

การแยกกระดูกมนุษย์และสัตว์เพื่อประโยชน์ทางนิติวิทยากระดูก

ธนิตา พัทธกษรณพ,^{1,2} พงษ์พิชญ ภัคตินรงค์¹ และ กรกฎ งานวงศ์พานิชย์¹

¹นิติวิทยาศาสตร์และงานยุติธรรม คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร พระราชวังสนามจันทร์ นครปฐม,

²ภาควิชาชีวศาสตร์ทางสัตวแพทย์และสัตวแพทย์สาธารณสุข คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

บทความทางวิชาการนี้กล่าวถึงบทบาทของนิติวิทยากระดูก ซึ่งเป็นสาขาหนึ่งที่มีความสำคัญกับงานนิติวิทยาศาสตร์ โดยหน้าที่ของงานนิติวิทยากระดูกเพื่อใช้พิสูจน์กระดูกที่ถูกพบจากสถานที่เกิดเหตุ โดยส่วนใหญ่มักพบกับคำถามที่ตามมาว่าเป็นกระดูกของมนุษย์หรือสัตว์ ในกรณีที่เป็นกระดูกมนุษย์นั้น มีความเป็นไปได้ที่จะเป็นเพศใด มีอายุเท่าไร และสาเหตุการตายเกิดจากอะไร วิธีเบื้องต้นในการแยกกระดูกมนุษย์และสัตว์ในบทความนี้ ประกอบด้วย ลักษณะทางมหกายวิภาค ลักษณะทางจุลกายวิภาค และการใช้ปริมาณแร่ธาตุที่สะสมในกระดูก ซึ่งภายในเนื้อหาของบทความนี้ จะทำให้ทราบถึงที่มาของการศึกษา วิธีการนำไปใช้ รวมถึงข้อจำกัดของแต่ละวิธี เพื่อให้เป็นประโยชน์แก่ผู้สนใจศึกษา และสามารถนำเอาวิธีการเหล่านี้ไปต่อยอดงานศึกษาวิจัยในอนาคตได้ **เชียงใหม่เวชสาร 2563;59(4):241-52.**

คำสำคัญ: กระดูก ความแตกต่าง มนุษย์ สัตว์

บทนำ

Imaizumi และคณะ (2002) นำเสนอกรณีศึกษาที่เกิเกิดขึ้นเมื่อ พฤษภาคม ค.ศ. 1987 (1) โดยคดีดังกล่าว เป็นคดีแจ้งความคนหาย และพบผู้ต้องสงสัยในเวลาไม่นาน ผู้ต้องสงสัยรับสารภาพว่าได้ฆาตกรรมเหยื่อคนดังกล่าว หลังจากทำการฆาตกรรมแล้ว นำศพไปฝังที่สวน ผ่านไปหนึ่งปีครึ่งจึงขุดศพขึ้นมาเพื่อนำไปเผา จากนั้นนำชิ้นส่วนที่เหลือไปทิ้ง เจ้าหน้าที่ได้ค้นสถานที่ดังกล่าว และพบชิ้นส่วนของกระดูกจำนวนทั้งสิ้น 54 ชิ้น จากการตรวจสอบโดยนักมานุษยวิทยา สามารถจัดจำแนกได้ว่าเป็นชิ้นส่วนกระดูกมนุษย์ 39 ชิ้น ซึ่งประกอบไปด้วย ชิ้นส่วนที่มาจากกระดูกข้อมือ (carpal bone)

กระดูกฝ่ามือ (metacarpal bone) และกระดูกนิ้ว (phalangeal bone) พบกระดูกสองชิ้นที่ถูกระบุว่าเป็นกระดูกสะบัก (scapula) ของสุกร โดยการจัดจำแนกนี้ทำโดยอาศัยวิธีการเปรียบเทียบทางสัณฐานวิทยา (morphological study) ชิ้นส่วนกระดูกที่พบ กับตัวอย่างชิ้นส่วนกระดูกที่ได้จากสัตว์ชนิดอื่น และมีการศึกษาเปรียบเทียบลักษณะทางจุลกายวิภาค (histology) ของกระดูกเนื้อแน่น (compact bone) ซึ่งเปรียบเทียบโดยดูจากลักษณะของท่อฮาเวอร์เซียน (haversian canal) ลามेलลา (lamellae) และโครงสร้างออสติออยด์ (osteon) โดยชิ้นตัวอย่างจากกระดูกแขนท่อนล่างด้านนอก

ติดต่อเกี่ยวกับบทความ: กรกฎ งานวงศ์พานิชย์, B.Sc., D.V.M., PhD., ภาควิชาชีวศาสตร์ทางสัตวแพทย์และสัตวแพทย์สาธารณสุข คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เชียงใหม่ 50100, ประเทศไทย อีเมล: korakot.n@cmu.ac.th

วันรับเรื่อง 29 พฤษภาคม 2563, **วันส่งแก้ไข** 8 มิถุนายน 2563, **วันยอมรับการตีพิมพ์** 15 มิถุนายน 2563



(radius) ของมนุษย์ เปรียบเทียบกับกระดูกสะบักสุกร พบว่ามีลักษณะโครงสร้างทางจุลกายวิภาคแตกต่างกัน ในการตรวจสอบขั้นสุดท้ายใช้ความรู้ด้านพันธุศาสตร์ (molecular genetics) ยืนยันว่าชิ้นส่วนกระดูกมนุษย์ที่พบตรงกับผู้เสียชีวิตหรือไม่นั้น โดยสกัดสารพันธุกรรมนำชิ้นส่วนกระดูกที่พบไปเปรียบเทียบกับตัวอย่างสารพันธุกรรมที่สกัดเซลล์ของน้องสาวของผู้เสียชีวิต ผลพบว่าตรงกัน จึงสามารถยืนยันได้ว่าชิ้นส่วนกระดูกที่พบนั้น เป็นของผู้เสียชีวิตที่ถูกแจ้งว่าสูญหาย นอกจากนี้ยังมีคดีที่เบื้องต้นมีการพบเพียงชิ้นส่วนกระดูกจากสถานที่เกิดเหตุ โดย Owsley และคณะ (1985) ได้เขียนบรรยายไว้ว่า คดีดังกล่าวเป็นคดีที่เป็นความรับผิดชอบของฝ่ายนิติมานุษยวิทยา (forensic anthropology) เป็นคดีที่เกิดขึ้นที่รัฐหลุยส์เซียน่า (Louisiana) มีการพบชิ้นส่วนกระดูกขนาดเล็กจำนวน 6 ชิ้น เบื้องต้นมีการตั้งข้อสงสัยว่าชิ้นส่วนกระดูกที่พบอาจมีความเป็นไปได้ว่าจะเป็นชิ้นส่วนกระดูกแขนท่อนบน (humerus) ของมนุษย์เพศหญิง ที่ถูกฆาตกรรมด้วยอาวุธปืนจำนวนสองนัด และศพถูกทิ้งไว้บริเวณแม่น้ำมิสซิสซิปปี (Mississippi river) ที่ได้มีการพบศพก่อนหน้านี้ไม่นาน เจ้าหน้าที่ผู้รักษากฎหมายเป็นผู้พบชิ้นส่วนกระดูกเหล่านี้อยู่ภายในรถจี๊ปกระบะที่อยู่ภายในปั้มน้ำมันหลังจากที่รถถูกนำไปทำความสะอาด เจ้าหน้าที่ตำรวจที่ตกเป็นผู้ต้องสงสัยอ้างว่าชิ้นส่วนกระดูกที่พบนั้นเป็นชิ้นส่วนกระดูกของกวางที่ถูกตบฆ่าเมื่อไม่นานมานี้ ชิ้นส่วนกระดูกดังกล่าวถูกนำไปตรวจสอบเพื่อทำการยืนยันว่าเป็นชิ้นส่วนกระดูกของมนุษย์หรือไม่ โดยทำการตรวจพิสูจน์ด้วยวิธีมหากายวิภาค (gross morphology) และจุลกายวิภาคของกระดูกแน่น (cortical histology) พบความเป็นไปได้จากการตรวจพิสูจน์ด้วยกล้องจุลทรรศน์ โดยผลการวิเคราะห์เปรียบเทียบทางจุลกายวิภาคของกระดูกแน่น ระหว่างกระดูกที่ไม่ทราบแหล่งที่มาซึ่งเป็นกระดูกจากสถานที่เกิดเหตุ เปรียบ-

เทียบกับกระดูกกวาง กระดูกมนุษย์ รวมทั้งเปรียบเทียบกับกระดูกมนุษย์เพศหญิงจากร่างที่ถูกพบที่แม่น้ำมิสซิสซิปปี ผลการตรวจพิสูจน์พบว่า ไม่พบลักษณะการเรียงตัวที่เรียงสลับกันเหมือนการเรียงอิฐ (plexiform bone) ที่เป็นลักษณะเฉพาะ และสามารถพบได้ในกระดูกสัตว์บางชนิด รวมถึงจำพวกกวางด้วยเช่นกัน พบออสติออยด์ที่เป็นรูปแบบของออสติออยด์ทุติยภูมิ (secondary osteon) นอกจากนี้ยังพบลักษณะความหนาแน่น ขนาด รูปร่าง ของออสติออยด์ และท่อฮาเวอร์เซียนที่ตรวจสอบจากชิ้นส่วนกระดูกต้องสงสัยที่พบจากรถจี๊ปคันดังกล่าว มีลักษณะทั้งหมดตรงกันกับลักษณะทางจุลกายวิภาคของกระดูกแน่นของมนุษย์

บทบาทความรู้ด้านนิติวิทยากระดูก (forensic osteology) มีส่วนสำคัญในการคลี่คลายคดีสำคัญจำนวนมาก โดยเฉพาะในกรณีที่วัตถุพยานสูญหายไปจนเหลือแต่กระดูก โดยมีความสำคัญในการระบุตัวตน เมื่อพบตัวอย่างกระดูกในที่เกิดเหตุจึงมีคำถามที่เกิดขึ้นเสมอว่า เป็นกระดูกมนุษย์หรือสัตว์ หากเป็นกระดูกของมนุษย์จะมีคำถามต่อ เพศอะไร เชื้อชาติอะไร อายุเท่าไร และสาเหตุการเสียชีวิตคืออะไร การตอบคำถามเหล่านี้ต้องอาศัยองค์ความรู้ด้านนิติวิทยากระดูก ความสมบูรณ์ของคำตอบขึ้นกับตัวอย่างกระดูกที่พบ หากมีความสมบูรณ์มากก็จะทำให้ได้คำตอบที่ครบถ้วน เทคนิคทางนิติวิทยากระดูกที่นำมาใช้ในการพิสูจน์มีเนื้อหาที่มาก เป็นการรวมองค์ความรู้ในหลายด้าน เช่น กายวิภาคศาสตร์ (anatomy) นิติวิทยาศาสตร์ (forensic science) อณูพันธุศาสตร์ และสถิติ (statistics) รวมถึงองค์ความรู้สมัยใหม่เช่น คอมพิวเตอร์กราฟิกมาใช้ในการทำหน้าจำลองจากกระดูก (facial recognition and reconstruction) ในบทความพื้นวิชานี้จะกล่าวถึงองค์ความรู้ในการแยกกระดูกมนุษย์และสัตว์ด้วย 3 วิธี คือ ลักษณะทางมหากายวิภาค ลักษณะทางจุล-

กายวิภาค และปริมาณแร่ธาตุในกระดูก สำหรับวิธีทางอนุพัณศาสตร์ นั้นขอแยกออกไปเนื่องจากมีความแตกต่างและมีรายละเอียดที่เฉพาะ

การแยกด้วยลักษณะทางมหกายวิภาค (gross morphology identification)

หากกระดูกที่พบมีความสมบูรณ์ กระดูกขนาดใหญ่ เช่น กะโหลก (skull) กระดูกสันหลัง (vertebrae) กระดูกสะบัก กระดูกเชิงกราน (pelvis) กระดูกแขนท่อนบน กระดูกแขนท่อนล่างด้านใน (ulna) กระดูกแขนท่อนล่างด้านนอก กระดูกขาท่อนบน (femur) กระดูกหน้าแข้งหรือกระดูกขาท่อนล่างด้านใน (tibia) กระดูกขาท่อนล่างด้านนอก (fibula) และกระดูกซี่โครง (rib) สามารถแยกจากสัตว์ได้ง่าย เนื่องจากลักษณะทางมหกายวิภาคของกระดูกมนุษย์มีความแตกต่างจากสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมชนิดอื่นค่อนข้างชัดเจน (รูปที่ 1) แต่ในกระดูกขนาดเล็ก เช่น กระดูกข้อมือ กระดูกฝ่ามือ กระดูกข้อเท้า (tarsal bone) กระดูกฝ่าเท้า (metatarsal bone) กระดูกนิ้ว และ ฟัน (teeth) จะมีความยากในการจำแนก ต้องอาศัยประสบการณ์ของผู้ตรวจ ข้อมูลการวิเคราะห์ทางสัณฐานวิทยา (morphometric analysis) ระหว่างกระดูกมนุษย์และสัตว์ ส่วนใหญ่แสดงให้เห็นว่ากระดูกมนุษย์มีความแตกต่างจากสัตว์ชนิดอื่นชัดเจน อาจเกี่ยวข้องกับความแตกต่างทางชีวกลศาสตร์ (biomechanics) ของมนุษย์ที่เดินสองเท้า (biped) กับสัตว์ที่เดินสี่เท้า (quadruped) (2-5)

การศึกษาความแตกต่างลักษณะทางสัณฐานวิทยา ระหว่างกระดูกยาว (กระดูกต้นขาหน้า/แขน กระดูกต้นขาหลัง/ขา และกระดูกหน้าแข้ง) ของมนุษย์กับสัตว์ที่เดินสี่เท้า (แกละ สุนัข และสุกร) และสัตว์ที่เดินสองเท้า (จิงโจ้ และนกอินทรี) พบว่าหากใช้ข้อมูลจากกระดูกที่สมบูรณ์จะมีค่าความแม่นยำในการแยก ระหว่างกระดูกมนุษย์หรือสัตว์มากกว่าร้อยละ 95

(กระดูกต้นขาหน้า/แขน แม่นยำร้อยละ 97.8 กระดูกต้นขาหลัง/ขา แม่นยำร้อยละ 96.2 และกระดูกหน้าแข้งแม่นยำร้อยละ 96.2) แต่หากใช้ข้อมูลจากส่วนท่อนกลาง (diaphysis) ของกระดูก พบว่าความแม่นยำลดลงอยู่ระหว่างร้อยละ 63 ถึง 99 (กระดูกต้นขาหน้า/แขน แม่นยำร้อยละ 63.3–74.4 กระดูกต้นขาหลัง/ขา แม่นยำร้อยละ 65.5–78.2 และกระดูกหน้าแข้งแม่นยำร้อยละ 66.7–99) (6) การศึกษาในประเทศไทยเปรียบเทียบกับลักษณะทางสัณฐานวิทยาของกระดูกยาวของคนไทยเพื่อใช้แยกความแตกต่างระหว่างกระดูกยาว (กระดูกต้นขาหน้า/แขน กระดูกต้นขาหลัง/ขา และกระดูกหน้าแข้ง) ของมนุษย์และสัตว์ (โค สุนัข ม้า ลิง และสุกร) กำหนดการวัดจำนวน 33 ค่า (การวัดดัชนีเมตริก 16 ค่า และการวัดเชิงมุม 17 ค่า) พบว่า ค่า 18 จาก 33 ค่า ที่วัดได้ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ระหว่างมนุษย์และสัตว์ (5)

ในส่วนชิ้นกระดูก (fragmented bone) หรือกระดูกไม่สมบูรณ์ (incomplete bone) ความยากหรือง่ายในการจำแนกแตกต่างกันขึ้นกับตำแหน่งที่พบ หากชิ้นส่วนนั้นมีโครงสร้างสำคัญปรากฏอยู่ก็สามารถจำแนกได้ง่าย (ตารางที่ 1 และรูปที่ 1)

กระดูกต้นขาหลังของม้าพบปุ่มกระดูก greater trochanter (รูป d ลูกศรสีขาว) ในม้ามีการเชื่อมกันของกระดูกปลายขาหน้าท่อนล่างด้านในและด้านนอก กระดูกขาท่อนล่างด้านในยาวเพียงครึ่งหนึ่งของกระดูกขาท่อนล่างด้านนอก (รูป c ลูกศรสีแดง) ปุ่มกระดูก olecranon process ของกระดูกแขนท่อนล่างด้านในของมนุษย์มีขนาดเล็กในขณะที่สัตว์อื่นจะยื่นออกชัดเจน (รูป c วงกลมสีแดง) ปลายใกล้ลำตัวของกระดูกขาท่อนล่างด้านใน ของมนุษย์มีลักษณะตรงในขณะที่สัตว์อื่นจะโค้งเข้าด้านในเล็กน้อย (รูป e วงกลมสีแดง) และกระดูกขาท่อนล่างด้านนอกในสัตว์บางชนิดจะมีการลดรูปให้มีขนาดเล็กลงเช่นใน



รูปที่ 1. ลักษณะที่ต่างกันของกระดูก มนุษย์ (1) ลิ้ง (2) สุกกร (3) สุนัข (4) กวาง (5) โค (6) และม้า (7) ในกระดูก สะบัก (a) กระดูกต้นแขน/ขาหน้า (b) กระดูกแขน (ปลายขาหน้า) ท่อนล่างด้านในและด้านนอก (c) กระดูกต้นขา/ขาหลัง (d) กระดูกขาท่อนล่างด้านในและด้านนอก (e) และกระดูกซี่โครง (f) ความแตกต่างเห็นได้ระหว่างมนุษย์และสัตว์ เช่น ส่วน acromion (รูป a วงกลม) ในมนุษย์จะยาวกว่าสัตว์ชนิดชนิดอื่น ปลายใกล้ลำตัวของกระดูกต้นแขน/ขาหน้าในมนุษย์ (รูป b วงกลมสีแดง) และกระดูกต้นขา/ขาหลัง (รูป d วงกลมสีแดง) จะเป็นส่วนหัว ปุ่มกระดูกไม่ยาวเหมือนในสัตว์ชนิดอื่น ปลายใกล้ลำตัวของกระดูกต้นแขน/ขาหน้าในมนุษย์จะมีลักษณะกว้างและแบนมากกว่าสัตว์ชนิดอื่น (รูป b วงกลมสีเหลือง)

กวาง (รูป e ลูกศรสีเหลือง) โค (รูป e ลูกศรสีขาว) และม้า (รูป e ลูกศรสีแดง) ปลายใกล้ลำตัวของกระดูก ซี่โครงในมนุษย์ไม่พบปุ่มกระดูกยื่นออกมาชัดเจน

เหมือนสัตว์อื่น (รูป f วงกลมสีแดง) (Ca.=caudal, Cr.=cranial, In.=inferior, Med.=medial, Lat.=lateral, Su.=superior) รูปถ่ายโดยผู้เขียน

ตารางที่ 1. ตัวอย่างตำแหน่งเฉพาะกระดูกในมนุษย์และสัตว์ที่สามารถใช้จำแนกได้

กระดูก	ลักษณะสังเกต
ต้นขาหน้า/แขน	กระดูกต้นแขนมนุษย์มีลักษณะตรงแต่ในสัตว์ชนิดอื่นจะมีลักษณะที่โค้งเป็นอักษรเอฟ (รูปที่ 1b) ปุ่มกระดูก greater tubercle ในสัตว์จะมีขนาดใหญ่แต่ในมนุษย์มีขนาดเล็กมาก พื้นที่ส่วนใหญ่บริเวณปลายใกล้ลำตัว (proximal) จะเป็นส่วนหัวของต้นแขน (head of humerus) (รูปที่ 1b) ปลายด้านไกล (distal) ของกระดูกในมนุษย์จะแบนจากหน้าไปหลัง (anteroposterior) แต่ในสัตว์จะมีความหนาเป็นรูปทรงสี่เหลี่ยม (รูปที่ 1b)
แขนท่อนล่างด้านในและด้านนอก	ในม้ามีการเชื่อมกันของกระดูกทั้งสองชิ้นไม่สามารถแยกออกจากกันได้ โดยกระดูกขาท่อนล่างด้านในยาวเพียงครึ่งหนึ่งของกระดูกขาท่อนล่างด้านนอก (รูปที่ 1c) ส่วนหัวของกระดูกแขนท่อนล่างด้านนอก (head of radius) ในมนุษย์เป็นทรงกลมแต่ในสัตว์ชนิดอื่นส่วนใหญ่เป็นทรงวงรี ปุ่มกระดูก olecranon process ของกระดูกแขนท่อนล่างด้านในของมนุษย์มีขนาดเล็กในขณะที่สัตว์อื่นจะยื่นออกมาชัดเจน (รูปที่ 1c)
กระดูกต้นขาหลัง/ขา	ในม้าพบปุ่มกระดูกเรียกว่า third trochanter ที่ส่วนปลายส่วนต้นด้านนอก (รูปที่ 1d) ปุ่มกระดูก greater trochanter ในกระดูกสัตว์ส่วนใหญ่มีขนาดใหญ่เกือบเท่าหรือใหญ่กว่าส่วนหัวกระดูกต้นขาหลัง (head of femur) (รูปที่ 1d)
กระดูกซี่โครง	ในมนุษย์จะพบว่ามีความโค้งมากกว่า (รูปที่ 1f)
กระดูกสันหลัง	ส่วนลำตัว (centrum) กระดูกสันหลังของมนุษย์จะมีลักษณะแบน แต่ในสัตว์อื่นส่วนใหญ่จะหนา

ที่มา: Bass, 1989 (2), Mahakkanukrauh, 2012 (7), Nganvongpanit, 2016 (8)

การแยกด้วยลักษณะทางจุลกายวิภาค (histology identification)

การศึกษาความแตกต่างทางลักษณะจุลกายวิภาคระหว่างมนุษย์และสัตว์มีประโยชน์ในการใช้ประเมินเบื้องต้นสำหรับใช้ก่อนการส่งตรวจด้วยเทคนิคทางอนุพันธุศาสตร์ในกรณีที่ตัวอย่างมีจำนวนมาก จากการศึกษาจำนวนมากแสดงให้เห็นว่ามีความแตกต่างของโครงสร้างทางจุลกายวิภาคระหว่างกระดูกมนุษย์ และสัตว์ แต่ยังไม่มีการนำมาใช้จริงในภาคสนาม ทั้งนี้เนื่องจากมีข้อจำกัดหลายประการ

ลักษณะทางจุลกายวิภาคของกระดูก (histology of bone)

กระดูกประกอบด้วยกระดูกแน่น (compact bone) และกระดูกโปร่ง (spongy bone) ในกระดูกแน่น

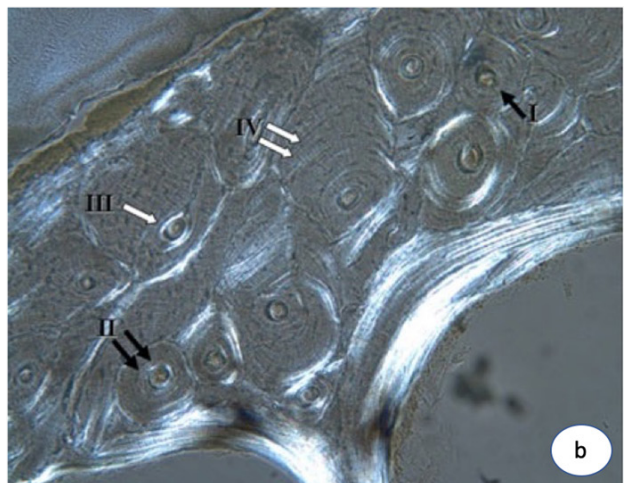
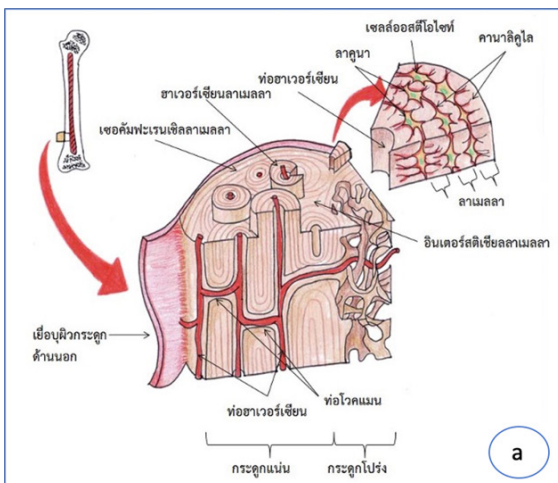
ประกอบด้วยระบบท่อมีหน้าที่ในการนำเลือดเข้าไปเลี้ยงเซลล์กระดูกที่อยู่ในเนื้อกระดูกแข็ง (รูปที่ 2a) มีออสติออยด์ที่เป็นโครงสร้างขนาดใหญ่ตรงกลาง เป็นที่อยู่ของท่อที่เรียกว่า ท่อฮาเวอร์เซียน การจัดเรียงตัวซ้อนกันของลากูนา (lacuna) เป็นวงซ้อนกันเรียกว่า ลามेलลา มีเซลล์ออสติโอไซต์ (osteocyte) อยู่ภายในลากูนา และมีท่อขนาดเล็กที่เรียกว่า คานาlikuไล (Canaliculi) เชื่อมระหว่างลากูนา และขอบนอกออสติออยด์ พบเส้นซีเมนต์ (cement line) เมื่อออสติออยด์โตเต็มที่ (mature osteon) หรือเรียกว่าออสติออยด์ทุติยภูมิ (secondary osteon)

ออสติออยด์มีสองชนิด ชนิดแรกคือ ออสติออยด์ปฐมภูมิ (primary osteon) เป็นออสติออยด์ที่เพิ่งสร้าง ลักษณะที่สำคัญ คือ ไม่พบเส้นซีเมนต์ที่ขอบออสติออยด์ บางครั้งพบการเรียงตัวของออสติออยด์

ในลักษณะเฉพาะ เช่น การเรียงตัวเป็นแถว (osteon banding) หรือการเรียงสลับเหมือนการเรียงอิฐ (plexiform bone) (9,10) พบมากในลูกสัตว์ และชนิดที่สองคือ ออสติออยด์ทุติยภูมิ แบ่งได้เป็น 4 ชนิด ตามรูปร่างและองค์ประกอบ (10,11) คือ ชนิดที่ 1 เรียกว่า common osteon พบได้ทั่วไป ลักษณะออสติออยด์ทรงกลมหรือรี มีท่อฮาเวอร์เซียนอยู่ตรงกลาง มีลามัลลาเป็นชั้นเรียงซ้อนกัน ในลามัลลาพบลา구나 มีเส้นซีเมนต์อยู่นอกสุดของลามัลลา ชนิดที่ 2 เรียกว่า embedded osteons พบ common osteon ขนาดเล็กอยู่ในออสติออยด์ขนาดใหญ่ ชนิดที่ 3 เรียกว่า double zonal osteons พบว่าเป็นออสติออยด์ขนาดใหญ่โดยภายในจะมีเส้นซีเมนต์เกิดขึ้นก่อน 1 ชั้น ทำให้เห็นมีลักษณะของเส้นซีเมนต์ 2 เส้นในออสติออยด์ 1 วง และชนิดที่ 4 เรียกว่า drifting osteons พบว่ามีชั้นของลามัลลาเรียงตัวซ้อนกันหลายชั้นที่ขอบด้านใดด้านหนึ่งของออสติออยด์ เกิดจากการเจริญของออสติออยด์ที่ไม่พร้อมกัน มีการเจริญทางด้านใดด้านหนึ่งมากกว่าอีกด้านหนึ่ง (รูปที่ 2b)

ความแตกต่างระหว่างชนิดสัตว์ (differences between species)

ลักษณะทางจุลกายวิภาคของกระดูกแน่นมีความแตกต่างกันระหว่างลูกสัตว์และสัตว์ที่โตเต็มที่ ในสิ่งมีชีวิตหลายชนิด เช่น ในมนุษย์ (12) ลิง (13) โค (14) สุนัข (15) และกระต่าย (16) และมีการศึกษาในสัตว์หลายชนิด เช่น มนุษย์ (17, 18) สุนัข (15) ลิงวอกภูเขา (18), ช้าง (19) แมว (17) แกะ (17) กวาง (17) หม่าป่า (17) และตัวนิ่ม (17) พบว่าโครงสร้างออสติออย์ในกระดูกแต่ละชั้นของร่างกายมีความแตกต่างกัน แต่จากการศึกษาเปรียบเทียบจำนวนเซลล์กระดูกในออสติออยด์ ของกระดูกต้นขาหน้า กระดูกปลายขาหน้าท่อนหน้า กระดูกปลายขาหน้าท่อนหลัง กระดูกต้นขาหลัง และกระดูกหน้าแข้ง ระหว่าง มนุษย์ แมว แกะ กวาง หม่าป่า และตัวนิ่ม โดยเก็บตัวอย่างจากตำแหน่งเดียวกัน พบว่า ในกระดูกแต่ละชั้นในสัตว์ชนิดเดียวกันมีจำนวนเซลล์กระดูกในแต่ละออสติออยด์ที่ใกล้เคียงกัน (17) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าในกระดูกแต่ละชนิดแม้มีรูปร่าง และขนาดของออสติออยด์ที่แตกต่างกัน แต่จำนวนเซลล์กระดูกก็อาจไม่แตกต่างกัน



รูปที่ 2. a ภาพวาดลักษณะทางจุลกายวิภาคของกระดูกแน่นและกระดูกโปร่ง แสดงการเชื่อมกันของระบบท่อที่อยู่ในภาพในเนื้อกระดูก (ที่มา Nganvongpanit, 2016 (8)) และ b แสดงลักษณะจุลกายวิภาคของกระดูกแน่น แสดงโครงสร้างออสติออยด์ทุติยภูมิ 4 ชนิด คือ ชนิดที่หนึ่ง common osteon (I), ชนิดที่สอง embedded osteon (II), ชนิดที่สาม double zonal osteon (III) และชนิดที่สี่ drifting osteon (IV) (ที่มา: Creacimano and Stout, 2012 (10))

การใช้ความรู้ทางจุลกายวิภาคของกระดูกเป็นเครื่องมือแยกชนิดของสัตว์และมนุษย์เพื่อประโยชน์ทางกระบวนการนิติวิทยาศาสตร์เป็นวิธีที่ได้รับความนิยมเนื่องจาก ทำได้ง่าย ค่าใช้จ่ายไม่สูง โดยใช้อัตราส่วนความหนาของกระดูกแน่นและกระดูกโปร่ง (20) หรือโครงสร้างออสติออยด์ (9,12,17,18,21-24) การศึกษาเปรียบเทียบลักษณะทางจุลกายวิภาคของกระดูกสัตว์แต่ละชนิดมีครั้งแรกเมื่อปี พ.ศ. 2490 จากนั้นเริ่มมีการศึกษาต่อเนื่องเรื่อยมา แต่มีรายงานทางวิชาการที่มีหลักฐานชัดเจนในปี พ.ศ. 2509 มีการศึกษาเปรียบเทียบลักษณะของออสติออยด์ของกระดูกต้นขาหลังในสัตว์ 6 ชนิด (หนู กระต่าย แมว สุนัข ลิง และโค) และมนุษย์ ตีพิมพ์ในวารสารกายวิภาค (Journal of Anatomy) พบว่าในโคเป็นสัตว์ที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางออสติออยด์ และขนาดเส้นรอบวงท่อฮาเวอร์เซียนใหญ่ที่สุด ส่วนในหนูมีขนาดเล็กที่สุด (12)

โครงสร้างออสติออยด์ของกระดูกหน้าแข้ง มนุษย์ ลิง ช้างเอเชีย โค สุกร ไก่ แมว และสุนัข มีความแตกต่างของความหนาแน่นของจำนวนท่อฮาเวอร์เซียน เส้นผ่านศูนย์กลางของท่อฮาเวอร์เซียน และเส้นผ่าน

ศูนย์กลางของออสติออยด์ (ตารางที่ 2) และมีการสร้างสมการทำนายชนิดของสัตว์จากโครงสร้างออสติออยด์ซึ่งมีความแม่นยำในการแยกชนิดของสัตว์ได้ถึงร้อยละ 88.5 (23) (รูปที่ 3) นอกจากนั้นยังมีการศึกษา



รูปที่ 3. สมการในการแยกชนิดกระดูกหน้าแข้งของมนุษย์และสัตว์โดยใช้เส้นผ่านศูนย์กลางของออสติออยด์ เส้นผ่านศูนย์กลางช่องฮาเวอร์เซียน และความหนาแน่นของจำนวนท่อฮาเวอร์เซียน; DC=diameter of haversian canals, DO=osteon diameter, Dmm²=density of haversian canal per mm² (ที่มา Morales et al., 2012 (23))

ตารางที่ 2. เปรียบเทียบเส้นผ่านศูนย์กลางของออสติออยด์ เส้นผ่านศูนย์กลางช่องฮาเวอร์เซียน และความหนาแน่นของจำนวนท่อฮาเวอร์เซียน จากกระดูกหน้าแข้งในมนุษย์และสัตว์

สัตว์	เส้นผ่านศูนย์กลางของออสติออยด์ (ไมโครเมตร)	เส้นผ่านศูนย์กลางท่อฮาเวอร์เซียน (ไมโครเมตร)	ความหนาแน่นของท่อฮาเวอร์เซียน (ตารางมิลลิเมตร)	อ้างอิง
มนุษย์	111.07±2.25	35.92±2.12	6.23±0.30	Morales et al., 2012 (23)
	184.66±28.63	39.71±7.95	-	Nganvongpanit et al., 2015 (18)
ลิง	143.46±26.80	33.74±6.53	-	Nganvongpanit et al., 2015 (18)
ช้าง	234.50±58.94	73.58±21.48	-	Nganvongpanit et al., 2017 (19)
สุนัข	59.39±3.63	12.37±1.91	8.75±0.47	Morales et al., 2012 (23)
	157.01±32.87	34.93±9.06	-	Nganvongpanit et al., 2015 (18)
แมว	49.93±3.29	10.60±1.01	8.28±1.63	Morales et al., 2012 (23)
หมู	114.76±8.19	40.09±14.82	1.97±0.39	Morales et al., 2012 (23)
โค	118.34±16.40	26.24±3.75	3.65±0.65	Morales et al., 2012 (23)
ไก่	45.73±4.66	29.49±2.18	19.36±1.25	Morales et al., 2012 (23)

พบว่าลักษณะของออสติออยด์บางชนิดช่วยบ่งบอกชนิดสัตว์ได้ เช่น ลักษณะของ osteon banding หรือ plexiform bone จะพบได้ในลูกสัตว์บางชนิด เช่น กวาง สุกร และสุนัข (15,22,24)

นอกจากลักษณะปกติที่กล่าวมาแล้วยังมีนักวิจัยบางกลุ่มสนใจศึกษาลักษณะทางจุลกายวิภาคของกระดูกที่ผ่านกระบวนการอื่น เช่น การเผา หรือการแช่แข็ง การศึกษาลักษณะทางจุลกายวิภาคของกระดูกมนุษย์ที่ถูกเผาในอุณหภูมิต่างกัน จาก 100 องศาเซลเซียส ไปจนถึง 1,100 องศาเซลเซียส ในเวลา 20 นาที Rafael และคณะ (2013) พบว่า ในช่วงอุณหภูมิ 100-200 องศาเซลเซียส ลักษณะโครงสร้างจุลกายวิภาคเริ่มผิดรูป แต่ยังคงสามารถระบุได้ว่าเป็นลักษณะของโครงสร้างใด มีการแตกของกระดูกตามแนวยาว (longitudinal fracture) แต่ในช่วงอุณหภูมิตั้งแต่ 300 ถึง 1,100 องศาเซลเซียส โครงสร้างจุลกายวิภาคของกระดูกถูกทำลายจนไม่สามารถระบุหรือบอกรายละเอียดที่แน่ชัดได้ (25) แสดงให้เห็นว่าวิธีการทางจุลกายวิภาคไม่เหมาะสมอย่างยิ่งสำหรับตัวอย่างที่ผ่านความร้อนมาแล้วเช่น ในกรณีของกระดูกที่ถูกเผา แต่ในกรณีของความเย็นพบว่าไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างทางจุลกายวิภาคของกระดูก (26)

การแยกด้วยปริมาณแร่ธาตุที่สะสมในกระดูก

(Identification using the elements)

แร่ธาตุที่สะสมในร่างกายสัตว์ (element accumulate in animals)

ในร่างกายสิ่งมีชีวิตมีการสะสมแร่ธาตุในเนื้อเยื่อ โดยเฉพาะเนื้อเยื่อกลุ่มที่เรียกว่า mineralized tissue เช่น กระดูก ฟัน (teeth) เขาสัตว์ (horn/antler) ในปริมาณที่มาก อยุ่วะะเหล่านี้จะเป็นแหล่งของการสะสมของแร่ธาตุที่สำคัญของร่างกาย เช่น แมกนีเซียม (Mg) แคลเซียม (Ca) ฟอสฟอรัส (P) เหล็ก (Fe) ทองแดง

(Cu) มีการศึกษาวิเคราะห์แร่ธาตุจากเขาของสัตว์สามชนิด กระบือ โค และแกะ พบว่ามีแร่ธาตุหลายชนิดที่เป็นองค์ประกอบ แต่ที่พบได้สูงมากคือ กำมะถัน (S) เนื่องจากเป็นองค์ประกอบของโปรตีนเคอราติน (keratin) (27) นอกจากนี้ยังพบแร่ธาตุอื่น เช่น แคลเซียม ฟอสฟอรัส ทองแดง เหล็ก แมกนีเซียม และสังกะสี (Zn) พบว่าเขาของโคมีแคลเซียมสูงที่สุด รองลงมาคือ แกะ และกระบือ มีการศึกษาเปรียบเทียบองค์ประกอบของแร่ธาตุของเขาของกวางส่วนที่เป็น antler กับ pedicle bone พบว่าทั้งสองส่วนนั้นมีองค์ประกอบของแคลเซียม ฟอสฟอรัส กำมะถัน แมกนีเซียม และ โพแทสเซียม (K) แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ และยังพบว่ามีส่วนของสตรอนเชียม (Sr)/แคลเซียม และแบเรียม (Ba)/แคลเซียม ที่ต่างกันของส่วน pedicle กับ antler ซึ่งจะแสดงให้เห็นถึงชนิดของอาหารที่มีการเปลี่ยนแปลงไป เนื่องจากอัตราส่วนของสตรอนเชียม/แคลเซียม และ แบเรียม/แคลเซียม ในอาหารแต่ละประเภทแตกต่างกัน ดังนั้นถ้าอัตราส่วนของสตรอนเชียม/แคลเซียม และแบเรียม/แคลเซียม ในเขากวาง สามารถบ่งชี้ถึงชนิดอาหารได้

กระดูก และฟัน เป็นอวัยวะหลักในการสะสมของแร่ธาตุในร่างกาย องค์ประกอบแร่ธาตุที่สำคัญคือ ไฮดรอกซีแอปาทาइट (hydroxyapatite) ซึ่งโครงสร้างนี้จะประกอบไปด้วย แคลเซียม และฟอสฟอรัสเป็นหลัก โดยมีอัตราส่วนประมาณ 2.3 เท่า ทั้งในกระดูกและฟัน แต่มีการศึกษาในกระดูกสุนัขจำนวน 48 ชิ้นในร่างกาย พบว่าอัตราส่วนนี้มีความแตกต่างในกระดูกแต่ละชิ้นของร่างกาย (28) นอกจากนี้ยังพบแร่ธาตุชนิดอื่นทั้งที่จำเป็น (essential trace elements) และไม่จำเป็น (non-essential trace elements) ต่อร่างกาย เช่น เหล็ก กำมะถัน สังกะสี ทองแดง ซิลิคอน (Si) โครเมียม (Cr) โคบอลต์ (Co) นิกเกิล (Ni) โบรมีน (Br) สตรอนเชียม โมลิบดีนัม (Mo) แคดเมียม (Cd) ตะกั่ว (Pb) และปรอท (Hg)

ความแตกต่างระหว่างชนิดสัตว์ (differences between species)

ปัจจุบันมีการศึกษาเกี่ยวกับการสะสม และการกระจายตัวของแร่ธาตุในกระดูก ฟัน รวมถึงเนื้อเยื่ออ่อนนุ่ม (soft tissue) เนื่องจากแร่ธาตุหลายชนิดมีบทบาทสำคัญต่อกระบวนการทำงานของสิ่งมีชีวิต มีการศึกษาการสะสมของแร่ธาตุจำพวกโลหะหนักในสิ่งมีชีวิตเพื่อใช้ในการบ่งบอกถึงมลภาวะของสิ่งแวดล้อม (29,30) และการศึกษาเพื่อใช้ในการจำแนกชนิดของสัตว์ (31-39)

ในการศึกษาของ de Dios Teruel และคณะ (2015) (31) เปรียบเทียบองค์ประกอบของแร่ธาตุในส่วนของชั้นเคลือบฟัน (enamel) และเนื้อฟัน (dentine) ในฟันของมนุษย์ โค สุกกร และแกะ ด้วยวิธี wave-length dispersive X-ray fluorescence (WDXRF) พบว่าองค์ประกอบของแร่ธาตุในฟันโคกับมนุษย์นั้นมีความเหมือนกันมากทั้งในชั้นเคลือบฟันและเนื้อฟัน พบว่า ฟอสฟอรัส แคลเซียม ทองแดง โพแทสเซียม คลอรีน (Cl) และอัตราส่วนระหว่าง แคลเซียม/ฟอสฟอรัส ในชั้นเคลือบฟันมีปริมาณมากกว่าในเนื้อฟัน ในขณะที่ปริมาณของแมกนีเซียม กำมะถัน สตรอนเซียม และสังกะสี ในเนื้อฟันพบมากกว่าในชั้นเคลือบฟัน มีการศึกษาปริมาณแร่ธาตุที่สะสมในงาช้างสำหรับใช้เป็นเครื่องมือในการระบุว่าเป็งงาของช้างเอเชียหรือช้างแอฟริกา โดยอาศัยเครื่องมือที่วิเคราะห์ได้โดยไม่ต้องมีการทำลายตัวอย่าง เนื่องจากการแยกชนิดงาช้างในปัจจุบันต้องอาศัยการตรวจสอบพันธุกรรม ซึ่งมีข้อจำกัด คือ ต้องตัดหรือทำลายตัวอย่างบางส่วนก่อนนำไปสกัดสารพันธุกรรม จึงต้องการหาเทคนิคใหม่ในการแยกชนิดของงาช้างที่สามารถทำได้โดยไม่ต้องตัดหรือทำลายตัวอย่าง และสามารถทำได้ในทุกพื้นที่ ซึ่งมีค่าความถูกต้องมากกว่าร้อยละ 90 (33) ต่อมามีการศึกษาปริมาณแร่ธาตุที่สะสมในเขี้ยวและฟันพะยูน (38) เนื่องจาก

เขี้ยวพะยูนมีการซื้อขายในราคาที่สูงทั้งที่ห้ามซื้อขาย การศึกษานี้จึงใช้ปริมาณแร่ธาตุที่สะสมในเขี้ยวและฟันพะยูน แยกฟัน และเขี้ยวของพะยูน ออกจากสัตว์ชนิดอื่น ซึ่งมีค่าความถูกต้องร้อยละ 79.3 นอกจากนี้ยังใช้ประโยชน์ของแร่ธาตุที่สะสมในฟันพะยูนเพื่อระบุว่าพะยูนตัวดังกล่าวเคยอาศัยในอ่าวไทยหรือทะเลอันดามัน โดยมีค่าความถูกต้องถึงร้อยละ 88.1 มีการศึกษาใช้ปริมาณแร่ธาตุในกระดูก มนุษย์ ช้าง สุนัข และโลมา พบว่า ปริมาณแร่ธาตุสามารถแยกชนิดของสิ่งมีชีวิตจากชิ้นส่วนของกระดูกและฟันในมนุษย์และสัตว์โดยพบค่าความถูกต้องในการแยกร้อยละ 71-100 และพบว่าใช้ระบุความเป็นมนุษย์ได้ถึงร้อยละ 80 (32,37) ซึ่งในส่วน of มนุษย์นั้นมีประโยชน์มากในงานนิติวิทยาศาสตร์ของมนุษย์

นอกจากการใช้ปริมาณแร่ธาตุในการจัดจำแนกชนิดสัตว์แล้ว ยังมีการนำมาศึกษาแยกความแตกต่างระหว่างเพศ มีการสร้างสมการเพื่อใช้แยกเพศในมนุษย์ โดยใช้ปริมาณแร่ธาตุในกระดูก คัดเลือกแร่ธาตุที่มีความเหมาะสมสำหรับเป็นตัวส่วนสำหรับแปลงข้อมูลให้อยู่ในรูปแบบของอัตราส่วน เพื่อลดความผันแปรของข้อมูลในแง่ของอายุ โดยหลักเกณฑ์ในการคัดเลือกแร่ธาตุที่เหมาะสม คือมีปริมาณที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญระหว่างเพศชายและหญิง และมีค่าสัมประสิทธิ์ของการแปรผัน (coefficient of variation) น้อยกว่า จากนั้นนำชุดข้อมูลอัตราส่วนนี้มาวิเคราะห์สถิติ stepwise discriminant analysis และคำนวณความถูกต้องของสมการในการทำนายหาจากวิธี leave one out classification และหาค่า cut-off สำหรับใช้เพื่อตัดสินว่าเป็นกระดูกเพศชายหรือหญิงโดยกำหนดจากช่วงของค่าเฉลี่ยในเพศชายและหญิง ซึ่งพบว่าปริมาณแร่ธาตุที่พบในกระดูกและฟันไม่เหมาะสมในการใช้แยกเพศในมนุษย์ (36,39) สอดคล้องกับการศึกษาในสัตว์ชนิดอื่นที่พบว่าปริมาณแร่ธาตุในกระดูกหรือฟันในสัตว์ไม่เหมาะสม

กับการใช้แยกเพศ ได้แก่ สุนัข (28) พะยูน (38) และ ช้าง (33) ซึ่งมีค่าความถูกต้องในการระบุเพศเพียงร้อยละ 60-70

แม้ว่าการใช้ปริมาณแร่ธาตุที่สะสมในกระดูกหรือ ฟันมาแยกชนิดสัตว์จะให้ค่าความแม่นยำค่อนข้างสูง แต่เทคนิคนี้ยังมีข้อจำกัดบางอย่างที่ต้องคำนึง เช่น ผิวของตัวอย่างที่นำวัดปริมาณแร่ธาตุต้องไม่ปนเปื้อนด้วยสารเคมีเพราะทำให้การวิเคราะห์ปริมาณแร่ธาตุผิดไป มีการศึกษาพบว่ากระดูกที่เคลือบด้วย แลคเกอร์กับกระดูกที่ไม่ถูกเคลือบมีผลต่อปริมาณแร่ธาตุที่วัดได้ และส่งผลให้การทำนายชนิดสัตว์ผิด (40) นอกจากนี้มีการศึกษาพบว่าปริมาณแร่ธาตุใน กระดูกมีการกระจายตัวที่ไม่สม่ำเสมอ (28) ดังนั้น การวิเคราะห์ปริมาณแร่ธาตุต้องคำนึงถึงวิธีวิเคราะห์ หากเป็นการวิเคราะห์โดยใช้หลักการของเอกซเรย์ ฟลูออเรสเซนซ์ (x-ray fluorescence: XRF) จำเป็น ต้องวิเคราะห์หลายตำแหน่งเพื่อความแม่นยำ แต่ใน การวิเคราะห์ด้วยเทคนิคอื่น เช่น Laser Ablation Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry (LA-ICP-SF-MS) (34) สามารถตัดตัวอย่างเป็นชิ้นได้ เลย ไม่จำเป็นต้องตัดตัวอย่างมาวิเคราะห์หลายชิ้น

สรุป

แม้วิธีมาตรฐานในการแยกกระดูกมนุษย์และสัตว์ คือวิธีทางอนุพันธุศาสตร์ แต่วิธีการแยกเบื้องต้นที่ได้ นำเสนอมาแล้วมีความสำคัญเช่นเดียวกัน โดยเฉพาะ ในกรณีที่มีการพบชิ้นส่วนของกระดูกจำนวนมาก จำเป็นต้องมีเครื่องมือหรือวิธีการคัดแยกเบื้องต้น เพื่อจำแนกกระดูกมนุษย์และสัตว์ออกจากกัน การ แยกด้วยลักษณะทางมหกายวิภาค และการแยกด้วย ปริมาณแร่ธาตุที่สะสมในกระดูก ทั้งสองวิธีเป็นวิธีที่ เหมาะกับการคัดแยกเบื้องต้นที่ไม่เป็นการทำลาย ตัวอย่าง มีข้อเสียแตกต่างกัน วิธีแยกด้วยลักษณะทาง

มหกายวิภาคจำเป็นต้องอาศัยผู้เชี่ยวชาญในการ ปฏิบัติ ขณะที่การแยกโดยใช้ปริมาณแร่ธาตุที่สะสม ในกระดูกไม่เหมาะกับตัวอย่างกระดูกที่มีการปน เปื้อนบนพื้นผิว หรือถูกเคลือบด้วยสารเคมี ซึ่งทำให้ ผลการตรวจสอบผิดพลาดได้ สำหรับการแยกโดยใช้ วิธีทางจุลกายวิภาค แม้ว่าจะใช้เวลาในการตรวจไม่ นาน และมีค่าใช้จ่ายไม่มาก แต่เป็นวิธีที่ต้องทำลาย ตัวอย่างบางส่วน และไม่สามารถใช้ได้กับกระดูกที่ ผ่านความร้อนมา จะเห็นได้ว่าทั้งสามวิธีมีข้อดีและ ข้อจำกัดในการนำไปใช้ที่แตกต่างกัน แต่หากเลือกวิธี การคัดกรองเบื้องต้นได้เหมาะสมกับลักษณะกระดูก ที่พบ จะสามารถให้ผลลัพธ์ที่มีประสิทธิภาพมากที่สุด

เอกสารอ้างอิง

1. Imaizumi K, Saitoh K, Sekiguchi K, Yoshino M. Identification of fragmented bones based on anthropological and DNA analyses: case report. *Legal Med.* 2002;4:251-6.
2. Bass WM. Human osteology; A laboratory and field manual. 3rd ed. Columbia: Missouri Archaeological Society; 1983.
3. McLain RF, Yerby SA, Moseley TA. Comparative morphometry of L4 vertebrae: Comparison of large animal models for the human lumbar spine. *Spine (Phila Pa 1976).* 2002;27:E200-6.
4. Alméjia S, Tallman M, Alba DM, Pina M, Moyà-Solà S, Jungers WL. The femur of orrorin tugenensis exhibits morphometric affinities with both miocene apes and later hominins. *Nat Commun.* 2013;4:2888.
5. Phatsara M, Nganvongpanit K, Mahakkanukrauh P. Comparative morphometric study for distinguishing between human and non-human mammalian (cow, dog, horse, monkey and pig) long bones. . *Chiang Mai Vet J.* 2016;14:23-38.
6. Saulsman B, Oxnard CE, Franklin D. Long bone morphometrics for human from non-human discrimination. *Forensic Sci Int.* 2010;202:e1-5.
7. Mahakkanukrauh P. Anatomy and forensic anthropology of the human bone. *Chiang Mai: Siampimnana;* 2012. p. 250.
8. Nganvongpanit K. Textbook of veterinary osteology. 2nd ed. Chiang Mai: ST2 design; 2016. p. 747.

9. Hillier ML, Bell LS. Differentiating human bone from animal bone: a review of histological methods. *J Forensic Sci.* 2007;52:249-63.
10. Crescimanno A, Stout SD. Differentiating fragmented human and nonhuman long bone using osteon circularity. *J Forensic Sci.* 2012;57:287-94.
11. Robling AG, D. SS. Morphology of the drifting osteon. *Cells Tissues Organs.* 1999;164:192-204.
12. Jowsey J. Studies of haversian systems in man and some animals. *J Anat.* 1966;100(Pt 4):857-64.
13. Havill LM. Osteon remodeling dynamics in *Macaca mulatta*: normal variation with regard to age, sex, and skeletal maturity. *Calcif Tissue Int.* 2004;74:95-102.
14. Manilay Z, Novitskaya E, Sadovnikov E, McKittrick J. A comparative study of young and mature bovine cortical bone. *Acta Biomater.* 2013;9:5280-8.
15. Nganvongpanit K, Pradit W, Pitakarnnop T, Phatsara M, Chomdej S. Differences in osteon structure histomorphometry between puppyhood and adult stages in the Golden Retriever. *Anat Sci Int.* 2017;92:483-92.
16. Martiniakova M, Omelka R, Chrenek P, Vondra kova M, Bauerova M. Age-related changes in histological structure of the femur in juvenile and adult rabbits: a pilot study. *Bull Vet Inst Pulawy.* 2005:227-30.
17. Horni H. The forensic application of comparative mammalian bone histology. Texas: Tech University; 2002.
18. Nganvongpanit K, Phatsara M, Settakorn J, Mahakkanukrauh P. Differences in compact bone tissue microscopic structure between adult humans (*Homo sapiens*) and Assam macaques (*Macaca assamensis*). *Forensic Sci Int.* 2015;254:e1-5.
19. Nganvongpanit K, Siengdee P, Buddhachat K, Brown JL, Klinhom S, Pitakarnnop T, et al. Anatomy, histology and elemental profile of long bones and ribs of the Asian elephant (*Elephas maximus*). *Anat Sci Int.* 2017;92:554-68.
20. Croker SL, Reed W, Donlon D. Comparative cortical bone thickness between the long bones of humans and five common non-human mammal taxa. *Forensic Sci Int.* 2016;260(104):e1-104.e17.
21. Cummaudo M, Cappella A, Giacomini F, Raffone C, Marquez-Grant N, Cattaneo C. Histomorphometric analysis of osteocyte lacunae in human and pig: exploring its potential for species discrimination. *Int J Legal Med.* 2019;133:711-8.
22. Dominguez VM, Crowder CM. The utility of osteon shape and circularity for differentiating human and non-human haversian bone. *AJPA.* 2012;149:84-91.
23. Morales JP, Ignacio RH, Daniela Z, Ivan SH. Determination of the species from skeletal remains through histomorphometric evaluation and discriminant analysis. *Int J Morphol.* 2012;30:1035-41.
24. Mulhern DM, Ubelaker DH. Differences in osteon banding between human and nonhuman bone. *J Forensic Sci.* 2001;46:220-2.
25. Rafael FC, Douglas HU, José ALA, Rafael JEdIR, Inmaculada GG. Effect of temperature on bone tissue: histological changes. *Forensic Sci Int.* 2013;58:578-82.
26. Mariaeeres AT. Frozen human bone: a microscopic investigation. *J Forensic Sci.* 2007;52:16-20.
27. Tomlinson DJ, Mülling CH, Fakler TM. Invited review: formation of keratins in the bovine claw: roles of hormones, minerals, and vitamins in functional claw integrity. *J Dairy Sci.* 2004;87:797-809.
28. Nganvongpanit K, Buddhachat K, Piboon P, Klinhom S. The distribution of elements in 48 canine compact bone types using handheld X-ray fluorescence. *Biol Trace Elem Res.* 2016;174:93-104.
29. Tchounwou PB, Yedjou CG, Patlolla AK, Sutton DJ. Heavy metals toxicity and the environment. *EXS.* 2012;101:133-64.
30. Naderi H, Matin MM, Bahrami AR. Critical issues in tissue engineering: biomaterials, cell sources, angiogenesis, and drug delivery systems. *J Biomater Appl.* 2011;26:383-417.
31. de Dios Teruel J, Alcolea A, Hernández A, Ruiz AJO. Comparison of chemical composition of enamel and dentine in human, bovine, porcine and ovine teeth. *Arch Oral Biol.* 2015;60:768-75.
32. Buddhachat K, Klinhom S, Siengdee P, Brown JL, Nomsiri R, Kaewmong P, et al. Elemental analysis of bone, teeth, horn and antler in different animal species using non-invasive handheld X-ray fluorescence. *PLoS One.* 2016;11:e0155458.
33. Buddhachat K, Thitaram C, Brown JL, Klinhom S, Bansiddhi P, Penchart K, et al. Use of handheld X-ray fluorescence as a non-invasive method to distinguish between Asian and African elephant tusks. *Sci Rep.* 2016;6:24845.

34. Castro W, Hoogewerff J, Latkoczy C, Almirall JR. Application of laser ablation (LA-ICP-SF-MS) for the elemental analysis of bone and teeth samples for discrimination purposes. *Forensic Sci Int.* 2010;195:17-27.
35. Nganvongpanit K, Brown JL, Buddhachat K, Somgird C, Thitaram C. Elemental analysis of Asian elephant (*Elephas maximus*) teeth using X-ray fluorescence and a comparison to other species. *Biol Trace Elem Res.* 2016;170:94-105.
36. Nganvongpanit K, Buddhachat K, Brown JL, Klinhom S, Pitakarnnop T, Mahakkanukrauh P. Preliminary study to test the feasibility of sex identification of human (*Homo sapiens*) bones based on differences in elemental profiles determined by handheld X-ray fluorescence. *Biol Trace Elem Res.* 2016;173:21-9.
37. Nganvongpanit K, Buddhachat K, Klinhom S, Kaewmong P, Thitaram C, Mahakkanukrauh P. Determining comparative elemental profile using handheld X-ray fluorescence in humans, elephants, dogs, and dolphins: Preliminary study for species identification. *Forensic Sci Int.* 2016; 263:101-6.
38. Nganvongpanit K, Buddhachat K, Piboon P, Euppayo T, Kaewmong P, Cherdsukjai P, et al. Elemental classification of the tusks of dugong (*Dugong dugong*) by HH-XRF analysis and comparison with other species. *Sci Rep.* 2017;7: 46167.
39. Nganvongpanit K, Buddhachat K, Piboon P, Euppayo T, Mahakkanukrauh P. Variation in elemental composition of human teeth and its application for feasible species identification. *Forensic Sci Int.* 2017;271:33-42.
40. Buddhachat K, Piboon P, Nganvongpanit K. Effect of lacquer on altered elemental proportions in the superficial layer of bone, using handheld X-ray fluorescence. *Songklanakarin Journal of Science and Technology.* 2019;41: 700-7.
41. Owsley DW, Mires AM, Keith MS. Case involving differentiation of deer and human bone fragments. *J Forensic Sci.* 1985;30:572-8.

The classification of human and animal bones for forensic osteology aspect

Pitakarnnop T,^{1,2} Pakdeenarong P¹ and Nganvongpanit K²

¹Forensic Science and Criminal Justice, Faculty of Science, Silpakorn University, Nakhon Pathom,

²Animal Bone and Joint Research Laboratory, Department of Veterinary Biosciences and Public Health, Faculty of Veterinary Medicine, Chiang Mai University

This review article describes the duty of forensic osteology, which is important in the forensic sciences. Forensic osteology is to prove the bones remain that found at the crime scene, humans, or animals? If it is human bone, which sex, age, and cause of death? The screening methods used to identify human and animal bones that will be discussed in this article include; bone anatomy, histological characteristics, and by using the amount of minerals in the bone tissue. The content of this review article will know the concept, application, and limitation of each technique. For the benefit of those interested in the future. **Chiang Mai Medical Journal 2020;59(4):241-52.**

Keywords: bone, difference, human, animal