

## O emprego da microtomografia computadorizada na estimativa da idade

The use of the micro-computed tomography in age estimation

La utilización de la microtomografía computadorizada en la estimación de la edad

Recebido: 05/05/2022 | Revisado: 16/05/2022 | Aceito: 24/05/2022 | Publicado: 29/05/2022

**Karina Ines Medina Carita Tavares**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7916-7900>

Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Brasil

E-mail: [karina.medina@unesp.br](mailto:karina.medina@unesp.br)

**Clemente Maia da Silva Fernandes**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5401-6265>

Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Brasil

E-mail: [c.face@terra.com.br](mailto:c.face@terra.com.br)

**Airton Oliveira Santos-Junior**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1916-1675>

Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Brasil

E-mail: [airton.oliveira@unesp.br](mailto:airton.oliveira@unesp.br)

**Mônica da Costa Serra**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8820-2982>

Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Brasil

E-mail: [monica.serra@unesp.br](mailto:monica.serra@unesp.br)

### Resumo

A estimativa de idade torna-se importante na Antropologia Forense pois permite estimar a faixa etária de indivíduos, além de desempenhar um papel significativo em trâmites judiciais. Os dentes, assim com as medidas do esqueleto humano, são estruturas confiáveis durante os processos de identificação. A microtomografia computadorizada (micro-CT) é uma tecnologia 3D não destrutiva que permite a visualização e a análise de características microestruturais de ossos e dentes. O objetivo deste estudo foi analisar, através de uma revisão de literatura, a estimativa de idade empregando a micro-CT. Para esse fim, foram utilizados artigos publicados nos últimos 20 anos e disponibilizados na íntegra nos idiomas português, inglês e espanhol. Micro-CT é apontada como uma alternativa confiável na estimativa de idade através de medidas em dentes e esqueletos humanos. A associação desta ferramenta a outras técnicas proporciona resultados promissores, além de propor novos métodos através de análises quantitativas em alta resolução.

**Palavras-chave:** Antropologia forense; Determinação da idade pelos dentes; Determinação da idade pelo esqueleto; Microtomografia por raio-x; Radiologia.

### Abstract

Age estimation is important in Forensic Anthropology because it allows estimating the age of individuals, in addition to performing a significant role in legal proceedings. Teeth as well as the human skeletal measures are reliable structures during the identification process. Micro-computed tomography (micro-CT) is a non-destructive 3D technology to allow the visualization and analysis of microstructural of bones and teeth. The aim of this study was to analyze, through a literature review, the age estimation using micro-CT. For this purpose, articles published in the last 20 years and made available in full in Portuguese, English and Spanish were used. Micro-CT is considered a reliable alternative for age estimation through measurements on human teeth and skeletons. The association of this tool with other techniques provides promising results, besides to proposing new methods through quantitative analysis in high-resolution.

**Keywords:** Forensic Anthropology; Age Determination by Teeth; Age Determination by Skeleton; X-Ray microtomography; Radiology.

### Resumen

La estimación de edad es importante en la antropología forense porque permite la estimación de la edad de individuos, además de desempeñar un papel significativo en los trámites judiciales. Los dientes y las medidas del esqueleto humano son estructuras confiables durante los procesos de identificación. La microtomografía computadorizada (micro-CT) es una tecnología 3D no destructiva que permite la visualización y análisis de las características microestructurales de los huesos y dientes. El objetivo de este estudio fue analizar por medio de una revisión de literatura la estimación de la edad utilizando el micro-CT. Para ello, se recopilaron artículos publicados los últimos 20 años y disponibles de manera completa en los idiomas portugués, inglés y español. Micro-CT es señalado como una alternativa confiable en la determinación de la edad por medio de medidas en los dientes y esqueletos. La

combinación de esta tecnología con otras técnicas proporciona resultados favorables, además de proponer nuevos métodos por medio de análisis cuantitativas en alta resolución.

**Palabras clave:** Antropología forense; Determinación de la edad por los dientes; Determinación de la edad por el esqueleto; Microtomografía por rayos x; Radiología.

## 1. Introdução

A estimativa de idade é um processo importante em Antropologia Forense, pois permite determinar a faixa etária de indivíduos, auxiliar no processo de imigração e adoção, bem como desempenhar um papel relevante em trâmites criminais e civis (Bjørk & Kvaal, 2018; Kuhnen et al., 2021; Veras et al., 2021). Assume também grande destaque em ocasiões de desastres em massa que resultam em restos mortais não identificados e em casos de indivíduos vivos (Baryah et al., 2019). A estimativa de idade é realizada por meio de avaliações do crescimento e desenvolvimento dos dentes em radiografias periapicais e panorâmicas, radiografias das mãos e das clavículas, assim como em métodos baseados em imagens 3D (Schmeling et al., 2008).

A idade dentária pode auxiliar na estimativa da idade fisiológica (Maret et al., 2011; Asami et al., 2019). Os dentes estão entre as estruturas do corpo humano que melhor resistem ao tempo e às influências extrínsecas; além disso, são extremamente importantes na identificação de restos mortais humanos decompostos ou em fase esquelética (Aboshi et al., 2010; Asami et al., 2019; Kuhnen et al., 2021). Na estimativa de idade de crianças e adolescentes, é recomendado utilizar dentes que estão em período de desenvolvimento (Bjørk & Kvaal, 2018; Kuhnen et al., 2021). Terceiros molares podem ser utilizados na estimativa de idade de adolescentes e adultos jovens por apresentarem desenvolvimento mais tardio (Somedá et al., 2009; Bjørk & Kvaal, 2018; Gioster-Ramos et al., 2021; Veras et al. 2021). Todavia, é necessário cautela na interpretação desses resultados, devido à alta variabilidade em relação ao tempo de desenvolvimento e formação desses dentes (Bjørk & Kvaal, 2018). Ainda, após o completo desenvolvimento da dentição, a estimativa da idade dentária torna-se dificultosa, pois as alterações provocadas por hábitos como o bruxismo e o desgaste dentário influenciam diretamente na oclusão fisiológica humana (Aboshi et al., 2010). Medições do tamanho da câmara pulpar, correlações entre idade e proporções de altura e largura dos elementos dentários e avaliação da deposição de dentina secundária em radiografias periapicais, panorâmicas e imagens 3D são métodos não destrutivos bastante utilizados na estimativa da idade dentária (Schmeling et al., 2008; Someda et al., 2009; Asami et al., 2019).

A estimativa de idade também é determinada em medidas do esqueleto humano, alcançando bons resultados, especialmente em indivíduos jovens (Deguette et al., 2017; Pham et al., 2021). Por outro lado, a estimativa da idade em adultos é um método mais desafiador, por conta da maturidade esquelética e dentária (Deguette et al., 2017). A degeneração de ossos específicos ou até mesmo perda de parte de alguns ossos como por exemplo, fêmur, tíbia e costelas, torna o processo bem mais dificultoso. Portanto, uma combinação de diferentes recursos pode ser um meio facilitador e levar a resultados mais precisos (Pham et al., 2021). Dentre desse contexto, a microtomografia computadorizada (micro-CT) mostrou-se uma excelente ferramenta na estimativa da idade (Wade et al., 2011; Deguette et al., 2017; McGivern et al., 2020; Campioni et al., 2020; Nudel et al., 2020; Pham et al., 2021). Micro-CT é uma tecnologia 3D não destrutiva que permite, dentre outras aplicações, a visualização e análise de características microestruturais de ossos e dentes (Rutty et al., 2013; Campioni et al., 2020). Devido à sua natureza não destrutiva, garante registros permanentes para investigações futuras, e o conjunto de dados obtidos pode ser utilizado para fins judiciais (Rutty et al., 2013). Para análise de dentes, é possível obter uma perspectiva 3D de estruturas como o esmalte, dentina e a cavidade pulpar (Somedá et al., 2009). Correlações volumétricas, usando micro-CT, entre as estruturas do dente e a estimativa da idade foram métodos desenvolvidos e bem aceitos na literatura (Vandevoort et al., 2004; Someda et al., 2009; Agematsu et al., 2010; Asami et al., 2019; Nudel et al., 2020). Dessa forma, a estimativa da idade dentária foi

otimizada a partir da utilização de micro-CT, visto que métodos radiográficos 2D não caracterizam a estrutural real dos dentes (Rutty et al., 2013; Asami et al., 2019; Nudel et al., 2020, Campioni et al., 2020; Gioster-Ramos et al., 2021).

Dessa forma, o objetivo desse estudo foi analisar, através de uma revisão de literatura, a realização da estimativa de idade por meio do emprego de micro-CT.

## 2. Metodologia

Para o desenvolvimento deste estudo foi realizada uma busca extensiva nas seguintes bases de dados: PubMed, Scopus, Web of Science, Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde (LILACS), Biblioteca Virtual da Saúde (BVS) e Google Scholar no período de abril e julho de 2020. Os descritores empregados para a busca dos artigos foram "micro-CT", "age estimation", "teeth", "bone mineral density", "bone microarchitecture", "forensic anthropology", "forensic odontology".

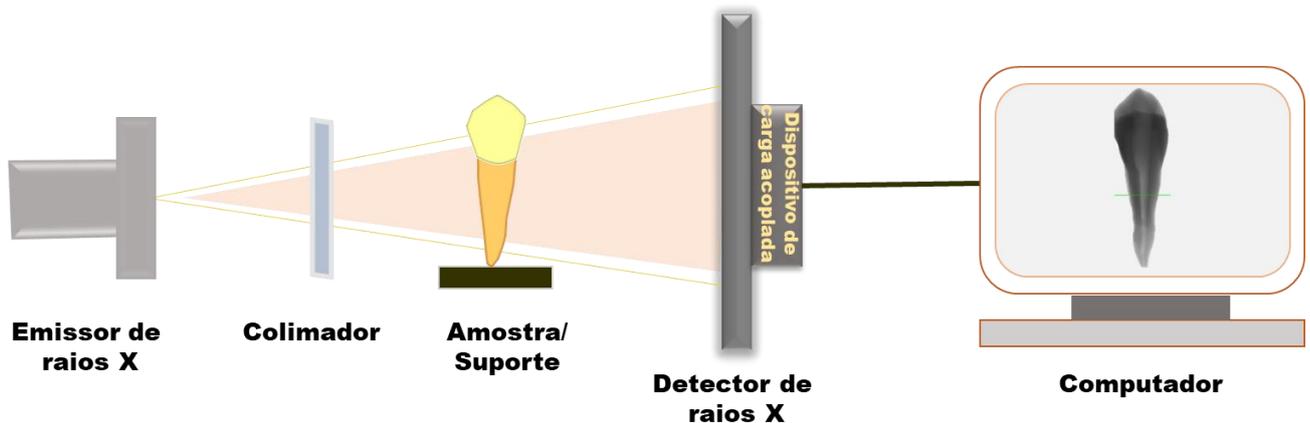
Dentro dos critérios de inclusão foram considerados artigos publicados nos últimos 20 anos, disponibilizados na íntegra e nos idiomas português, inglês e espanhol. Trabalhos que não se enquadravam com o objetivo da pesquisa ou não estivessem disponibilizados na íntegra foram excluídos.

## 3. Resultados e Discussão

### Microtomografia Computadorizada:

A microtomografia computadorizada é uma tecnologia reprodutível e não destrutiva, permitindo realizar análises quantitativas e qualitativas de uma mesma amostra em alta resolução (Campioni et al., 2020). Foi descoberta no início da década de 1980, porém o primeiro aparelho foi disponibilizado comercialmente em 1994 (Bjørk & Kvaal, 2018). A imagem microtomográfica é obtida a partir da emissão de raios X gerados pelo emissor microfocal, posteriormente essa radiação passa pelo colimador e atravessa o espécime. A radiação é atenuada de acordo com a composição e densidade do material ou tipo de amostra. Esta atenuação é medida pelo detector de raios X que contém um dispositivo de carga acoplada (CCD), o qual propicia a transformação da radiação em luz visível (Boerckel et al., 2014). Dessa forma, a luz atingida pelo CCD emite um sinal eletrônico que permite a digitalização e envio da imagem ao computador (Figura 1) (Boerckel et al., 2014). Micro-CT demonstrou seu potencial em diversas áreas da investigação (Boerckel et al., 2014; Sousa-Neto et al., 2018; Bjørk & Kvaal, 2018; Campioni et al., 2020; Oliveira et al., 2021), e até mesmo na prática forense (Rutty et al., 2013). Além disso, o escaneamento sem a limpeza íntegra das amostras, o registro permanente das imagens, o retorno dos restos mortais e a confecção de réplicas virtuais de alta qualidade são apontados como vantagens da micro-CT (Rutty et al., 2013; Campioni et al., 2020). Por outro lado, esta tecnologia apresenta certas limitações, como alto custo do aparelho, tempo de escaneamento, tamanho de amostra reduzida, softwares e algoritmos específicos com necessidade de preparo prévio antes do uso (Vandevoort et al., 2004; Maret et al., 2011; Campioni et al., 2020), além de restrições quando utilizado amostras *in-vivo* (Asami et al., 2019).

**Figura 1.** Imagem representativa da obtenção de imagem microtomográfica.



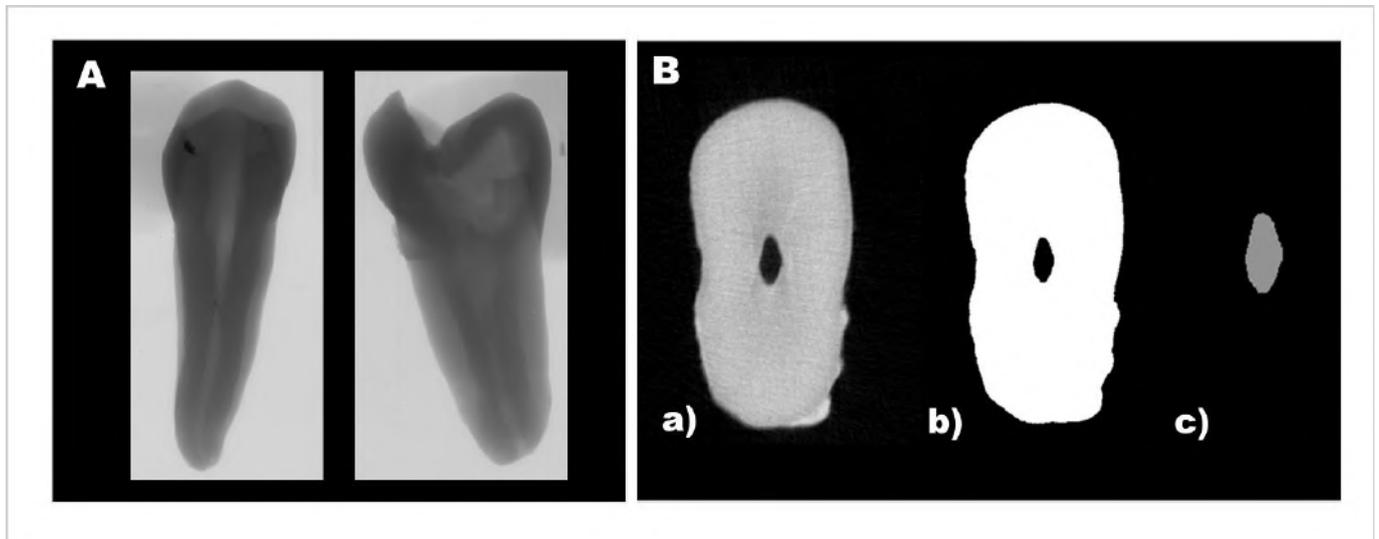
Fonte: Elaboração própria.

### **Estimativa de idade através de medidas em dentes:**

Os dentes são estruturas resistentes ao tempo e diferentes condições ambientais (Bjørk & Kvaal, 2018; Kuhnen et al., 2021), além de apresentarem um processo envelhecimento singular (Vandervoort et al., 2004). As modificações relacionadas com a idade são observadas sobretudo no complexo dentinopulpar, comparado ao no esmalte (Vandervoort et al., 2004; Someda et al., 2009; Nudel et al., 2020). Métodos radiográficos são comumente usados na estimativa de idade dentaria (Demirjian et al., 1973; Mincer et al., 1993; Kvaal et al., 1995; Cameriere et al., 2004; Gioster-Ramos et al., 2021). No entanto, imagens bidimensionais não representam a morfologia tridimensional dos dentes (Bjørk & Kvaal, 2018; Gioster-Ramos et al., 2021). Dessa forma, o emprego de metodologias utilizando imagens 3D é encorajado (Maret et al., 2011; Ruddy et al., 2013; Bjørk & Kvaal, 2018).

Os primeiros estudos realizados por Vandervoort et al. (2004) e Aboshi et al. (2005) demonstraram o potencial da micro-CT na estimativa da idade com base no volume polpa/dente utilizando dentes uniradiculares. Análises das amostras com software para segmentação e medição do volume do dente, como representado na Figura 2, foram empregadas no estudo de Vandervoort et al. (2004), enquanto cálculos da proporção volume polpa/dente em diferentes regiões foram utilizados por Aboshi et al. (2005). No entanto, o menor número de amostras foi considerado uma limitação em ambos os estudos. Deste modo, Someda et al. (2009), utilizando 155 incisivos centrais inferiores, mostraram maior correlação entre a idade e volume polpa/dente. Além de observarem uma maior relação entre a idade e diminuição do volume polpa/dente em mulheres do que em homens.

**Figura2.** Imagem representativa de análises do volume polpa/dente empregando pré-molares superiores. A. Reconstrução das imagens após escaneamento, B. Análises quantitativas das imagens: a) Corte transversal do dente, b) Segmentação das imagens, c) Análise da área de interesse (polpa).



Fonte: Arquivos pessoais dos autores.

O esmalte é considerado a estrutura mais dura do dente, e em condições fisiológicas não mostra modificações relacionadas à idade. No entanto, condições patológicas ou hábitos parafuncionais podem causar perda irreversível do esmalte (Vandevoort et al., 2004). Métodos empregando micro-CT recomendam a exclusão do esmalte, visto que esta estrutura não tem relação direta com a idade (Someda et al., 2009). Porém, quando associado a métodos de envelhecimento, como a racemização do esmalte, pode trazer benefícios na estimativa da faixa etária (Griffin et al., 2008).

O complexo dentinopulpar é passível de modificações associadas à idade (Vandevoort et al., 2004). Deposição de dentina secundária e translucidez da dentina são parâmetros confiáveis na estimativa de idade, especialmente em adultos (Arora et al., 2016; Nudel et al., 2020). Ademais, o alto conteúdo de matriz orgânica na dentina secundária possibilita análises quantitativas confiáveis, quando aplicadas metodologias em alta resolução (Agematsu et al., 2010; Nudel et al., 2020). O estudo de Nudel et al. (2020) avaliou o padrão de crescimento da dentina secundária em 77 pré-molares inferiores empregando micro-CT. O volume da dentina secundária/primária e a espessura da dentina secundária foram comparados com o volume de polpa/dentina de todo o dente, considerado como padrão ouro. Os autores demonstraram que medições da dentina secundária apresentaram um índice de sucesso de 82% na estimativa de idade, em comparação com o método de referência padrão ouro de 54% no intervalo de  $\pm 10$  anos.

Alterações morfológicas dos dentes podem influenciar na acurácia da estimativa de idade (Aboshi et al., 2010; Agematsu et al., 2010; Asami et al., 2019). Incisivos centrais inferiores apresentam menor diversidade morfológica do que outros dentes permanentes, mostrando maior confiabilidade na estimativa da faixa etária (Someda et al., 2009; Agematsu et al., 2010). Pré-molares superiores e inferiores são considerados na estimativa de idade, visto que as alterações morfológicas e padrões oclusais são mínimas (Asami et al., 2019). Aboshi et al. (2010) relataram maior correlação entre a idade e o volume da polpa, quando utilizados pré-molares inferiores. Por outro lado, o estudo desenvolvido por Asami et al. (2019) observaram uma maior acurácia na estimativa de idade em segundos pré-molares superiores em comparação com os primeiros pré-molares superiores e inferiores.

Imagens tridimensionais proporcionam uma interpretação adequada das estruturas dentais (Campioni et al., 2020). O volume da dentina e da câmara pulpar, assim como da coroa e da raiz, é considerado essencial para a estimativa de idade

(Asami et al., 2019). Após obtidos esses dados, análises de regressão linear são aplicadas para estimar a faixa etária em que o volume é considerado a variável independente e a idade a variável dependente (Valsecchi et al., 2019; Asami et al., 2019). Além disso, o coeficiente de estimativa ( $R^2$ ) e o desvio padrão dos dados são empregados para verificar a precisão das equações na estimativa da faixa etária. Vários estudos utilizando esta metodologia demonstraram uma maior acurácia na correlação da idade com o volume polpa/dente (Vandevoort et al., 2004; Aboshi et al., 2005; Someda et al., 2009; Aboshi et al., 2010; Agematsu et al., 2010; Asami et al., 2019).

#### **Estimativa de idade através de medidas em esqueleto humano:**

O esqueleto humano apresenta características mecânicas e morfológicas que se modificam ao longo do tempo (McGivern et al., 2020). Diferentes metodologias são empregadas para estimativa de idade utilizando esqueletos humanos (Buckberry & Chamberlain, 2002; Wade et al., 2011; Denguette et al., 2017), porém as diferenças entre indivíduos jovens e adultos devem ser consideradas (Pham et al., 2021). O desenvolvimento dentário e o crescimento esquelético são analisados na estimativa de idade em jovens (Franklin, 2010), atingindo bons resultados. No entanto, a estimativa da faixa etária em adultos torna-se desafiadora, visto que as alterações degenerativas afetam a resistência, estrutura interna, física e mecânica de ossos como costelas, suturas cranianas, fêmur ou tíbia (McGivern et al., 2020; Pham et al., 2021). A clavícula é considerada a estrutura óssea comumente empregada para estimativa da faixa etária em adultos, devido ao seu grau de maturação prolongada (Milenkovic et al., 2013; Wittschieber et al., 2016; Rudolf et al., 2018).

Avaliações da arquitetura trabecular no fêmur, úmero, clavícula e púbis são realizadas para estimativa da faixa etária por meio de técnicas radiográficas (Szilvassy & Kritscher, 1996; Macchiarelli & Bonioli, 1994). Este método é considerado prático e acessível, porém apresenta baixa resolução de contraste (Wade et al., 2011). Histomorfometria do tecido ósseo é outra metodologia que permite analisar o volume ósseo trabecular com relação à idade do indivíduo. Além disso, este método é considerado padrão ouro para análises quantitativas e qualitativas de doenças ósseas metabólicas (Deguette et al., 2017). No entanto, com o intuito de complementar ou melhorar essas metodologias, a micro-CT foi incorporada na pesquisa forense.

Micro-CT proporciona análises objetivas e quantitativas na estimativa de idade à morte quando são utilizados esqueletos humanos (Wade et al., 2011; McGivern et al., 2020). Prévios estudos mostraram aplicação de micro-CT na estimativa de idade utilizando o terço medial da clavícula (McGivern et al., 2020), fragmento ósseo ilíaco (Deguette et al., 2017), extremidade da costela e púbis (Rutty et al., 2013). O volume do osso trabecular, assim como as mensurações da profundidade ou a distância entre as costelas, por meio de softwares específicos, pode proporcionar adaptações da faixa etária tradicional para a estimativa de idade (Rutty et al., 2013; Deguette et al., 2017). Dessa forma, os autores apontaram a micro-CT como uma alternativa promissora, além de fornecer dados que possam servir para futuras pesquisas.

#### **4. Considerações Finais**

A micro-CT é apontada como uma alternativa confiável, podendo otimizar a estimativa de idade através de medidas em dentes e esqueletos humanos. É considerada uma alternativa para criar ou complementar metodologias através de análises quantitativas em alta resolução. No entanto, mais estudos são imprescindíveis para um melhor entendimento desta tecnologia na prática forense.

#### **Agradecimentos**

O presente trabalho foi realizado com apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) - 141235/2020-9 e da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

## Referências

- Aboshi, H., Takahashi, T., Komuro, T., & Fukase, Y. (2005). A method of age estimation based on the morph metric analysis of dental pulp in mandible first premolars by means of three-dimensional measurements taken by micro CT. *Nihon Univ. Dent. J.* 79, 195–203.
- Aboshi, H., Takahashi, T., & Komuro, T. (2010). Age estimation using microfocus X-ray computed tomography of lower premolars. *Forensic Sci Int.* 200(1-3), 35-40.
- Agematsu, H., Sameda, H., Hashimoto, M., Matsunaga, S., Abe, S., Kim, H. J., Koyama, T., Naito, H., Ishida, R., & Ide, Y. (2010). Three-dimensional observation of decrease in pulp cavity volume using micro-CT: age-related change. *Bull Tokyo Dent Coll.* 51(1), 1-6.
- Arora, J., Talwar, I., Sahni, D., & Rattan, V. (2016). Secondary dentine as a sole parameter for age estimation: comparison and reliability of qualitative and quantitative methods among North Western adult Indians. *Egypt J Forensic Sci.* 6(2), 170–178.
- Asami, R., Aboshi, H., Iwawaki, A., Ohtaka, Y., Odaka, K., Abe, S., & Saka, H. (2019). Age estimation based on the volume change in the maxillary premolar crown using micro CT. *Leg Med (Tokyo).* 37, 18-24.
- Baryah, N., Krishan, K., & Kanchan, T. (2019). The development and status of forensic anthropology in India: A review of the literature and future directions. *Med Sci Law.* 59(1), 61-69.
- Bjørk, M. B., & Kvaal, S. I. (2018). CT and MR imaging used in age estimation: a systematic review. *J Forensic Odontostomatol.* 36(1), 14-25.
- Boerckel, J. D., Mason, D. E., McDermott, A. M., & Alsberg, E. (2014). Microcomputed tomography: Approaches and applications in bioengineering. *Stem Cell Res. Ther.* 5(6), 144.
- Buckberry, J., & Chamberlain, A. (2002). Age estimation from the auricular surface of the ilium: a revised method. *Am J Phys Anthropol.* 119(3), 231-239.
- Cameriere, R., Ferrante, L., & Cingolani, M. (2004). Variations in pulp/tooth area ratio as an indicator of age: a preliminary study. *J Forensic Sci.* 49(2), 317–319.
- Campioni, I., Pecci, R., & Bedini, R. (2020). Ten Years of Micro-CT in Dentistry and Maxillofacial Surgery: A Literature Overview. *Applied Sciences.* 10(12), 4328.
- Deguette, C., Ramond-Roquin, A., & Rougé-Maillart, C. (2017). Relationships between age and microarchitectural descriptors of iliac trabecular bone determined by microCT. *Morphologie.* 101(333), 64-70
- Demirjian, A., Goldstein, H., & Tanner, J. M. (1973). A new system of dental age assessment. *Hum Biol.* 45(2):211-27.
- Franklin, D. (2010). Forensic age estimation in human skeletal remains: current concepts and future directions. *Leg Med (Tokyo).* 12(1), 1-7.
- Gioster-Ramos, M. L., Silva, E. C. A., Nascimento, C. R., Fernandes, C. M. S., & Serra, M. C. (2021) Técnicas de identificação humana em Odontologia Legal. *Res. Soc. Develop.* 10(3), e20310313200.
- Griffin, R. C., Moody, H., Penkman, K. E., Fagan, M. J., Curtis, N., & Collins, M. J. (2008). A new approach to amino acid racemization in enamel: testing of a less destructive sampling methodology. *J Forensic Sci.* 53(4), 910-916.
- Kuhnen, B., Fernandes, C. M. S., Barros, F., Andrade, J. M., Scarso Filho, J., Gonçalves, M., & Serra, M. C. (2021) Age estimation by analysis of dental mineralization and its forensic contribution. *Res. Soc. Develop.* 10(11), e598101119481.
- Kvaal, S. I., Kolveit, K. M., Tomsen, I. O., & Solheim, T. (1995). Age estimation of adults from dental radiographs. *Forensic Sci Int.* 74(3), 175–185.
- Macchiarelli, R., & Bonioli, L. (1994). Linear densitometry and digital image processing of proximal femur radiographs: implications for archaeological and forensic anthropology. *Am J Phys Anthropol.* 93(1), 109–122.
- Maret, D., Peters, O. A., Dedout, F., Telmon, N., & Sixou, M. (2011). Cone-Beam Computed Tomography: a useful tool for dental age estimation? *Med Hypotheses.* 76(5), 700-702.
- McGivern, H., Greenwood, C., Márquez-Grant, N., Kranioti, E. F., Xhemali, B., & Zioupos, P. (2020). Age-Related Trends in the Trabecular Micro-Architecture of the Medial Clavicle: Is It of Use in Forensic Science? *Front Bioeng Biotechnol.* 7, 467.
- Milenkovic, P., Djukic, K., Djonic, D., Milovanovic, P., & Djuric, M. (2013). Skeletal age estimation based on medial clavicle—a test of the method reliability. *Int. J. Legal Med.* 127(3), 667–676.
- Mincer, H. H., Harris, E. F., & Berryman, H. E. (1993). The A.B.F.O. Study of Third Molar Development and Its Use As an Estimator of Chronological Age. *J Forensic Sci.* 38(2), 379-390.
- Nudel, I., Pokhojaev, A., Hausman, B. S., Bitterman, Y., Shpack, N., May, H., & Sarig, R. (2020). Age estimation of fragmented human dental remains by secondary dentin virtual analysis. *Int J Legal Med.* 134(5), 1853-1860.
- Oliveira, K. V. de, Tomazinho, F. S. F., Santos, V. R. dos, Silva, W. J. da, Kublitski, P. M. de O., Gabardo, M. C. L., Mattos, N. H. R., & Baratto-Filho, F. (2021). Assessment of the shaping ability of three systems used in long oval canals. *Research, Society and Development.* 10 (11), e349101119593.
- Pham, C. V., Lee, S. J., Kim, S. Y., Lee, S., Kim, S. H., & Kim, H. S. (2021). Age estimation based on 3D post-mortem computed tomography images of mandible and femur using convolutional neural networks. *PLoS One.* 16(5):e0251388.
- Rudolf, E., Kramer, J., Schmidt, S., Vieth, V., Winkler, I., & Schmeling, A. (2018). Intraindividual incongruences of medially ossifying clavicles in borderline adults as seen from thin-slice CT studies of 2595 male persons. *Int. J. Legal Med.* 132(2), 629–636.

- Rutty, G. N., Brough, A., Biggs, M. J., Robinson, C., Lawes, S. D., & Hainsworth, S. V. (2013). The role of micro-computed tomography in forensic investigations. *Forensic Sci Int.* 225(1-3), 60-66.
- Schmeling, A., Grundmann, C., Fuhrmann, A., Kaatsch, H. J., Knell, B., Ramsthaler, F., Reisinger, W., Riepert, T., Ritz-Timme, S., Rösing, F. W., Röttscher, K., & Geserick, G. (2008). Criteria for age estimation in living individuals. *Int J Legal Med.* 122(6), 457-60.
- Someda, H., Saka, H., Matsunaga, S., Ide, Y., Nakahara, K., Hirata, S., & Hashimoto, M. (2009). Age estimation based on three-dimensional measurement of mandibular central incisors in Japanese. *Forensic Sci Int.* 185(1-3), 110-114.
- Sousa-Neto, M. D., Silva-Sousa, Y. C., Mazzi-Chaves, J. F., Carvalho, K. K. T., Barbosa, A. F. S., Versiani, M. A., Jacobs, R., & Leoni, G. B. (2018). Root canal preparation using micro-computed tomography analysis: a literature review. *Braz Oral Res.* 32(suppl 1), e66.
- Szilvassy, J., & Kritscher, H. (1996). Estimation of chronological age in man based on the spongy structure of long bones. *Anthropol Anz.* 48(3), 289-98.
- Vandevoort, F. M., Bergmans, L., Van Cleynenbreugel, J., Bielen, D. J., Lambrechts, P., Wevers, M., Peirs, A., & Willems, G. (2004). Age calculation using X-ray microfocus computed tomographical scanning of teeth: a pilot study. *J Forensic Sci.* 49(4), 787-790.
- Valsecchi, A., Irurita Olivares, J., & Mesejo, P. (2019). Age estimation in forensic anthropology: methodological considerations about the validation studies of prediction models. *Int J Legal Med.* 133(6), 1915-1924.
- Veras, N. P., Abreu-Pereira, C. A., Kitagawa, P. L. V., Costa, M. A., Lima, L. N. C., Costa, J. F., & Casanovas, R. C. (2021). Evaluation of an age estimate method by dental mineralization of third molars. *Research, Society and Development.* 10(7), e19410716524.
- Wade, A., Nelson, A., Garvin, G., & Holdsworth, D. W. (2011). Preliminary radiological assessment of age-related change in the trabecular structure of the human os pubis. *J Forensic Sci.* 56(2), 312-319.
- Wittschieber, D., Ottow, C., Schulz, R., Püschel, K., Bajanowski, T., Ramsthaler, F., Pfeiffer, H., Vieth, V., Schmidt, S., & Schmeling, A. (2016). Forensic age diagnostics using projection radiography of the clavicle: a prospective multi-center validation study. *Int J Legal Med.* 130(1), 213-219.