dziedziczonych w linii ojcowskiej sekwencji mikrosatelitarnych (STR) położonych na chromosomie Y jest szczególnie użyteczne w sprawach analizy pokrewieństwa[30]. Wyizolowany DNA poddano amplifikacji (PCR) przy wykorzystaniu zestawu Yfiler firmy Applied Biosystems, umożliwiającego analizę 16 loci typu STR na chromosomie Y. Rozdział elektroforetyczny prowadzono z zastosowaniem analizatora DNA typu ABI Prism 3130 xl firmy Applied Biosystems. Wyniki przedstawiono w tabeli 8.

Badanie dziedziczonego w linii matczynej mitochondrialnego DNA jest szczególnie użyteczne w sprawach analizy pokrewieństwa[31]. Wyizolowany DNA poddano amplifikacji

[27] Benson S., Lennard C., Maynard P., Roux C.: *Forensic Applications*, *passim*.

[28] Wilson M.R., DiZinno J.A., Polanskey D., Replogle J., Budowle B.: *Validation of Mitochondrial DNA Sequencing for Forensic Casework Analysis*. „International Journal of Medicine and Medical Sciences" 1995, Vol. 108, pp. 68–74.

[29] Sullivian K.M., Mannucci A., Kimpton C.P., Gill P.: *A Rapid and Quantitative DNA Sex Test: Fluorescence-based PCR Analysis of X–Y Homologous Gene Amelogenin*. „Biotechniques" 1993, Vol. 15, pp. 636–638, 640, 641.

[30] Willuweit S., Roewer L.: *Y Chromosome Haplotype Reference Database (YHRD): Udate*. „Forensic Science International: Genetics" 2007, Vol. 1, pp. 83–87.

[31] Parson W., Dur A.: *EMPOP – a Forensic mtDNA Database*. „Forensic Science International: Genetics" 2007, Vol. 1, pp. 88–92.

Tab. 8. Wyniki badania polimorficznych cech DNA chromosomu Y wchodzących w skład zestawu Yfiler

Układ polimorficzny	S-1.1	S-2.1
DYS456	16	**14**
DYS389I	13	**12**
DYS390	–	**23**
DYS389II	–	**29**
DYS458	17	**16**
DYS19	–	**14**
DYS385	10,14	**13,14**
DYS393	13	**13**
DYS391	10	**10**
DYS439	–	**11**
DYS635	23	**22**
DYS392	11	**11**
Y GATA H4	13	**11**
DYS437	14	**16**
DYS438	–	**10**
DYS448	**–**	**20**

ze starterami specyficznymi dla polimorficznych odcinków regionów HVI i HVII DNA mitochondrialnego. Produkty amplifikacji poddano reakcji cyklicznego sekwencjonowania z wykorzystaniem zestawu Big Dye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit firmy Applied Biosystems. Produkty reakcji sekwencjonowania rozdzielono, stosując automatyczny analizator DNA typu ABI 3100. Otrzymane profile mtDNA porównano do referencyjnej sekwencji z Cambridge (Andersona), odnotowując zaobserwowane różnice. Wyniki przedstawiono w tabeli 9.

Analiza locus amelogeniny wykazała, że obie próbki pochodzą od mężczyzn. Niekompletność profili DNA oznaczonych w próbce oznaczonych w próbce S-1.1 („Tęczyński 1 – dolny") wynika z niskiego stężenia i znaczącej degradacji DNA. Uzyskane wyniki badań genetycznych pozwalają na wykluczenie pokrewieństwa pomiędzy mężczyznami zarówno w linii matki, jak i w linii ojca. Przeszukanie bazy danych yhrd wykazało, że

Tab. 9. Wyniki analizy regionów HVI i HVII mitochondrialnego DNA

Próbka	Odnotowane różnice względem sekwencji referencyjnej Andersona	Zakres analizy
S-1.1	16051G, 16129C, 16182C, 16183C, 16189C, 16311C, 16362C, 73G, 146C, 152C, 200G, 217C, 263G, 309.1C, 309.2C, 315.1C, 340T	**16024–16365 73–340**
S-2.1	**16223T, 16292T, 73G, 189G, 194T, 195C, 204C, 207A, 263G, 315.1C**	**16024–16365 73–340**

Sekwencja Andersona – sekwencja odniesienia, A, G, C, T – zmienne pozycje nukleotydowe

profil DNA oznaczony w zakresie markerów chromosomu Y w próbce S-1.1 stwierdzono dwa razy podczas badań populacyjnych na świecie i pojawił się on we współczesnej populacji polskiej (w regionie Krakowa oraz w regionie Wrocławia). Przeszukanie bazy danych yhrd wykazało, że profil DNA oznaczony w zakresie markerów chromosomu Y w próbce S-2.1 stwierdzono raz podczas badań populacyjnych na świecie i pojawił się on we współczesnej populacji niemieckiej (w regionie Stuttgartu). Profil mtDNA oznaczony w próbce S-1.1 nie pojawił się w bazie danych empop gromadzącej haplotypy oznaczone we współczesnych populacjach na świecie. Profil podobny (jedna pozycja różnicy) odnotowano raz w populacjach europejskich (Szwecja). Przeszukanie bazy danych empop wykazało, że profil mtDNA oznaczony w próbce S-2.1 ujawnił się 10 razy podczas badań populacyjnych na świecie i haplotyp ten pojawił się siedem razy w populacjach europejskich, dwa razy w populacjach azjatyckich i raz w populacji amerykańskiej.

W podsumowaniu można stwierdzić, że wielopłaszczyznowe badania z wykorzystaniem standardowych metod antropologicznych oraz analizy stabilnych izotopów i historycznego DNA pozwoliły na głębsze poznanie warunków życia zmarłych w określonym kontekście historycznym.

Human Remains Explored in the Sacristy of St Andrew's Church in Kraków in Light of Anatomical, Anthropological, Biochemical and Molecular Analyses

The subject of a complex anatomical and anthropological study were the two burials discovered in the sacristy of St Andrew's Church (kościół św. Andrzeja) in Kraków. The explored skeletons underwent a detailed analysis in order to determine the sex of the dead individuals and their age at the time of death. The tests that were performed also enabled the assessment of pathological changes that could have been the direct or indirect causes of death. The study also involved biochemical tests concerning such aspects as diet and migration patterns, as well as molecular tests based on historical DNA analysis in the context of possible blood relationship. The results of the multifaceted study that included standard anthropological methods, techniques based on stable isotope probing and ancient DNA analysis provided important information about the living conditions in which the two men buried in St Andrew's Church existed. Body height and concentration of trace elements in their bones and teeth indicated that the two men came from wealthy families. Both of them lived to a ripe old age, and all the pathological changes that were observed in the skeletons were the effects of the natural degenerative process progressing with age. Stable oxygen isotope analysis helped to determine the origin and mobility of the two individuals, and ancient DNA analysis revealed that the two men were not related by blood. The results of the analyses which involved advanced scientific techniques enabled researchers to create a hypothetical picture of the life of the two individuals in a specific historical context.