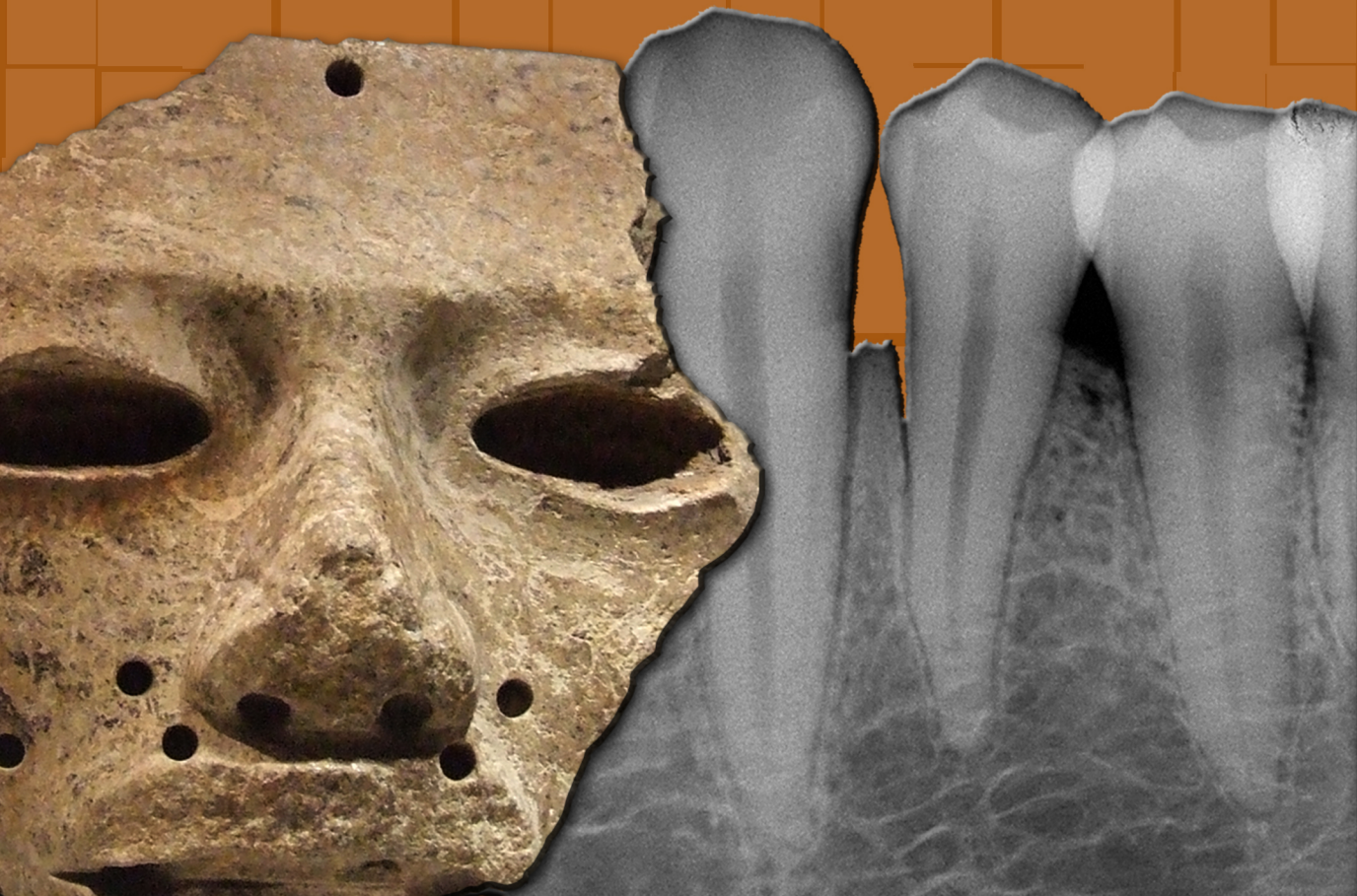


STEFANO DE LUCA

# IDENTIFICACIÓN HUMANA EN ANTROPOLOGÍA FORENSE: APORTACIONES PARA LA ESTIMACIÓN DE SEXO Y EDAD



LABORATORIO DE ANTROPOLOGÍA



Editor: Editorial de la Universidad de Granada  
Autor: Stefano de Luca  
D.L.: GR 1561-2012  
ISBN: 978-84-9028-008-9





**UNIVERSIDAD DE GRANADA**

**FACULTAD DE MEDICINA**

**LABORATORIO DE ANTROPOLOGÍA**

**IDENTIFICACIÓN HUMANA  
EN ANTROPOLOGÍA FORENSE:  
APORTACIONES PARA  
LA ESTIMACIÓN DE SEXO Y EDAD**

TESIS DOCTORAL

**STEFANO DE LUCA**

**Dirección:**

**PROF. DR. MIGUEL C. BOTELLA LÓPEZ**

**PROF. DRA. INMACULADA ALEMÁN AGUILERA**

GRANADA, 2011





# UNIVERSIDAD DE GRANADA

FACULTAD DE MEDICINA

LABORATORIO DE ANTROPOLOGÍA

El Doctor Miguel C. Botella López, Profesor Catedrático del Laboratorio de Antropología de la Facultad de Medicina de la Universidad de Granada

## CERTIFICA:

Que D. Stefano De Luca, licenciado en Arqueología, ha realizado bajo mi dirección los trabajos de su Tesis Doctoral: **“Identificación humana en Antropología Forense: aportaciones para la estimación de sexo y edad”**. La Tesis ha sido revisada por el que subscribe, por lo tanto estimo que reúne las condiciones para ser presentada a defensa pública ante Tribunal con el objetivo de optar al grado de Doctor.

Y para que así conste y surta sus efectos en el expediente correspondiente, se expide la presente con el Visto Bueno del Director de la Tesis Doctoral.

Granada, a 30 de junio 2011





# UNIVERSIDAD DE GRANADA

FACULTAD DE MEDICINA

LABORATORIO DE ANTROPOLOGÍA

La Doctora Inmaculada Alemán Aguilera, Profesora Titular del Laboratorio de Antropología de la Facultad de Medicina de la Universidad de Granada

## CERTIFICA:

Que D. Stefano De Luca, licenciado en Arqueología, ha realizado bajo mi dirección los trabajos de su Tesis Doctoral: **“Identificación humana en Antropología Forense: aportaciones para la estimación de sexo y edad”**. La Tesis ha sido revisada por el que subscribe, por lo tanto estimo que reúne las condiciones para ser presentada a defensa pública ante Tribunal con el objetivo de optar al grado de Doctor.

Y para que así conste y surta sus efectos en el expediente correspondiente, se expide la presente con el Visto Bueno del Director de la Tesis Doctoral.

Granada, a 30 de junio 2011





**“El que lee mucho y anda mucho,  
ve mucho y sabe mucho”.**

Miguel De Cervantes Saavedra

Don Quijote de la Mancha (1605)



## ÍNDICE

<b>Prólogo</b> .....	<b>1</b>
<b>Agradecimientos</b> .....	<b>13</b>
<b>Justificación y objetivos</b> .....	<b>25</b>
<b>Capítulo 1. Los dientes: anatomía e histología</b> .....	<b>41</b>
<b>Capítulo 2. Anatomía osteo-articular del carpo</b> .....	<b>83</b>
<b>Capítulo 3. Age estimation by pulp/tooth ratio in canines by peri-apical X-rays: reliability in age estimation of Spanish and Italian medieval skeletal remains</b> .....	<b>103</b>
<b>Capítulo 4. Age-at-death estimation by pulp/tooth area ratio in canines: study of a 20th century Mexican sample of prisoners to test Cameriere's method</b> .....	<b>135</b>
<b>Capítulo 5. Accuracy of three age estimation methods in children by measurements of developing teeth, and carpals and epiphyses of the ulna and radius</b> .....	<b>163</b>
<b>Capítulo 6. Sex assessment from the carpal bones: discriminant function analysis in a 20<sup>th</sup> century Spanish sample</b> .....	<b>193</b>
<b>Capítulo 7. Sex assessment from carpal bones: discriminant function analysis in a contemporary Mexican sample</b> .....	<b>223</b>
<b>Resumen</b> .....	<b>277</b>
<b>Discusión</b> .....	<b>285</b>
<b>Conclusiones</b> .....	<b>319</b>

<b>Epílogo</b> .....	<b>323</b>
<b>Bibliografía</b> .....	<b>327</b>



# **PRÓLOGO**



Este trabajo es el resultado final de una larga trayectoria de aprendizaje y formación, que empezó en Granada en el año 2007 y que todavía no ha terminado, gracias a mi dedicación, mi curiosidad y a mis ganas de conocer mucho más del mundo de la Antropología Forense. Cuando me marché de Italia, no sabía que iba a ser tan fácil y ameno poder vivir en Granada y, sobre todo, poder compartir cada día de mi vida con personas tan amables y cariñosas como las que ahora son mis grandes amigos, mis mejores amigos.

Desde que empezara a cursar mi carrera de Prehistoria y Arqueología, tuve la oportunidad de dedicarme, de forma regular, al estudio de la Osteología y de sus aplicaciones en ámbito arqueológico, especialmente en el estudio de necrópolis y cementerios antiguos. Además, tuve la suerte de poder contar con los consejos y las recomendaciones de mi Profesor de Antropología Física de la Universidad del Salento (Italia) quien, en todo momento, me animó para que continuara formándome como antropólogo profesional, en Italia o en el extranjero. Una vez descartada la opción Inglaterra, a raíz de mi escasos conocimientos del idioma “bárbaro”, decidí decantarme por la otra opción, es decir España y, más concretamente Granada. Ya hablaba muy bien castellano, aprendido en Sevilla, entre una manzanilla y un olé en la feria de abril, así que sólo tuve que solicitar plaza, mandar mi *curriculum vitae* (o *ridiculum vitae* según Miguel Botella) al Laboratorio de Antropología de la Facultad de Medicina de la Universidad de Granada y dejar pasar el verano.

Tras llamar millones de veces al Laboratorio para preguntar acerca de mi situación y después de conocer, aunque sea por teléfono, a Rosa, Inma y Miguel, finalmente se me comunicó la aceptación de mi solicitud y el acceso “por la puerta grande” a los cursos de Máster



oficial y Doctorado en “Evolución Humana. Antropología Física y Forense”. No me lo podía creer, ya había empezado lo que iba a ser un camino muy largo, lleno de satisfacciones enormes pero también de grandes decepciones y nervios. Tenía que preparar el viaje, las despedidas, emprender nuevas andaduras, dejar atrás mi tierra y dejarme cuidar por el cariño y la excelente amabilidad de los andaluces. Sí señor, otra vez en Andalucía, esta vez en Granada, sede de una de las Universidades más antiguas de España y de Europa. Otra vez en Andalucía, y no en Sevilla “muy bonita por la noche” sino en Granada, bonita de día, de noche y tierra de ensueño en cada minuto de mi mirada hacia ella.

Dedicarse a la Antropología Física es difícil, complicado en cualquier parte del mundo. Sin embargo, en Italia puede serlo aún más, dado que en ninguna parte proporcionaban cursos de formación en esta disciplina, que tuviesen prestigio y renombre como el de Granada. Dejando de lado tristeza y nostalgia, llegué a Granada donde enseguida tuve la posibilidad de incorporarme al Laboratorio de Antropología, dirigido y coordinado por el Profesor Doctor Miguel C. Botella quien me acogió con gran cariño y respeto desde el primer día. En aquella época, este señor barbudo y elegante era una gran referencia mundial, y sigue siéndolo. A raíz de esto, me sentía tremendamente incómodo delante de su barba larga y canosa, tal vez lugar secreto donde guardar experiencias, aventuras, hazañas y chistes inolvidables. Recuerdo que en uno de esos primeros días en su despacho, junto a unos pocos compañeros de estudio (Alejandro, Joan y José), nos espetó unas palabras que han marcado mi vida para siempre y que, quizás, suenen como una de las recomendaciones que más he tenido en cuenta a lo largo de estos años, tanto en lo laboral como en lo privado. Nos

preguntó con aire pícaro: “¿Os vais a morir?”, y le contestamos de forma coral: “Hombre, Don Miguel, por supuesto que sí!” “Yo también”, replicó, luciendo una sonrisa graciosa. “Así que a partir de ahora no me llaméis Don Miguel ni me habléis de usted. Para vosotros soy Miguéee!!!” Ay Migué, cuantos recuerdos!

Inmica, Rosa, Sylvia, Carmen, por cada compañera miles de cosas que recordar y sonrisas que adjuntar. Dos o tres páginas no bastarían para poder contar todo lo bueno que me ha pasado al lado de estas personas. Ellas han sido mis mentores, amigas y confidentes. Ellas han sido gotas de lluvia y copos de nieve, han sido suspiros y sonrisas, puños en la mesa y bostezos letales. Si tuviera que recordar todo, se me desgastarían las teclas del ordenador. Sólo quiero decir que sin ellas no hubiera conocido los matices impensables que una amistad puede tener, los pliegues recónditos que una relación puede esconder. Del sentimiento a la ciencia el camino es breve.

Mi objetivo, desde el principio, era dedicar mi atención y tiempo al estudio de los dientes y su papel en el ámbito de la Antropología Física. Desconociendo la existencia de una disciplina llamada Odontología Forense, y la enorme importancia de esta en el proceso de identificación humana, empecé por lo conocido. Con otro compañero de curso y no sólo, Joan A. Viciano, nos acercamos temerosos al sistema ASUDAS (Arizona State University Dental Anthropology System) de la Universidad de Arizona (EE.UU.) para el análisis de los caracteres no métricos de los dientes. Se trataba de un sistema complejo de clasificación de todos aquellos rasgos morfológicos dentales que, junto a los rasgos no métricos o epigenéticos de los huesos, representa una de las herramientas a disposición del investigador para distinguir las especies humanas que

habitaron nuestros lares y, además, aquellos grupos humanos que viven actualmente en el planeta tierra. Tras un breve paréntesis en Coímbra (Portugal), donde pude profundizar en el estudio de la patología dental y consolidar mi decisión de ser un conocedor meticuloso de los dientes humanos, decidí atreverme con el estudio de los métodos conocidos para la estimación de la edad dental en poblaciones antiguas. Digamos que la curiosidad era muy grande y que, además, iba a poder aplicar por primera vez una nueva tecnología, la radiología peri-apical digital directa. El objetivo era el examen de las estructuras internas de los dientes, tales como cavidad pulpar y dentina, con el fin de comprobar la relación con la edad cronológica de un individuo adulto. Inmaculada Alemán era mi tutora y Roberto Cameriere, del Instituto de Medicina Legal de Macerata (Italia), un odontólogo forense conocido por casualidad en el 2008 y que desde el 2006, con su equipo del “AgEstimation Project”, había estado estudiando y desarrollando un método fácil, rápido y económico para la estimación de la edad en adultos. Tras conversar del tema con este investigador italiano, comencé a dar riendas sueltas a la pesquisa bibliográfica como base para el trabajo de investigación tutelada. Después vinieron las radiografías dentales y la estadística, para el desenlace final de un estudio que constituye el tercer capítulo de esta tesis doctoral. En el capítulo cuatro se muestran los resultados de un estudio llevado a cabo en la Ciudad de México, en el Museo Nacional de Antropología. Dejando de lado las maravillosas colecciones arqueológicas, legado valioso de aquellos pueblos que pasaron por el variopinto territorio mexicano, finalmente pude contar con una colección de esqueletos identificados de detenidos de la Penitenciaría del Estado de la capital mexicana (S. XX d.C.). Digamos que fue una experiencia muy buena,

ya que pude aprender también a revelar placas de radiografías periapicales en el cuarto oscuro del Museo. Aquello olía a productos químicos para el revelado que, junto a la luz suave de las bombillas y al silencio vivo, me relajaban dejándome aturdido todo el día. En el capítulo cinco, nos cambiamos de tema. ¡Stefano, hazles caso a los niños! En estos últimos años, con el equipo de la Universidad de Macerata (Italia), hemos dedicado gran atención al desarrollo de métodos para la estimación de la edad en niños, sobre todo en aquellos de edad comprendida entre 5 y 15 años. El objetivo era conseguir una mayor precisión y fiabilidad en el diagnóstico de la edad de la primera responsabilidad criminal (mínimum age of criminal responsibility) que, según el país, puede variar entre los 7 y los 16 años. Se han estudiado muestras de diversa procedencia para testar el método y desarrollar nuevas fórmulas de regresión, tanto para los dientes como para los huesos del carpo. Estos pequeños huesos han tenido siempre un papel fundamental en el ámbito de la identificación humana por su utilidad en la estimación de la minoría de edad y, actualmente, gracias a distintos estudios, se están revelando muy fiables en la estimación del sexo de individuos adultos.

A partir de allí, se fueron acumulando las experiencias adquiridas y los conocimientos científicos a la vez que cundía mi amistad con el Dr. Roberto Cameriere. Junto a él y a Inmaculada Alemán, sin pasar por alto las aportaciones técnicas de mis compañeros Joan, Javi y Fernando, he ido enriqueciendo mi bagaje antropológico y odontológico, sin el cual esta meta no hubiera sido alcanzada nunca. Sin embargo, no solamente la edad despertó mi curiosidad. Una compañera de estudios, ahora Doctora y vecina de Cuernavaca (Ciudad de México, D.F.), la “ciudad de la primavera”, empezaba en aquel

entonces su investigación sobre funciones discriminantes para la estimación del sexo en adultos con medidas de los huesos del carpo. Quién me iba a decir a mí que unos huesecillos de ese tamaño aportarían datos de gran precisión y utilidad a la investigación arqueológica y forense. Dos de los capítulos de esta tesis deben su vida justamente a ocho huesos de la mano. Como se suele decir, “pequeños pero matones”.

Con respecto a este trabajo final, mantiene la estructura clásica de una tesis doctoral, con sus agradecimientos, introducción, discusión y conclusiones. En él, se ha querido juntar los esfuerzos y los primeros frutos de estos cuatro años de investigación, desde mis primeros tartamudeos antropológicos hasta mi primera charla despojada de fallos técnicos y estructurales. ¡Un peñazo, vamos! Sin embargo, este estudio ha de ser visto también desde otra perspectiva, la de un formato nuevo, más reciente, en el que se pretende dar prioridad a los resultados alcanzados más que a los antiguos e inútiles ríos de tinta que, durante años, han llenado montañas de papel y almacenes sombríos. Cada capítulo, menos la introducción, representa un artículo independiente, con su metodología, apartados y nomenclatura propios. Al principio de cada uno de ellos, se ha indicado su referencia original, con la revista de procedencia y el año de publicación. Ellos son el fruto de la colaboración con autores de otros países y en este sentido también habría que valorarlos. Los distintos estudios (capítulos) suponen objetivos diferentes que, juntos, pretenden confluir en el único objetivo final de aportar un granito de arena a la investigación forense y, en concreto, al proceso de identificación humana.

Uno de los descubrimientos de esta tesis, hecho a lo largo de múltiples lecturas, ha sido que en los estudios arqueológicos y

forenses no es correcto hablar de determinación de sexo y edad sino de estimación o diagnóstico de los mismos, lo que los antropólogos forenses de lengua inglesa definen “sex or age assessment”. Vaya! Nunca nadie me lo había dicho. De hecho, en la literatura forense la mayoría usa el término determinación. Sin embargo, en estos últimos años, se ha considerado oportuno remplazarlo con la palabra estimación. Lo que hacemos los antropólogos físicos y forenses no es determinar (fijar con precisión) sino intentar estimar (supone un rango de error) morfológicamente o cuantitativamente dos de los parámetros fundamentales del proceso de identificación humana, el sexo y la edad biológica. Sin ellos, no sería posible abordar ningún análisis adecuado de la identidad de un sujeto, ya sea vivo o muerto. Sólo podríamos entreabrir la puerta y quedarnos mirando desde lejos la complejidad de los casos a los que nos enfrentamos en el día a día, tanto en el ámbito arqueológico como físico y forense.

Otro detalle gracioso (en realidad no soy el primero en percatarme de eso) es que los revisores de los artículos científicos son anónimos porque si no lo fuesen, estarían todavía corriendo por tierras exóticas a la búsqueda de una nueva identidad (¡A propósito de identificación!). No, mentira, es simple cachondeo! La verdad es que, gracias a ellos, he podido dar mis primeros pasos por el mundillo.

Para terminar, quiero añadir, sin referencia a personas o cosas reales, que, como decía el padre de un amigo mío, “en este mundo tiene que haber de todo”.





## **AGRADECIMIENTOS**





A todos los compañeros que en estos años se han ido asomando al balcón de mi vida granadina, tanto en el Laboratorio de Antropología de la Facultad de Medicina de la Universidad de Granada como fuera de él. Hacer una lista de todos los nombres sería complicado porque ha habido muchos compañeros y muchas han sido las horas pasadas juntos. Miles de gracias a todos. Sin embargo, entre ellos ha habido algunos que finalmente se han convertido en mis mejores amigos y a estos sí hay que nombrarlos, debido al especial cariño que les tengo, desde hace ya unos años. No voy a ponerlos en orden de importancia porque todos me han proporcionado amistad y apoyo, y esto es lo más importante de todo.

A Joan Antoni Viciano Badal, para mi Antoñito, el hermano ligón. Con él hemos compartido muchas horas, muchos momentos destacados tanto en Granada como en el extranjero, y muchas emociones y sentimientos. Sin olvidar las horas de trabajo o de congresos durante las cuales nos hemos reído sin parar, y los que nos conozcan lo saben muy bien. Miles de gracias por tu complicidad, amistad, disponibilidad enormes.

A José Antonio Algarrada Largo, “el Nono”, y a su familia que desde que los conociera en Sevilla, en el año 2001, han sido para mí mi segunda familia. A sus padres por la generosidad y el cariño, a sus hermanas por los momentos de gran diversión, y a ti José por todo lo que hemos pasado juntos, las conversaciones estrambóticas, las faldas perseguidas, la filosofía de vida y mucho más... gracias por todo, de corazón. ¡Os quiero una hartá!

A Fernando Navarro Merino, Hernandooooowwwwu!!! Para mí un amigo imprescindible, un hermano mayor, una persona cuya generosidad se esconde detrás de un carácter aparentemente esquivo y tímido. Gracias por todos tus consejos, tus recomendaciones técnicas, tu apoyo en aquellos momentos más complicados, a la vuelta de México, a la vuelta de la tristeza. Tal vez, sin ti no hubiera podido seguir adelante pero gracias a ti estoy aquí con la persona que más quiero en el mundo.

A Ali, mujer de Fernando, amiga y hermana. Gracias a ti y a tus valiosos consejos he podido aprovechar de la mejor forma todos los momentos y las experiencias vividos, desde la más triste hasta la más divertida. Tus palabras dulces y tus sonrisas son perlas inolvidables. A Fernandico, su niño, por ser tan guapo y por no tener todavía la perilla del padre!

A Carmina Grande, Fernando Grande, Carmina Pequeña, David Grande y David Pequeño, es decir, a la familia de Fernando Navarro, por todos los momentos inolvidables pasados juntos, desde el mundial del 2010, momento de gran felicidad para todos vosotros y para un guiri como yo, hasta las comidas con huevos fritos y patatas que me habéis ofrecido. Nunca sobrarán las palabras para deciros que os quiero mucho.

A Juliana, Anabel, Zita, Ana, Luz, Ariagna, Sebastián, Lorena, Almir, que en estos años no habéis dejado de darme consejos y amistad, por todos los momentos especiales pasados en ese Laboratorio, por las discusiones y las sonrisas que hemos compartido con tanta intensidad.

A Paola por los buenos trabajos que hemos conseguido realizar juntos y por los buenos recuerdos que siempre quedan.

A Mirjiana, mujer fuerte y alegre, de aspecto severo y con un corazón enorme, grande como su generosidad. Gracias por los buenos momentos pasados juntos en ese Laboratorio tan especial y fuera de él, donde más hemos podido compartir momentos inolvidables.

A Javier Irurita Olivares, qué es tu vida? El señorito andaluz, distinguido señor, personaje histriónico y amigo, con quien hemos compartido comidas, risas, manzanas rojas y verdes, desayunos, paseos por Granada, películas, cochinitos, noches estrelladas y excursiones nocturnas por la montaña, consejos culinarios, visitas turísticas y desvíos inesperados pero con final agradable. Todavía queda mucho por compartir, un abrazo muy grande y gracias por todo.

A Pedro e Inés, mis mejores amigos portugueses, personas muy generosas. Tan callada ella como tan hablador Pedrinho, siempre disponibles en cualquier momento que he necesitado su ayuda. En Granada hemos compartido momentos muy bonitos y divertidos, y sobre todo muy buenas comidas nocturnas y raciones de caracoles. Va por vosotros también, un abrazo y gracias por todo lo que me habéis regalado.

A Juan Pablo Diéguez, mi Juan Pablo de Lucena, por una virtud que tiene y que raramente podemos encontrar en una persona, su extraordinaria generosidad. Siempre con su barba canosa, es uno de los mejores colegas que he tenido en Granada primero y en Lucena después. Con él han sido más llevaderos el estudio de los restos de la

necrópolis judía de Lucena y las tardes calurosa de verano. ¿Qué pasa familia?

A Sandra y Mathilda, mis ex compañeras de piso y muy buenas amigas, muy reservada la primera y muy extrovertida la segunda. Siempre me acordaré de las noches en el piso y de nuestros karaokes en la sala, despertando a todos los vecinos. Gracias por vuestras sonrisas y vuestro gran apoyo.

A Chema, ahora Guardia Civil y amante de las lentejas del comedor universitario de Granada. Con él hemos podido derretirnos al calor agobiante de Córdoba, durante una de nuestras excursiones laborales por la bella ciudad a la orilla del Guadalquivir. Siempre me acordaré de sus comentarios divertidos sobre los molletes rellenos de mantecados o las gambas en gabardina de Antequera. Gracias por tu gran amistad.

A la Dra. Tzipi Kahana, por sus recomendaciones y consejos antropológicos durante sus estancias en España, en el Laboratorio de Antropología, donde, junto a los demás amigos, hemos vivido momentos muy divertidos. Gracias Tzipi por tu gran simpatía y amabilidad.

A la Dra. Odontóloga Candela Reyes Botella y a su colaboradora por la ayuda fundamental a la hora de realizar las radiografías de los dientes de las muestras arqueológicas. Gracias de corazón.

A las Doctoras Eugenia Cunha y Sofía N. Wasterlain, por su apoyo imprescindible durante mi última estancia en el Museo de

Antropología de la Universidad de Coímbra (Portugal). A Eugenia por su gran profesionalidad y honestidad intelectual, a Sofía porque me ha enseñado muchísimo durante mi primera estancia en Portugal en el 2007 y porque todavía representa para mí una personalidad científica de gran nivel en el ámbito de la Antropología Dental. La ayuda de las dos ha sido fundamental.

A mis amigos de Barcelona, Raef, Dani, Inma, Sergio, Marc, Iris, Judit, Gretell, Andrés, Bego, por las noches en las que hemos estado echando unas cervecillas, y a los compañeros del Instituto Catalán de Paleontología, Xavi, Nekane, María, Marta Pina, Marta Palmero, David por los buenos momentos pasados juntos y al Doctor Salvador Moyà Solà por haberme acogido, las veces que he estado trabajando en su Instituto, como uno de vosotros. Gracias por hacer que me sintiera a gusto.

A Alessio y Esmeralda, dos grandes amigos con los que he tenido la suerte de coincidir primero en Granada y ahora, gracias a las vueltas del destino, también en Barcelona. Vuestra amistad y cariño son de gran importancia para mí, así como la alegría y la simpatía que desprendéis. ¡Gracias de corazón!

A Laila y a sus niños, porque son unas personas que quiero mucho y que me han acompañado en los momentos de soledad en la casa, simplemente estando ahí arriba! Gracias a Victoria y a Nico por jugar y pasar juntos unos momentos muy divertidos conmigo.

A Joan Mus y Montse, nuestros vecinos, personas únicas, generosas, con las que te puedes encontrar sólo raras veces en tu vida. A ellos les debo una muy grande, les debo una gran oportunidad que

sabré aprovechar de la mejor manera posible. Gracias por estar a mi lado, con vuestra alegría y vuestra grandísima disponibilidad.

A Roberto Cameriere, padre científico y gran amigo. Con él hemos compartidos los trabajos más importantes y las publicaciones más difíciles. Ahora, gracias a sus consejos y recomendaciones, puedo seguir aprovechando mi inquietud y mi curiosidad científica. Desde luego, una persona muy generosa y única en todas sus facetas, desde la deportiva hasta la científica e investigadora.

A las Doctoras Rosa Maroto, Sylvia Jiménez y Carmen García por su amistad que sigue siendo muy grande a pesar de la distancia, por las horas en las que nos hemos reído mucho de los demás y de nosotros, por las buenas comidas en casa de Carmen y de Rosa, por los consejos que siempre me habéis ido brindando a lo largo de esta andadura llena de experiencias inolvidables. De cada una de vosotras guardo una sonrisa especial, una palabra valiosa, una mirada amable.

A Daniel Botella Ortega, y a su equipo del Laboratorio de Arqueología del Museo Arqueológico y Etnológico del Ayuntamiento de Lucena (Córdoba), Antonio, Natalia y Rafa, por la oportunidad que nos habéis brindado de trabajar con vosotros en un ambiente ameno y divertido, donde las risas y las horas de intenso trabajo han formado parte imprescindible de nuestra estancia en un pueblo tan bonito como Lucena. ¡Grasía familia!

A todos los compañeros e investigadores de la Dirección de Antropología Física del INAH (Instituto Nacional de Antropología e Historia) de la Ciudad de México: Xavier, José Antonio, Fernando, Josefina Bautista, Carmen Pijoan, María Elena, Concho, por su gran

amabilidad y apoyo durante mi estancia en México. Gracias por el cariño de todos los días.

A Elena, Alex y Sylvia, buenos compañeros y amigos que hicieron más llevadera, con sus sonrisas, mi estancia en el Museo Nacional de Antropología de la Ciudad de México.

Al Maestro Adrián, a Janet y su marido que siempre han estado allí, tanto en los buenos como en los malos momentos, brindándome una ayuda enorme y un apoyo incondicional.

A la Doctora Josefina Mansilla, Profesora de Antropología Física del Instituto Nacional de Antropología e Historia de México e Investigadora del Museo Nacional de Antropología. Si no hubieses estado ahí, en algunos momentos, no habría podido llevar a cabo mis estudios. Gracias por tu ayuda y por escucharme cuando más lo necesitaba.

A Miguel Botella, por todo lo que me ha ido ofreciendo a lo largo de estos años, en lo material y en lo moral: amistad, cariño, generosidad, simpatía, alegría, consejos, recomendaciones, discusiones, nervios, disponibilidad indefinida, sonrisas, chistes, horas de clase, excavaciones, cenas, comidas, coche, apoyo, todo sin ningún tipo de interés. Han sido unos años verdaderamente inolvidables, desde todos los puntos de vista. ¡Gracias Migué!

A Inmaculada Alemán que además de dirigirme la tesis con gran paciencia ha sido para mí en todo momento una compañera, una gran amiga y una confidente privilegiada. En ella he podido confiar desde el principio de esta andadura. Con ella, como con los demás, he



tenido la suerte de compartir Granada, de día y de noche. A ella le debo mucho de esta tesis, por saber esperar, por haber confiado en mí, siempre.

A Carmen y Ramón, porque me parece que desde el principio hemos hecho buenas migas enseñada. Con ellos el tiempo pasa rápido, gracias a su alegría muy grande, a su generosidad, a su forma de ser. Tal vez, por ser “mayores” que yo, tendría que tenerles más respeto. Sin embargo, al saber cómo soy, tratan de ser más indulgentes conmigo y me miman mucho. Os quiero, campeones!

A Faustino y Lourdes, por todo lo que me han ofrecido, casas, comidas, camas, alegría, diversión, risas, y sobre todo buenas palabras y buenos consejos, todo en un ambiente siempre muy cálido, cariñoso, y lleno de personas disponibles en cualquier momento que lo necesitara. Y miles de gracias, especialmente por “la joya de la casa”.

A Mercedes, José y Mauro que han hecho que me sintiera siempre como uno de la familia. Gracias por todo: por las cenas divertidas, por los maravillosos detalles, por ser siempre tan amables y cordiales. Mauro, eres el mejor!

Ai miei genitori, perché loro hanno fatto e vorranno continuare a fare di tutto affinché un figlio che vive lontano possa essere sereno e possa dedicarsi con tranquillità alle sue passioni. Grazie per essere sempre al mio fianco, nei buoni momenti, ma anche nei momenti più dolorosi, quando si ha più bisogno di una parola d'affetto, e di un gesto d'amore importante. Grazie per avere una pazienza enorme con un figlio che non ha scelto una professione molto remunerativa ma che si è

affezionato ad una scienza che o si ama o si perde. Grazie di cuore padre, grazie di cuore madre.

Ai miei fratelli, Marica, Francesco e Federico, che nonostante le poche parole di un fratello lontano, sono sempre lí, sanno ascoltare ed hanno curiositá di sapere cosa combino. Grazie per il grande affetto, la pazienza, la compagnia e i sorrisi mai risparmiati quando ce n'è stato bisogno. Grazie di cuore.

A MIRIAM, LA VOZ A TÍ DEBIDA! Siempre, en cualquier tesis, se suele agradecer finalmente a la novia, a la mujer, a la persona amada, por saber aguantar los momentos más difíciles, por soportarnos y por saber apoyar y aconsejar. En este caso no creo que baste. Yo no te quiero dar las gracias por eso, porque no sería lo suficientemente agradecido contigo. Simplemente, yo quiero que sepas que es muy difícil, incluso raro, encontrar en la vida a una persona como tú. Yo he tenido la suerte, una suerte inmensa, de conocerte a ti en un momento desafortunado. Luego, con muchísima paciencia por tu parte, he sabido reaccionar y este golpe de suerte no se ha agotado; por eso sí te doy las gracias, porque todavía puedo disfrutar de este amor que nos acoge en sus brazos desde hace ya dos años. Gracias mi Miriamcica por esa sonrisa tan grande y maravillosa que todos los días colocas en tu mano y me la donas, sin pretender que te la devuelva para que siempre la lleve conmigo. Eres lo mejor de mi vida, sin dudas, sin titubeos, sin hesitaciones. Bueno, gracias también por animarme a llevar a cabo esta tesis, jajaja.



---

## **JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS**



## JUSTIFICACIÓN

### El problema de la identidad

¿Qué es identidad? Es el conjunto de características que hacen que una persona sea ella y no otra. Cada individuo se distingue de los demás por un conjunto de rasgos faciales, morfológicos, talla, afinidad racial, sexo, edad, constitución, antecedentes clínicos, patologías, etc., que permiten reconocerlo (Işcan, 2001; Solla e Işcan, 2001). En la práctica los estados de derecho reconocen la existencia de una persona a partir del momento en el que ésta tiene un nombre avalado legalmente mediante trámites que se deben cumplir a lo largo de la vida (inscripción en registros, toma de huellas, cedulação). Hoy en día, el tema de la identidad es objeto de estudio de las ciencias médico-legales, bien cuando se trata de restos humanos o cuando hay que identificar a individuos vivos (Cattaneo, 2007).

La individualización de las personas es imprescindible en toda relación jurídica, administrativa, económica etc. Sin embargo, posiblemente sea dentro del ámbito de actuación judicial y policial donde más evidente resulta la necesidad de utilizar métodos de identificación personal fiables y seguros, (y a ser posible rápidos), por la práctica frecuentemente empleada por algunos delincuentes de ocultar o falsear su verdadera identidad, para escapar a la acción de la justicia (Rodríguez Andaluz y Mantecón Burgos, 1983). Cuando se trata de cadáveres, a las necesidades legales de establecer esa identidad por cuestiones de herencias y sucesiones (problemas de premoriencia y conmoriencia), se suman, además, razones humanitarias, motivos religiosos y culturales que inducen a todas las personas a honrar a los familiares fallecidos (Işcan *et al.*, 2005).

Desde el punto de vista legal, el ordenamiento jurídico español vigila como cuestión de orden público la identidad de la persona, siendo un requisito necesario para ciertos actos, como la transmisión de derechos (artículo 685 del Código Civil). La identificación del cadáver es una condición previa para proceder a la certificación de la muerte de un sujeto y la correspondiente inscripción de su fallecimiento en el Registro Civil (artículo 274 de la Ley del Reg. Civil). Si esta última no se puede realizar, tampoco se podrán inhumar los restos y, lo que se presenta más problemático desde el ámbito jurídico, los familiares de la persona presuntamente fallecida no pueden adquirir derechos u obligaciones tanto desde el punto de vista civil como penal.

En materia penal se establece que cuando haya dudas sobre la identidad del procesado, el derecho español procurará acreditar ésta, por cuantos medios sean conducentes al objeto (artículos 373, 374, y 375 de la Ley del Enjuiciamiento Criminal). En caso de muerte sospechosa de criminalidad, se establece que, antes de proceder a la inhumación o inmediatamente después de su exhumación, se identificará al cadáver (artículos 340 al 343 de la Ley de Enjuiciamiento Criminal).

### **El proceso de identificación humana**

Es de resaltar que aún antes de disponer de métodos de identificación técnica, la normativa legal, en los casos de muerte violenta, reconocía la importancia de identificar al fallecido recurriendo a la *identificación de visu* o reconocimiento visual del cadáver por testigos confiables. Sin embargo, el reconocimiento visual, ya sea que la persona observe el cuerpo directamente o que examine fotografías, tiene un alto riesgo de error que se explica por el estado emocional

alterado de quien enfrenta tal situación, por los cambios que haya podido presentar el cadáver y por la calidad de las fotografías.

A lo anterior se suma el hecho no descartable de que alguien propicie una identificación equivocada pretendiendo escapar a la acción de la justicia ocultando un delito o beneficiarse al cobrar una indemnización o un seguro. Por otra parte no es posible reconocer un cadáver cuando tiene los rasgos alterados por lesiones *antemortem*, cambios *postmortem* o por modificaciones intencionales hechas con el fin de ocultar o falsear la identidad de la persona fallecida. En la actualidad, cuando la muerte de una persona es objeto de investigación judicial, la identificación del cadáver va más allá del simple reconocimiento visual para convertirse en un proceso que involucra actividades de carácter legal, investigativo y técnico científico.

En general, cuando encontramos unos restos humanos, ya sea en un contexto arqueológico o forense, el análisis morfológicos y las adecuadas estimaciones métricas nos permiten efectuar valoraciones sobre el aspecto físico original de ese individuo. El objetivo principal es generar su osteobiografía (Cattaneo, 2007). Pretendemos con ello abordar su identidad, es decir, acercarnos a ese conjunto de rasgos personales y características individuales que lo hacen diferente de los demás, estableciendo así su individualidad (Prieto, 2002).

Los métodos para identificar han ido variando a lo largo de la historia. Hoy en día, el proceso de identificación en restos óseos o cadáveres recientes, comprende tres grandes pasos (Rodríguez, 1999; Prieto, 2002):

- Se exhuman los restos. A continuación, para definir los procedimientos a seguir, se debe evaluar el estado del cadáver, la calidad de la información y los registros *antemortem* disponibles.



- Se identifica la biología general del individuo que lo vincula como miembro de una población, con un sexo específico, una edad determinada, un patrón racial y unas características físicas detalladas; es lo que se denomina “la cuarteta básica de la identificación” (identificación reconstructiva).
- Posteriormente, se procede al diagnóstico de la biología individual de la persona (anomalías óseas, enfermedades, estado de salud, hábitos de lateralidad, reconstrucción facial) (identificación comparativa).

Para todo ello, los restos óseos han de ser lo suficientemente representativos (completos y en buen estado de conservación), pues la validez de su interpretación está en relación con el número de observaciones realizadas y la metodología aplicada (Valenzuela y Martín de las Heras, 2004).

### **Estimación de sexo y edad**

Una necesidad cada día más frecuente en la práctica forense es, sin duda, la identificación de restos óseos y, como parte imprescindible de esta, la asignación del sexo a los mismos (Cunha *et al.*, 2009; Del Río Muñoz, 2001).

Con respecto al diagnóstico del sexo, se pueden realizar dos tipos de observaciones: métricas y morfológicas. En sujetos adultos, el dimorfismo sexual se expresa más claramente en la pelvis y el cráneo pero, debido a que la mayoría de los rasgos sexuales secundarios se desarrollan a partir de la pubertad, la estimación del sexo en individuos infantiles y juveniles es menos precisa y en algunos casos prácticamente imposible (Izagirre *et al.*, 2001).

En caso de conservación excelente del esqueleto, se pueden utilizar los métodos morfológicos tradicionales basados en la observación de cráneo y de la pelvis, los cuales pueden proporcionar una fiabilidad del 95-98%. En la pelvis se valora la morfología general y la particular del sacro, la escotadura ciática mayor, el ángulo sub-púbico, el foramen obturador, la rama isquio-púbica y el arco ventral, entre otras. En el cráneo se valora el tamaño y la morfología general de algunas estructuras: órbitas, arcos supra orbitales, glabella, apófisis mastoides, líneas occipitales, protuberancia occipital externa y mandibular.

En estas últimas décadas, uno de los métodos de mayor fiabilidad para la estimación del sexo es el empleo de funciones discriminantes, sobre todo cuando se han perdido la unidad y la relación anatómica del esqueleto, los huesos morfológicamente más indicativos del sexo o sólo se dispone de huesos aislados o muy fragmentados (Kelley, 1979). El mayor inconveniente que presenta esta metodología es que las funciones discriminantes se establecen para poblaciones de un área o país determinado y su extrapolación a otro lugar puede llevar a resultados no válidos (Işcan, 2005; Lazenby, 2002).

Una vez establecido el sexo del individuo estudiado, se considera de gran importancia la estimación de la edad, tanto en sujetos vivos como cadáveres recientes y restos óseos antiguos. Ella se realiza mediante el estudio de los cambios biológicos de las estructuras óseas y dentarias que ocurren durante los procesos de crecimiento y desarrollo, ya que, generalmente, ellos presentan una secuencia constante. A través de estos cambios, podemos determinar el grado de maduración fisiológica o biológica de una persona en crecimiento (Demirjian *et al.*, 1973; Rodriguez, 1999; Rösing, 2000; Rösing *et al.*, 2007; Schmeling

*et al.*, 2007). Cabe resaltar que estos cambios son la expresión de la edad biológica o fisiológica, la cual no siempre guarda relación con la edad cronológica del individuo.

La edad biológica del sujeto estará siempre comprendida entre un intervalo de tiempo que será más o menos preciso, dependiendo de la etapa de la vida que estemos analizando y del método empleado. La edad cronológica, también llamada edad real, es la edad medida por el calendario, sin tener en cuenta el periodo intrauterino. Ella siempre estará incluida, en la mejor de las situaciones, dentro del intervalo de edad biológica (Miles, 1999; Noble, 1974; Todd, 1921).

Además, debe tenerse en cuenta que existen variaciones intra- e inter-poblacionales y que el envejecimiento depende de múltiples factores endógenos (desórdenes hematopoyéticos, alteraciones metabólicas y enfermedades infecciosas) y exógenos (los traumatismos, las marcas de estrés ocupacional, la nutrición y factores culturales) que actúan sobre el organismo (Mays, 2006; Schmitt, 2002). Otros aspectos a considerar, a la hora de determinar la edad, son: el tipo de restos, es decir, si se trata de un cadáver íntegro, de restos aislados o de un sujeto vivo y el estado de conservación de los mismos.

El abordaje para la estimación de la edad, bien en la práctica pericial forense o en Antropología Física, será completamente diferente si estamos delante de sujetos que no hayan finalizado su desarrollo; es decir, sujetos que tendrán una edad cronológica por debajo de la segunda década de la vida (subadultos), o de sujetos que ya han alcanzado la edad adulta (adultos). En el primer supuesto, los métodos van a ser más sencillos, precisos y con menos margen de error (Humphrey y Scheuer, 2006; Lampl y Johnston, 1996; Scheuer y Black, 2000). Actualmente, para la estimación de la edad en individuos

infantiles y juveniles, se utilizan principalmente la mineralización y la erupción dental (Demirjian *et al.*, 1973; Ubelaker, 1999; Veschi y Facchini, 2002), la sinostosis de los centros secundarios de osificación (Scheuer y Black, 2000) y las curvas de crecimiento. La situación en la que con más frecuencia se plantea la estimación de la edad de estos individuos en la práctica forense es actualmente la de los menores indocumentados. En el ámbito penal, este parámetro es fundamental cuando el menor indocumentado ha cometido un delito.

Los inmigrantes ilegales indocumentados, al tomar contacto con las autoridades de los países comunitarios deben ser adecuadamente identificados para asegurar la correcta cobertura de sus derechos. En el caso de que puedan acreditar su minoría de edad legal, se harían beneficiarios de una serie de medidas legales favorables tanto en lo relativo a su tratamiento como inmigrantes en países comunitarios, como en el caso de ser víctimas o responsables de conductas delictivas (Martín-de las Heras S., 2000; Human Right Watch, 2002; Garamendi, 2003). La Constitución Española de 1978, en su artículo 12, establece la mayoría de edad legal en los 18 años. Sin embargo, con la Ley orgánica 5/2000, la edad límite de dieciocho años, establecida por el Código Penal, para referirse a la responsabilidad penal de los menores, se vio flanqueada por otros dos límites, máximo y mínimo, de edad. El límite mínimo a partir del cual comienza la posibilidad de exigir una responsabilidad se ha concretado en los catorce años (Art. 1, apartado 1, Ley del menor), con base en la convicción de que las infracciones cometidas por los niños menores de esta edad son en general irrelevantes y que, en los escasos supuestos en que aquéllas pueden producir alarma social, son suficientes para darles una respuesta igualmente adecuada en los ámbitos familiares y asistenciales civiles,

sin necesidad de la intervención del aparato judicial sancionador del Estado (Martín Cerrato, 2010; Martín de las Heras, 2000).

En individuos adultos resulta un poco más complejo porque los cambios son paulatinos y poco evidentes. La mayoría de los autores coinciden en afirmar que, a la hora de estimar la edad, los resultados son más precisos cuando se utilizan múltiples indicadores de edad, ya que “criterios que son relevantes de la edad en un estado de maduración son totalmente irrelevantes en otros” (Baccino *et al.*, 1991; Baccino y Zerilli, 1997; Ubelaker, 1999). Sin embargo, de entre todos estos métodos, los que se basan en la estructura dental ofrecen mejores resultados, merced a su error de estimación relativamente pequeño (Baccino *et al.*, 1999). Estudios llevados a cabo en poblaciones conocidas demuestran que los resultados obtenidos con parámetros dentales son más precisos que los derivados del examen de parámetros óseos.

En el trabajo de Ritz-Timme *et al.* (2000), se explican de forma resumida los métodos utilizados en cada población estudiada y el error asociado a cada uno de ellos. Finalmente, se presenta un breve comentario acerca de los factores que pueden influenciar las estimaciones.

Una vez que se hayan formado y hayan emergido todos los dientes permanentes, criterios como la erupción y el grado de mineralización no son válidos. Sin embargo, se producen cambios evidentes en los tejidos dentarios y estructuras relacionadas que están producidos por el proceso normal de envejecimiento. Entendemos por envejecimiento el conjunto de modificaciones inevitables e irreversibles que se producen en un organismo con el paso del tiempo y

que, finalmente, conducen a la muerte o a la pérdida del órgano en cuestión.

### **El proceso de identificación en vivos**

En los últimos años, han sido cada vez más frecuentes los casos de estimación de la edad en vivos, debido a problemas relacionados con la edad de adopción, la inmigración clandestina, la imputabilidad de menores y la edad de jubilación (Cunha *et al.*, 2009). A diferencia de los muertos, el proceso de identificación de los vivos implica, ante todo, el uso de métodos no invasivos, y una gran precisión de la técnica utilizada a raíz de los requerimientos de las autoridades judiciales.

Con respecto a la inmigración ilegal, los países miembros de la Unión Europea (UE) han sido testigos de una autentica avalancha de inmigrantes de otros países. Según datos del Eurostat, en el año 2000 llegaron a los países de la Comunidad Económica Europea 816000 inmigrantes procedentes sobre todo del Magreb, Turquía, África Subsahariana, India, y de los países Balcánicos (Garamendi y Landa, 2003). En España se estimaba en 300000 el número de personas indocumentadas. Ante este importante incremento de la inmigración indocumentada a Países Miembros de la Unión Europea, entre ellos España, el sistema legal vigente en estos países tiene la obligación de la inmediata identificación de los inmigrantes ilegales indocumentados.

La misma exigencia se presenta a la hora de estimar la edad de menores implicados en procedimientos criminales. Aunque la delincuencia juvenil presenta unas características similares en la mayor parte de los países Europeos, la respuesta de cada ordenamiento jurídico varía significativamente, reflejando en ella su historia, su cultura y su tradición jurídica. Una premisa o punto de partida común

es que el delincuente juvenil debe recibir una respuesta penal diferente de los adultos. Las diferencias aparecen preferentemente a la hora de fijar el límite de edad donde comienza la responsabilidad penal de los menores, el régimen sancionador y la competencia de los tribunales de menores. La mayoría de países europeos convergen en un régimen sancionador en el que prevalecen los siguientes elementos:

- Instauración de un catálogo lo más amplio posible de alternativas a las penas privativas de libertad.
- Separación plena, incluso en los casos de detención policial y prisión preventiva, de jóvenes y adultos condenados a penas privativas de libertad.
- Proporcionalidad de las sanciones.
- Amplia utilización de sanciones educativas como la reparación o conciliación con la víctima y la prestación de tareas en beneficio de la comunidad.

Sin embargo, es en la fijación del límite mínimo para exigir responsabilidad penal a los menores, donde las diferencias se acrecientan, fluctuando desde los 8 años de Escocia, los 10 de Inglaterra y Gales o Suiza, los 12 de Holanda, los 14 de Alemania, Austria, España o Italia, los 15 de los países escandinavos, los 16 de Portugal o los 18 de Bélgica. La estimación precisa de esta edad es, por ende, fundamental ante la necesidad de proteger los derechos de los menores sometidos a la acción de la justicia (Prieto, 2004).

La estimación de la edad en menores, actualmente, se realiza mediante pruebas médicas, siendo los Médicos Forenses los especialistas encargados de informar sobre esta cuestión a los Juzgados de Guardia y Fiscalías de Menores que solicitan esta prueba. De hecho,

desde el punto de vista práctico, en los casos en los que no existe documentación fehaciente para acreditar la fecha de nacimiento, especialmente de menores, se solicita a los Instituto de Medicina Legal de forma rutinaria una serie de pruebas medicas que puedan proporcionar la edad cronológica aproximada de los supuestos menores (Garamendi y Landa, 2003).

Hoy en día, está teniendo lugar en Europa un debate muy dinámico sobre la estimación de la edad en los presuntos menores. Varios especialistas de las disciplinas forenses han propuesto estudios y numerosos protocolos de actuación para un diagnóstico adecuado de la edad. En septiembre del año 2000, el grupo multidisciplinario alemán del Arbeitsgemeinschaft für Forensische Altersdiagnostik der Deutschen Gesellschaft für Rechtsmedizin (AGFAD) elaboró una de las primeras guías específicas, con especial atención a los problemas éticos y legales de cada caso, para la estimación de la edad en individuos vivos sometidos a procedimientos criminales. Según esta guía, se estima la mayoría o minoría de edad penal mediante las siguientes pruebas: estudio antropométrico (peso, talla, constitución, madurez sexual, identificación de patologías que alteren el desarrollo); examen radiográfico de la mano izquierda; examen del estado de dentición y radiográfico; osificación del cartílago costal de la clavícula en relación con edad igual o superior a 21 años; otros autores proponen lo mismo para la primera costilla (Cunha *et al.*, 2009; Ritz-Timme *et al.*, 2000; Rösing, 2000; Schmeling *et al.*, 2000).

Finalmente, otra situación muy frecuente en la que se requiere el uso de técnicas apropiadas para la estimación de la edad en vivos, es la pedopornografía. En estos casos, muy a menudo, las fotos de baja calidad o los videos grabados son las únicas fuentes de información



disponible (Cunha *et al.*, 2009). El crimen de violación de los derechos de estos niños dependerá de la normativa de cada país acerca de la edad mínima de responsabilidad penal. Los jueces suelen recurrir a la opinión de un especialista forense que en la mayoría de los casos se ve obligado a aplicar métodos clínicos y antropológicos en imágenes de dos dimensiones poco nítidas o retocadas. Cattaneo *et al.* (2007) han demostrado que la aplicación de las técnicas convencionales se ve limitada por la imposibilidad de distinguir en estos tipos de imágenes los caracteres relacionados con la edad del individuo. Los videos en los que las presuntas víctimas salen sonriendo podrían proporcionar algún elemento diagnóstico más para evaluar el estado de maduración dental, siempre teniendo en cuenta los defectos y la escasa definición de los sujetos representados (Cunha *et al.*, 2009). De todas formas, por lo general, los métodos basados en los estado de desarrollo óseo y dental deben de ser usado con extrema precaución en estas situaciones pocas claras desde el punto de vista de la calidad de la información disponible.

## **OBJETIVOS**

- Proporcionar un método fiable, de fácil aprendizaje, rápido y económico para la estimación de la edad en adultos, tanto en vivos como en cadáveres recientes y restos óseos antiguos. Se pretende demostrar su aplicación en contextos arqueológicos, en los que es más probable el hallazgo de restos altamente fragmentados o aislados, y donde las metodologías antropológicas tradicionales no pueden ofrecer resultados precisos. Con lo cual, el análisis de los dientes y de sus

estructuras internas pueden facilitar las tareas de estudio e identificación de los restos hallados.

- Estandarizar el método de estimación de la edad mediante el estudio de la deposición de la dentina secundaria en el canino, a través de su aplicación en otros contextos forenses internacionales, con el fin de averiguar su reproducibilidad en poblaciones distintas a la de origen y desarrollo de la técnica. A este propósito, es preciso contar con procedimientos y parámetros estadísticos adecuados para una estimación altamente fiable.
- Averiguar, en una muestra de niños y adolescentes italianos, la precisión de tres métodos de estimación de la edad basados en el análisis métrico de los dientes permanentes en formación y en el estudio cuantitativo de los huesos del carpo y de las epífisis distales de radio y cúbito. Se trata de técnicas desarrolladas por los investigadores del Instituto de Medicina Legal de la Universidad de Macerata (Italia) que desde el año 2000 trabajan, con fines forenses, en el marco de un proyecto internacional denominado “Agestimation Project”, y del cual forma parte el autor de esta tesis, para el desarrollo y la estandarización de métodos de estimación de la edad en adultos y subadultos.
- Comprobar la reproducibilidad de la técnica de estimación del sexo mediante funciones discriminantes en los huesos del carpo, en una población mediterránea del siglo XX y en otra contemporánea procedente del Distrito Federal de México. Debido a la validez regional y poblacional de las funciones discriminantes, es fundamental poder contar con fórmulas nuevas por cada población estudiada, a raíz de las diferencias genéticas,

ambientales, y socio-culturales que existen dentro de cada grupo humano.

- Aportar nuevas herramientas al proceso de identificación humana, tanto en el ámbito forense como arqueológico. Por un lado, a raíz de la connotación legal de estos estudios, se pretende proporcionar técnicas fiables que puedan satisfacer las exigencias de unos datos precisos a disposición de las autoridades judiciales y del personal forense. Por el otro, se pretende ofrecer válidas herramientas para los estudios paleodemográficos de poblaciones antiguas, con el fin de su contextualización en un cuadro histórico y cultural más completo.
- Finalmente, poner a disposición de los arqueólogos, médicos y antropólogos forenses mexicanos nuevas metodologías, para la estimación de edad y sexo, diseñadas a medida de sus colecciones. La estandarización, la precisión y fiabilidad de estos resultados pueden representar una herramienta más a su alcance para la comprensión y reconstrucción de los contextos en los que actúan.





# **CAPÍTULO 1**

## 1. LOS DIENTES: ANATOMÍA E HISTOLOGÍA.

### 1.1 Morfología dentaria

En la arcada dentaria humana se distinguen cuatro tipos de dientes: incisivos, caninos, premolares y molares. Esta clasificación tiene su base en la morfología específica, que refleja también la función y la especialidad de cada uno de los tipos dentarios. En el ser humano se observan dos tipos de denticiones: la decidua o primaria que consta de 20 elementos dentales (8 incisivos, 4 caninos, 8 molares), y la dentición permanente que está formada en total por 32 dientes (8 incisivos, 4 caninos, 8 premolares, 12 molares). Cronológicamente, podemos hablar de dentición primaria, dentición mixta y dentición permanente. En general, los dientes se clasifican de acuerdo a su posición en el maxilar y en la mandíbula (superiores e inferiores), y conforme a su posición en el arco dental, anteriores (incisivos y caninos) y posteriores (premolares y molares) (Van Waes y Stöckli, 2002).

Para la descripción dental, varios investigadores han elaborado diferentes fórmulas o nomenclaturas dentales:

- La **fórmula universal** o sistema de la ADA divide las arcadas dentarias en cuadrantes y numera los dientes desde 1 hasta 32 en la dentición definitiva, y desde A hasta T en la decidua.
- La **fórmula de Palmer** o el sistema de Zsigmondy divide la cavidad bucal en cuadrantes, dos superiores (derecho e izquierdo) y dos inferiores (derecho e izquierdo). Según Palmer, se enumera las piezas dentales del 1 al 8, empezando con los incisivos centrales, puestos en ángulos, que indican el cuadrante. Para

dientes deciduos se utilizan letras minúsculas, desde la a hasta la e.

- El **sistema de Haderup** es similar a la fórmula de Palmer, pero utiliza los símbolos + para los dientes superiores y – para los inferiores y un número correlativo, contando los dientes desde la línea media hacia la distal.
- La **fórmula** de la Federación Dental Internacional (**FDI**) es utilizada y recomendada por la Organización Mundial de la Salud (WHO) y por Interpol. Este método es el más práctico, porque con un número de dos dígitos se sabe exactamente de qué diente se trata y su ubicación en la arcada. Para esto las dos arcadas dentarias se dividen en cuatro cuadrantes, que empiezan a numerarse a partir del cuadrante superior derecho en el sentido de las agujas del reloj; este número constituye el primer dígito y nos indica a que cuadrante pertenece el diente. Para la dentición definitiva, la numeración de las arcadas sería de 1 al 4. De esta forma queda numerado de la siguiente forma: 1) corresponde a la hemiarcada superior derecha; 2) corresponde a la hemiarcada superior izquierda; 3) corresponde a la hemiarcada inferior izquierda; 4) corresponde a la hemiarcada inferior derecha. Los dientes de cada cuadrante se numeran del 1 al 8, de mesial a distal, a partir de la línea media:

1. Incisivo central
2. Incisivo lateral
3. Canino
4. Primer premolar
5. Segundo premolar
6. Primer molar
7. Segundo molar
8. Tercer molar



La fórmula completa para la dentición definitiva es la siguiente:

Derecha		Izquierda
18 17 16 15 14 13 12 11		21 22 23 24 25 26 27 28
48 47 46 45 44 43 42 41		31 32 33 34 35 36 37 38
Derecha		Izquierda

De esta manera, el 23 es el canino superior izquierdo, el 47 es el segundo molar inferior derecho. En el caso de la dentición temporal o decidua, para el primer dígito, que corresponde a la hemiarcada, se emplean los números del 5 al 8; los cuadrantes también se numeran siguiendo las agujas del reloj, a partir del 5, y para el segundo dígito se emplean los números del 1 al 5: 1) incisivo central, 2) incisivo lateral, 3) canino, 4) primer molar, 5) segundo molar. El odontograma de los dientes deciduos queda de la siguiente manera:

Derecha		Izquierda
55 54 53 52 51		61 62 63 64 65
85 84 83 82 81		71 72 73 74 75
Derecha		Izquierda

En este caso, por ejemplo, el 72 es el incisivo lateral inferior izquierdo y el 51 es el incisivo central superior derecho. Cuando se emplea el número 9 como segundo dígito, se trata de un supernumerario. El primer número corresponde al cuadrante donde está situado el diente.



## 1.2 Estructura dentaria

Desde el punto de vista anatómico, cualquier elemento dentario consta de una corona y de una raíz. La unión entre ambos se denomina cuello dentario o zona cervical. La corona clínica es la porción libre del elemento dentario que se encuentra en la boca. La raíz es la parte del diente que se inserta en el hueso alveolar y se fija al mismo por medio del ligamento periodontal (tejido conectivo fibrilar) (Gómez De Ferraris y Campos Muñoz, 2002).

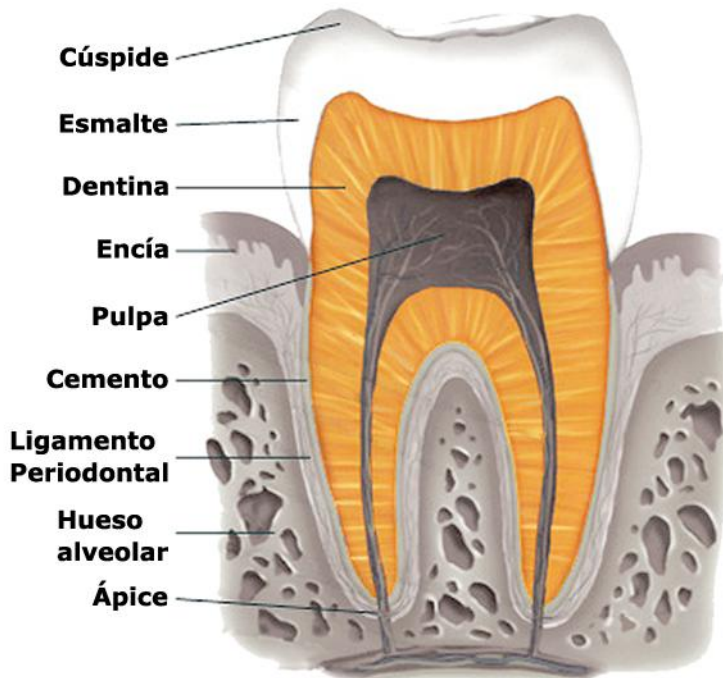


**Figura 1.** Corte histológico de un premolar inferior. Obsérvese los distintos tejidos: el esmalte, la dentina y la cavidad pulpar (Foto Dr. Cristophe Rallon).

Aunque los dientes varían considerablemente de forma y de tamaño, su estructura histológica es básicamente similar (Figura 1). El eje estructural de cada diente está formado por un tejido conectivo mineralizado denominado dentina. La dentina raras veces queda expuesta al medio bucal, porque está cubierta en la zona coronal, a manera de casquete, por un tejido muy duro de origen ectodérmico

llamado esmalte. Mientras que la dentina radicular está protegida por un tejido conectivo calcificado denominado cemento, de origen ectomesenquimático. La unión entre esmalte y dentina se denomina conexión amelo-dentinaria y la unión entre cemento y dentina se denomina conexión cemento-dentinaria.

Dentro de la dentina existe un espacio de forma aproximadamente semejante a la del diente, que recibe el nombre de cavidad o cámara pulpar. Esta cavidad contiene un tejido conectivo laxo que se denomina pulpa dentaria. La pulpa y la dentina forman una unidad estructural y funcional denominada complejo dentino-pulpar (Gómez De Ferraris y Campos Muñoz, 2002).



**Figura 2.** Histología básica de un molar inferior  
(Modificada de Gómez De Ferraris y Campos Muñoz, 2002)

## 1.2 Histología básica del diente

Mediante un corte longitudinal se revela que, en la histología de un diente, se pueden diferenciar cuatro tipos de tejidos, tres de constitución dura (esmalte, dentina y cemento) y sólo uno de ellos de constitución blanda (pulpa) (Berkovitz *et al*, 2002). A ellos hay que añadir otra estructura denominada periodoncio (Figura 2) (Gómez De Ferraris y Campos Muñoz, 2002).

**Esmalte:** el esmalte o sustancia adamantina es una matriz extracelular altamente mineralizada y de escaso metabolismo, que se forma por síntesis y secreción de unas células llamadas ameloblastos, que desaparecen cuando el diente hace su erupción en la cavidad bucal. Por este motivo, biológicamente no puede repararse o volver a regenerarse como ocurre en los otros tejidos dentarios de naturaleza colágena u orgánica. El esmalte es el tejido más duro de todo el cuerpo. Es translúcido, de manera que se aprecia el color de la dentina. Está constituido por una sustancia blanca, dura y compacta que cubre los dientes, formada por una serie de columnas prismáticas y cuyo espesor varía según las zonas (siendo más reducido en la zona del cuello del diente). Esta sustancia blanca está constituida principalmente por hidroxapatita cálcica (96%) y una pequeña cantidad de agua y proteínas ricas en amelogeninas y enamelinas (4%).

Debido a su alto contenido inorgánico, el esmalte es vulnerable a la desmineralización provocada por los ácidos elaborados por los microorganismos existentes en la placa dental, dando como resultado la caries dental, enfermedad multifactorial que afecta a los tejidos duros del diente (Figura 3).

**Cemento:** recubre la raíz del diente. Es una capa de tejido óseo especial, ya que carece de irrigación e inervación. También se

diferencia de los huesos porque su estructura contiene mayor número de fibras de Sharpey (fibras que unen las laminillas óseas). Estas fibras se unen al alveolo, fijando así el diente al hueso alveolar. Se pueden distinguir dos tipos de cemento: un cemento celular, en la región apical de la raíz que presenta cementocitos, y cemento acelular, cubriendo la raíz hasta la unión amelo-cementaria, que carece de cementocitos. Se compone de un 55% de hidroxipatita cálcica y un 45% de agua.



**Figura 3.** Distintos tipos de lesiones por caries en la corona y en la raíz del diente (Foto Stefano De Luca y Joan Viciano).

**Dentina:** es el tejido más voluminoso del diente y constituye el segundo tejido más duro del cuerpo. Es un tejido rígido pero a la vez elástico, formado por un gran número de pequeños túbulos paralelos en una matriz mineralizada de colágeno. Estos túbulos contienen las células responsables de formar la dentina, los odontoblastos. Los odontoblastos forman la dentina y al proceso de su formación se le llama dentinogénesis. Estos se sitúan entre la dentina y la pulpa dentaria, conservando su unión a la dentina durante toda la vida del diente, lo que permite que la dentina pueda repararse. La dentina presenta un color blanco amarillento, pero puede variar de un individuo a otro, y también a lo largo de la vida. Como el esmalte es translúcido,

por su alto grado de mineralización, el color del diente lo otorga generalmente la dentina (Gómez De Ferraris y Campos Muñoz, 2002).

La dentina está cubierta en la corona por el esmalte y en la raíz por el cemento. Está formada por un 65% de cristales de hidroxiapatita cálcica, un 25% de material orgánico (colágeno) y un 10% de agua. Esto permite que la dentina tenga un cierto grado mínimo de flexibilidad, sirviendo de soporte para que el esmalte no se quiebre. Es de aspecto amarillento, lo que le proporciona el color al diente. Como la dentina es un tejido muy permeable, cuando hay problemas de necrosis de la pulpa dentaria o hemorragia pulpar, se pigmenta con mucha facilidad. En el tejido se pueden distinguir varios tipos de dentina (Berkovitz *et al.*, 2002):

- **Dentina primaria:** se extiende desde el límite con el esmalte o cemento hasta la pulpa y comprende toda la formación del diente (primero se forma la corona y luego la raíz). Desde el punto de vista funcional se considera dentina primaria la que se deposita desde que comienzan las primeras etapas de la dentinogénesis hasta que el diente entra en oclusión (se pone en contacto con su antagonista).
- **Dentina secundaria** (o secundaria fisiológica): después de que se haya formado el diente, se sigue depositando dentina durante toda la vida del diente, pero a una velocidad mucho menor. A raíz de esto, la cámara pulpar reduce su tamaño, así como los conductos radiculares. La disminución del volumen de la pulpa como resultado de la formación de dentina secundaria trae como consecuencia la disminución del número de odontoblastos por un mecanismo de apoptosis. La estructura de esta dentina es igual a la de la primaria, solo que menos permeable, para poder proteger

la pulpa. Clásicamente se la describía como sintetizada a partir del momento en que el diente entra en oclusión, pero se ha demostrado que también se halla presente en dientes que aún no han erupcionado o están retenidos (Ogino y Ogino, 1988). Esta dentina se deposita mucho más lentamente que la dentina primaria, pero su producción continúa durante toda la vida del diente (Gómez De Ferraris y Campos Muñoz, 2002).

- **Dentina reaccional**, patológica, reparativa o terciaria: su formación es la consecuencia de alguna alteración como una caries, la realización de una cavidad o el desgaste del esmalte. Frente a este daño, la pulpa reacciona formando dentina de forma rápida, para reparar la zona dañada; los odontoblastos forman una capa de dentina hacia la pulpa que aumenta el espesor de la dentina, para contrarrestar el proceso de irritación. La cantidad y calidad de la dentina terciaria que se produce se halla relacionada con la duración e intensidad del estímulo nocivo; cuanto más acentuados sean esos factores, más rápida e irregular será la aposición de dentina reparativa.
- **Dentina esclerótica**, translúcida o transparente: cuando el estímulo sobre la dentina es de poca importancia (se ha relacionado con un proceso carioso lento o una zona de atrición severa), además de la dentina reparativa, los odontoblastos se van retrayendo y van mineralizando el túbulo dentinario (se forma dentina peritubular) que desaparece. En el interior de la dentina se encuentra una cavidad o cámara apta para acoger otro tejido del diente, la pulpa.

**Pulpa:** está constituida por un 75% de agua y un 25% de materia orgánica. El tejido pulpar, ricamente vascularizado e innervado, está

constituido por distintos tipos de células, de las cuales la más importante o principal es el odontoblasto, que se ubica en la periferia del tejido conectivo alojado en la cavidad pulpar y es el responsable de formar (dentina primaria y secundaria) y reparar la dentina (dentina terciaria).

La función de los odontoblastos es sintetizar la matriz orgánica de la dentina, constituida fundamentalmente por fibras colágenas y sustancia amorfa. De acuerdo al momento en que se forma y por la disposición que adquieren las fibras se determinan los distintos tipos de dentina. En la primera dentina que se forma (periféricamente), las fibras se disponen perpendiculares a la conexión amelo-dentinaria y constituyen la denominada dentina del manto.

A continuación, cuando las fibras se disponen irregularmente formando una malla densa alrededor de la prolongación odontoblástica, se origina la dentina circumpulpar. Una vez elaborada la matriz orgánica de la dentina, comienza la mineralización por deposición de las sales de calcio, formando un canal alrededor de cada prolongación odontoblástica, llamado túbulo dentinario. El conductillo o túbulo dentinario es la unidad estructural de la dentina. La capa de células odontoblásticas de la periferia pulpar está separada de la dentina mineralizada por una zona de matriz orgánica no calcificada denominada pre-dentina.

**Periodoncio:** El periodoncio o periodonto es el conjunto de tejidos que conforman el órgano de sostén y protección del elemento dentario. El cemento, el ligamento periodontal y el hueso alveolar constituyen el aparato de sostén o periodoncio de inserción. El tejido que rodea a la dentina radicular es el cemento, pero funcionalmente el cemento forma parte del periodoncio de inserción. La raíz del diente se

inserta en una cavidad del hueso maxilar denominado alveolo dentario. El hueso que forma el alveolo se llama hueso alveolar y es una estructura odonto-dependiente, es decir, se forma con el diente y se pierde con él. El conjunto de alveolos dentarios forma el proceso o reborde alveolar de los maxilares. El hueso alveolar y el cemento están unidos mediante un tejido conectivo fibroso, el ligamento periodontal. Además de fijar el diente al hueso alveolar, el ligamento periodontal tiene la función de soportar las fuerzas de la masticación.

Toda esta estructura se encuentra protegida por el denominado periodoncio de protección que comprende dos regiones: la encía, que rodea al cuello dentario y la unión dento-gingival, que une la encía a la pieza dentaria. Estas estructuras aíslan el periodoncio de inserción de la cavidad oral (Gómez De Ferraris y Campos Muñoz, 2002).

### **1.3 Estimación de la edad dental en subadultos**

En ámbito forense, por motivos prácticos, los individuos subadultos se suelen dividir según rangos de edad: fetos, neonatos, infantes (0-6 años), niños y adolescentes (Cunha *et al.*, 2009). En estos casos, en vez de utilizar técnicas que tengan en cuenta el estado de conservación, como en los adultos, la aplicación del método más adecuado se realiza en base a la edad del individuo analizado. De hecho, independientemente del tipo de restos hallados o del individuo estudiado, siempre se utilizarán las mismas metodologías: una de ella basada en la erupción dental, es decir en el número de dientes presentes en la cavidad bucal y la secuencia de erupción que estos siguieron; la otra basada principalmente en la mineralización dental y en la cronología del desarrollo dental de forma individual valorado por el estudio radiográfico (Prieto, 2002, 2004).



La inspección visual de la erupción dental ha sido el primero y más utilizado de los métodos de evaluación de la edad dental. Durante mucho tiempo, y aún hoy en día en muchas partes del mundo donde no existen registros de nacimiento, el desarrollo dental se utiliza como un indicador de la edad en niños, adoptándose como criterio biológico-legal. La erupción es el proceso que produce el desplazamiento y colocación de los dientes durante el desarrollo y maduración de los mismos, es decir, es el movimiento continuo del brote dental, desde la región inferior del hueso alveolar hasta aparecer en la cavidad bucal, y a partir de este punto hasta alcanzar el plano de oclusión. En realidad, en vez de erupción, se tendría que hablar de emergencia (Figura 4) (Martín Cerrato, 2010).



**Figura 4.** Erupción dental en un individuo de 10 años de edad (Radiografía panorámica proporcionada por la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Autónoma de México).

No obstante, aunque sea un método inmediato, barato, y poco influido por el error intra- e inter-observador, la erupción no es un buen indicador de la edad cuando se utiliza de forma aislada debido, entre otros, a factores como la variabilidad inter-individual e inter-poblacional (Moorees *et al.*, 1963 a,b), anomalías de origen sistémico o local (Garns *et al.*, 1959), como la aceleración debida a la pérdida prematura de dientes temporales (Trodden, 1982) o la existencia de

periodos prolongados de tiempo en que no se producen modificaciones en la misma (Ubelaker, 1999).

La mineralización de las coronas de los dientes deciduos comienza sobre los 3 o 4 meses de vida intrauterina, continuando su calcificación después del nacimiento durante el periodo neonatal (Burdi, 1992). La formación de las raíces generalmente se completa entre el año y medio y los tres años de edad. Por su parte, el desarrollo de la mineralización de la dentición permanente dura aproximadamente unos nueve años, comenzando con una de las cúspides del primer molar permanente en el momento del nacimiento (Cattaneo y Grandi, 2004).

El proceso de maduración dentaria se correlaciona con diferentes estadios morfológicos de mineralización que se pueden observar radiográficamente y cuyo proceso sigue un ritmo mucho más uniforme, progresivo y continuo que la erupción, y menos influido por factores externos. Por eso, se han desarrollado diversos métodos de estimación de la edad sobre la base del estado de mineralización de los gérmenes dentarios. Todos los métodos de evaluación de la edad basados en la maduración dentaria siguen una misma sistemática. Primero se evalúa el estadio de desarrollo de cada uno de los dientes a partir de radiografías panorámicas u ortopantomografías (OPT). En la evaluación radiográfica del desarrollo dentario se prefiere el estudio de los dientes mandibulares, por su fácil definición, ya que no presentan la superposición de imágenes que muy a menudo se observa en el maxilar (Cameriere *et al.*, 2006). A continuación, el estadio de desarrollo se relaciona con la edad correspondiente al mismo, derivada del estudio de una muestra de edad conocida. Este método de estimación se basa en evaluaciones subjetivas de los estadios y posee muchos defectos. La

variación biológica en el desarrollo es también grande para todos los dientes (Martín Cerrato, 2010; Prieto, 2002, 2004).

### **1.3.1 Edad dental en fetos y neonatos**

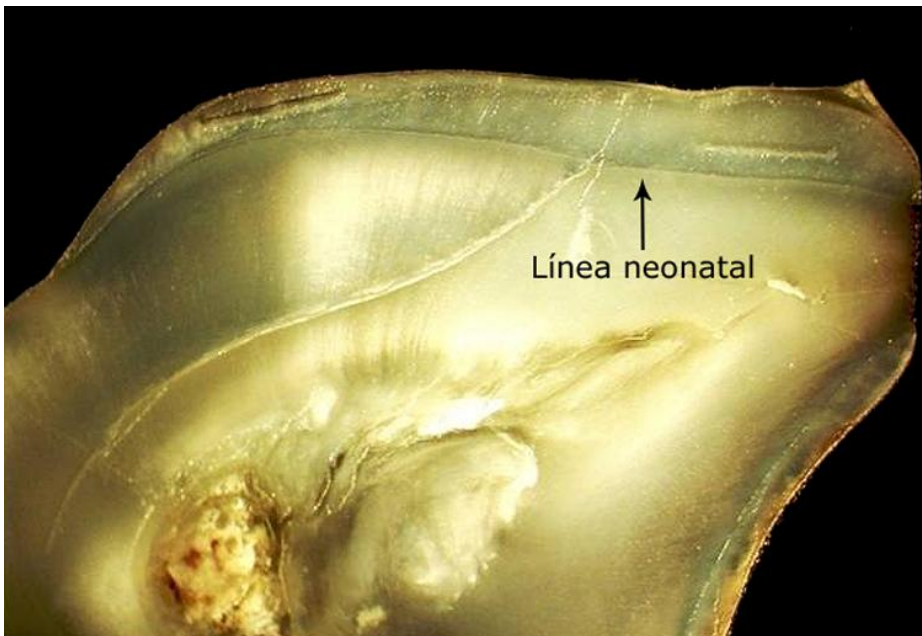
En ámbito forense, en los casos de infanticidios, abortos clandestinos o parto *postmortem*, es de gran importancia la estimación de la edad del individuo, feto o neonato que sea. La identificación del lactante y de su madre es a menudo un asunto de gran dificultad, ya que con frecuencia estos niños se encuentran escondidos o abandonados, ocultos en bolsas de plástico, periódicos, ropa, etc. En los casos en los que se conozca la identidad de la madre, la acción legal posterior dependerá en definitiva de que el médico legal consiga establecer si el bebé nació vivo o se trató de homicidio. Es fundamental, de hecho, para fines legales, establecer con gran certeza si se trata de un feto a término, casi a término o de un neonato. Además de la exploración física del individuo y de los métodos de estimación de la edad ósea, existen algunas técnicas de valoración de la edad dental que se basan especialmente en el análisis de la mineralización y formación de los gérmenes dentarios mediante examen macroscópico y radiográfico de la cavidad bucal.

Actualmente, se conocen todos los detalles y las etapas del proceso de mineralización dental. A partir del cuarto o sexto mes de gestación, comienza la mineralización de la corona de los dientes y de las primeras cúspides. A partir del cuarto mes de gestación, es posible observar, mediante radiografía dental panorámica, la presencia de los gérmenes dentarios de los incisivos centrales deciduos o de leche. En los fetos casi a término (29-30 semanas de gestación), se pueden observar las coronas de los incisivos centrales y laterales, de los caninos, y

algunas cúspides de los molares deciduos. En los fetos a término y en los neonatos (36 semanas, nacimiento), son evidentes las mismas características dentarias anteriores pero con la presencia de un elemento diagnóstico muy importante visible mediante rayos-x: la punta de una de las cúspides del primer molar permanente (Cattaneo y Grandi, 2004).

En la etapa post-natal, los estudios radiológicos y la inspección visual son los más indicados para el diagnóstico de la edad. Numerosos estudios han proporcionado escalas de maduración, tanto en dentición decidua como permanente, en diferentes poblaciones, identificando sucesivos estadios de desarrollo (Demirjian *et al.*, 1973; Moorrees *et al.*, 1963; Nolla, 1960; Willems *et al.*, 2001). El método de Nolla (1960) es uno de los más utilizados en la clínica como procedimiento fiable para la estimación del desarrollo de la dentición permanente. Uno de los sistemas más universalmente utilizados para valorar el grado de desarrollo de la dentición permanente es el propuesto por Demirjian *et al.* (1973), a partir del análisis de una muestra de niños de origen franco-canadiense. El método original valora el grado de calcificación de los siete dientes de la hemimandíbula izquierda, excluyendo el tercer molar, a partir de registros radiográficos (OPT). Se establecen 8 estadios de maduración en cada diente (A a H), desde el inicio de la calcificación de la corona hasta el cierre apical de la raíz. Se atribuye a cada diente un estadio de formación, que se convierte en una puntuación, en función del sexo, siguiendo la misma técnica matemática utilizada para la valoración de la maduración esquelética por el método de Tanner-Whitehouse (1962). Se suman las puntuaciones de los siete dientes, obteniendo la denominada puntuación de madurez dentaria en una escala de 0 a 100. Esta puntuación se

transforma, a partir de las tablas correspondientes, en edad dentaria. El método tiene el inconveniente de que no incluye la valoración de los terceros molares, por lo que sólo puede ser utilizado para edades preadolescentes (Martín Cerrato, 2010; Prieto, 2002, 2004). Para los fines forenses, la clasificación según Demirjian *et al.* (1973) parece la más adecuada, puesto que los estadios se definen por las modificaciones en la forma e independientemente de cálculos longitudinales especulativos (Haavikko, 1970, 1974; Liversidge, 2010). Con posterioridad, este mismo autor ha desarrollado actualizaciones del método original (Demirjian, 1976) proponiendo un sistema de valoración de cuatro dientes (ambos premolares y molares) con estándares distintos. En todos los casos, dado que el desarrollo madurativo es diferente en ambos sexos, deberá previamente estimarse el sexo del individuo.



**Figura 5.** Línea neonatal del esmalte en un corte histológico de un diente deciduo (Fuente: <http://anthropology.uwo.ca/faculty/dolphin/research.html>).

En la etapa prenatal del individuo, las técnicas histológicas parecen ser las más adecuadas para el análisis del desarrollo dental (Martín Cerrato, 2010). El proceso de nacimiento es muy traumático y deja su marca en el esmalte (Figura 5), en forma de un anillo denominado línea neonatal, presente en todas las coronas formadas de todos los dientes temporales y en la cúspide mesio-bucal del primer molar permanente (Kodaka *et al.*, 1992; Sabel *et al.*, 2008; Schour, 1936; Smith y Avishay, 2005; Szpringer-Nodzak, 1984). La línea neonatal, por lo tanto, marca el límite entre el esmalte pre- y postnatal y se suele observar en aquellos individuos que sobreviven al menos entre 7 y 15 días después del nacimiento, aunque todavía no se conoce el tiempo necesario para su formación (Smith *et al.*, 2006; Whittaker y Richards, 1978).

La línea neonatal, puede reconocerse mediante observación microscópica, por su localización característica en el diente, específica para cada tipo de diente, y por las diferencias de contraste entre el esmalte pre- y postnatal, extendiéndose desde la unión cemento-adamantina hasta la superficie (Skinner y Dupras, 1993). Al microscopio óptico se presenta como una banda difusa, ancha, de apariencia escalonada, como una estría de Retzius acentuada (Allan, 1959). Las investigaciones basadas en microscopía electrónica de barrido revelan un cambio muy abrupto en la orientación de los prismas, así como cambios estructurales dentro de cada prisma (Sabel *et al.*, 2008; Whittaker y Richards, 1978). Entre los factores responsables de la formación de la propia línea, además del proceso de nacimiento, se han señalado los cambios ambientales y de la dieta (Antoine *et al.*, 2009).

La línea neonatal tiende a ser más ancha en niños que han experimentado complicaciones en el nacimiento y suele observarse tras el nacimiento macroscópicamente como un defecto hipoplásico (Antoine, 2001; Christensen y Kraus, 1965). Su posición resulta relacionada con la edad de gestación, desplazándose hacia la cara oclusal en los prematuros (Schour, 1936; Skinner y Dupras, 1993). A pesar de todo, la técnica posee algunas desventajas importantes: ante todo, es un método invasivo que implica la destrucción de la muestra; en segundo lugar, los patrones de visualización de la línea cambian según se utilice microscopía óptica o de barrido (Cattaneo y Grandi, 2004).

### **1.3.2 Edad dental en infantes y adolescentes**

En 1837, Edwin Saunders propuso al Parlamento Inglés utilizar el grado de erupción dental como método para estimar la edad de los niños que eran empleados en las fábricas, cuyo límite legal se situaba en los nueve años (Cameriere *et al.*, 2005). En infantes y adolescentes los métodos más utilizados son el estudio de la maduración y de la erupción gradual de los dientes en la cavidad bucal. En el momento del nacimiento, todos los dientes están ya preparados en los huesos de la mandíbula y del maxilar. En la emergencia de los dientes, la dentición temporal y la permanente están separadas por aproximadamente dos años. Con aproximadamente 6 meses de edad, primero los incisivos superiores e inferiores, y luego los molares, empiezan a emerger. Este tipo de dentición (decidua o de leche), será completa cuando el individuo tenga 2-2,5 años de edad y cuando cumpla 4 años todos los dientes deciduos estarán ya completamente formados. Los dientes permanentes están parcialmente formados en los individuos de entre 0

y 3 años pero la erupción de los primeros de ellos (primeros molares inferiores e incisivos) comienza más tarde, alrededor de los 6-8 años. En una segunda fase (11-12 años), que dura aproximadamente 15 meses, emergen los caninos, premolares y segundos molares definitivos, de manera que hay un periodo de pausa de acerca de dos años entre la emergencia de los dos grupos de dientes permanentes. El último tipo de diente en aparecer es el tercer molar, cuya edad de emergencia es más variable que en el resto de las piezas dentales.

La erupción no es un buen indicador de la edad cuando se utiliza de forma aislada, debido a diversas causas (Ubelaker, 1987): 1) variabilidad interindividual. Entre niños de la misma edad cronológica y sexo, los patrones de la erupción (erupción precoz o retardada) están mediados por numerosos factores de carácter genético o ambiental (pérdida prematura del diente temporal, procesos infecciosos locales, dientes retenidos, etc.); 2) no sigue una secuencia continua, ya que una vez formada la dentición decidua (sobre los 24-30 meses), no se producen variaciones en la erupción hasta los 6 años en que aparece el primer diente permanente por lo que no es posible utilizar este indicador en un periodo comprendido entre los 2, 2 años y medio y los 6 años; 3) finalmente, no es un método válido cuando sólo contamos con dientes aislados (Martín Cerrato, 2010). No obstante, el análisis de la erupción es un buen método, rápido, útil y económico, para realizar un diagnóstico preliminar de la edad de estos individuos. Para establecer la edad dental en infantes y adolescentes de una manera fiable, se debe evaluar los estadios de mineralización y no solo observar el momento de la emergencia, por los problemas que plantea el diagnóstico de la edad dental exclusivamente por este método. En cuanto a la mineralización, existen muchos estándares conocidos y la



mayoría de ellos se ha desarrollado sobre población norteamericana o de Europa del norte (Haavikko, 1970; Demirjian *et al.*, 1973; Anderson *et al.*, 1977; Demirjian, 1976; Moorrees *et al.*, 1963; Nielsen y Ravn, 1976), existiendo también algunos estándares para población negra, de América Latina, de Oriente Próximo y de China (Bagherpour *et al.*, 2010; Loevy, 1983; Nichols *et al.*, 1983; Chen, 2010). El método desarrollado por Demirjian *et al.* (1973), en una muestra de radiografías de la mandíbula de niños franco-canadienses, parece ser hasta ahora el más sencillo y el que tiene más reproducibilidad, es decir, el que tiene más posibilidades de ser utilizado por otro investigador y con una error inter-observador muy reducido. Sin embargo, este método se ha demostrado menos fiable a la hora de ser aplicado en poblaciones distintas a la de origen.

En estos últimos años, tal y como lo demuestran los trabajos de investigación de Liversidge y Molleson (1999) que analizaron la longitud de los dientes permanentes y de Cameriere *et al.* (2006), que estudiaron la altura y la amplitud de los ápices abiertos de las raíces de los dientes permanentes en formación, se han obtenido resultado de gran fiabilidad en la estimación de la edad de niños comprendido entre 3 y 15 años. Se han desarrollado fórmulas de regresión muy sencillas, fácil de aplicar, y con un coeficiente de correlación muy bueno entre edad cronológica y edad dental estimada.

En el caso de los adolescentes, aparte de las técnicas anteriormente descritas, sobre todo en las situaciones hoy en día muy frecuentes de menores indocumentados y de individuos sometidos a procedimientos penales, será necesario acreditar documentalmente su edad cronológica, y en el caso de que no pueda ser así, se ha de proceder a la estimación de la edad biológica de estos sujetos como

base de la edad cronológica. Las implicaciones que conlleva la estimación de la edad en los menores indocumentados, obligan a ser muy cautos en su valoración, aplicando aquellos métodos que tenemos a nuestro alcance, los de mayor precisión, y conociendo especialmente sus limitaciones y posibles errores para poder transmitirlo en su conjunto al juez correspondiente (Cattaneo *et al.*, 2007; Martín Cerrato, 2010; Garamendi, 2003).

Después de la completa formación del segundo molar permanente, a raíz de la variabilidad que presenta el tercer molar, la estimación de la edad en los adolescentes se complica aún más. Este diente se caracteriza por su elevado porcentaje de agenesia, y por su crecimiento irregular, siendo su secuencia de maduración y desarrollo más precoz en los hombres que en las mujeres, al contrario que el resto de la dentición (Adler y Adler-Hradecky, 1962; Liversidge, 2008, 2010). No es sorprendente, por tanto, que la correlación entre edad y formación del tercer molar sea bastante relativa. Sin embargo, dado que no hay otros indicadores biológicos más fiables para este intervalo de tiempo, los terceros molares son utilizados, a menudo juntos con otros indicadores óseos, para valorar la edad juvenil o adulta, mayor o menor de 18 años, en sujetos que carecen de documentación.

Hasta la actualidad se han desarrollado diversos estudios en distintas poblaciones, a fin de observar la utilidad del tercer molar como indicador fiable de la edad (Blankenship *et al.*, 2007; Cameriere *et al.*, 2008; Garamendi *et al.*, 2003, 2005; Kulmann *et al.*, 1992; Meinl *et al.*, 2007; Martín-de las Heras, 2008; Mincer *et al.*, 1993; Olze *et al.*, 2007; Orhan *et al.*, 2007; Prieto *et al.*, 2005). Esto demuestra que el origen de la población de referencia sobre la que se desarrollan unos determinados estándares es un factor de gran importancia, debido a la

influencia de factores genéticos, nutricionales o geográficos (Martín Cerrato, 2010).

En España, Garamendi *et al.* (2003) han estudiado una muestra de 114 varones de origen marroquí, inmigrantes ilegales, cuya edad real fue obtenida con posterioridad. El examen incluyó el estudio radiográfico dental para la estimación de la maduración del tercer molar según el método propuesto por Demirjian *et al.* (1973). Los resultados demostraron que este método constituye un buen método diagnóstico de la edad, aunque se trató de incrementar su eficacia al combinarse con los métodos de valoración de la maduración ósea. En otro estudio, basado en el método de Demirjian *et al.* (1973), Martín-de las Heras *et al.* (2008) analizaron el desarrollo del tercer molar en tres poblaciones de origen distinto: las radiografías panorámicas de dos poblaciones españolas (Galicia y Ceuta) se compararon con las de una población de origen magrebí residente en Ceuta. Los resultados obtenidos, demostraron una buena correlación en el 38 (tercer molar inferior izquierdo) entre edad cronológica y edad estimada en las tres poblaciones analizadas.

## **1.4 Cambios dentales relacionados con la edad en adultos**

### **1.4.1 Cambios morfológicos**

En la actualidad, existen una gran variedad de métodos de estimación de la edad mediante el estudio dentario, por lo que sólo se han seleccionado los que, por su utilidad práctica, suponen una contribución de interés en este campo: desgaste del esmalte; cambios de color; retracción periodontal; aposición de cemento radicular;

transparencia radicular; reabsorción de la raíz; aposición de dentina secundaria.

Los primeros estudios, acerca de la estimación de la edad dental, se basaron en el grado de **desgaste dental** (González Colmenares, 2007). En todas las especies, tras la erupción en la cavidad oral, los tejidos dentales están sometidos a un paulatino proceso de envejecimiento (Baker *et al.*, 1959). Por eso, el desgaste dental ha sido utilizado con frecuencia como un método sencillo para la estimación de la edad, con la ventaja de ser un elemento de fácil observación tanto en vivos como en muertos (Santini *et al.*, 1990; Richards y Miller, 1991; Young-Ku *et al.*, 2000). Dejando al margen la erosión dental producida por vómitos crónicos o la ingestión reiterada de cítricos, el desgaste puede ser esencialmente de dos tipos: atrición y abrasión (Figura 5).



**Figura 5.** Desgaste por abrasión en los primeros molares inferiores derechos (Foto Stefano De Luca y Joan Viciano).

El primero se debe al contacto físico entre dientes opuestos mientras la abrasión está relacionada con el desgaste mecánico

provocado por las distintas estrategias de supervivencia. Toda partícula u objeto duro que llegue a la cavidad oral y roza los dientes, puede originar desgaste, a causa de la presión de las mejillas, de la lengua o de la comida (Trancho y Robledo, 2002). A raíz de eso, a la hora de valorar el desgaste como indicador de edad, hay que tener en cuenta una serie de factores que pueden producir diferentes tipos de atrición: el tipo de alimentación, patologías como el bruxismo, así como el tipo de oclusión y morfología dentaria, entre otros. Esto representa seguramente una desventaja cuando se usa por sí solo como indicador de edad dental, debiéndose emplear en combinación con otros parámetros morfológicos (Dahl *et al.*, 1993).

Cate *et al.* (1977) demostraron que puede estimarse la edad a partir de la comparación del **color de la dentina radicular** con un estándar conocido, utilizando la medida de la densidad óptica de color a partir de fotografías (Solheim, 1988). Las ventajas de esta técnica sobre otros métodos son las siguientes: se puede realizar con mínimos conocimientos de la anatomía dental; no requiere mucho tiempo para el análisis; se conserva la integridad del diente. Los inconvenientes se centran en la necesidad de extraer el diente, en los cambios de coloración debidos al calor, en los efectos tafonómicos en cadáveres enterrados o de larga evolución y en la difícil objetividad de las observaciones (Martín de las Heras, 2005). Además, en restos antiguos, el método no ha mostrado una correlación muy fuerte con la edad (Martín de las Heras *et al.*, 2003).

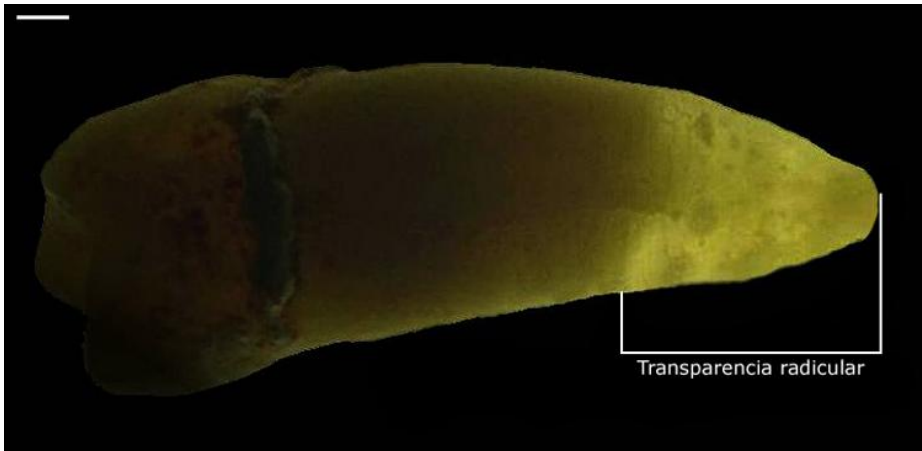
La **retracción periodontal** se produce por la destrucción de las fibras periodontales en su borde cervical, avanzando en dirección apical con la edad. Los procesos inflamatorios, agudos o crónicos de las

enciás, como la enfermedad periodontal, limitan la utilización de este parámetro para el cálculo de la edad (Martín de las Heras, 2005).

En preparaciones histológicas, de secciones transversales, de la raíz dentaria se pueden observar, alternativamente, bandas concéntricas claras y oscuras, visibles a la luz polarizada, que representan la renovación continua del cemento radicular (Kagerer y Grupe, 2001; Jankauskas *et al.*, 2001; Renz *et al.*, 1997; Stott *et al.*, 1982). La **posición del cemento** se ha probado que aumenta con la edad, de forma que la capa incrementa tres veces su tamaño entre los 16 y 76 años (Kvaal y Solheim, 1995; Martín de las Heras, 2005; Wittwer-Backofen *et al.*, 2004). Sin embargo, las causas del depósito en bandas diferentes, al igual que en otros mamíferos, son poco conocidas. Parece que cada anillo corresponde a un periodo de un año, comparable con el crecimiento anual de los anillos de un árbol (Lieberman, 1994; Stott *et al.*, 1982). El recuento de estos anillos ha sido usado como método para la estimación de la edad aunque con serias limitaciones (Renz y Radlansky, 2006). Definitivamente, esta metodología no es capaz de sustituir completamente los métodos morfológicos, pero se considera como un complemento valioso en el repertorio de métodos a aplicar en la estimación de la edad.

La **transparencia radicular** se debe al incremento de depósitos de cristales de hidroxiapatita en la dentina peritubular, lo que cambia el índice refractario de la dentina radicular. El proceso empieza en la zona apical y se extiende hacia la corona con el transcurso de los años. Para observarla es necesaria una fuente de luz directa colocada debajo de la pieza dentaria (González Colmenares, 2007; Lamendin *et al.*, 1992; Prince y Ubelaker, 2002) (Figura 6).

Se observa una fuerte correlación del fenómeno con la edad, sobre todo con los incisivos y premolares, para individuos de edad comprendida entre 40 y 65 años. El método no es aplicable en restos antiguos (Foti *et al.*, 2001; González Colmenares, 2007; Megyesi *et al.*, 2006).



**Figura 6.** Transparencia radicular en un premolar inferior derecho de un cadáver (González Colmenares, 2007)

La **reabsorción de la raíz** y el aumento de la rugosidad de la superficie radicular han sido propuestos como otra modificación dentaria relacionada con el envejecimiento. Por sí sola presenta una baja correlación con la edad, por lo cual es recomendable su utilizzo en combinación con otros cambios dentales (Martín de las Heras, 2005).

Todos los tejidos vitales del diente cambian y crecen; la dentina no es la excepción. Se considera un tejido vivo por contener los odontoblastos que, después de que el diente esté totalmente formado, producen durante toda la vida un depósito de **dentina secundaria**, ya sea por razones fisiológicas o por estímulos patológicos. Con esto y según el tipo de diente, la cámara pulpar disminuye de tamaño, así como también los conductos radiculares (Bodecker, 1925; Vasiliadis *et*

*al.*, 1983). Frecuentemente, en personas de 60-65 años de edad, el conducto radicular puede encontrarse casi completamente obliterado y la dentina secundaria que se ha formado es altamente irregular, con pocos túbulos dentinarios. En la práctica, tanto la cuantificación de la dentina secundaria, como la reducción de la cavidad pulpar, pueden ser usadas como métodos para la estimación de la edad (Cameriere *et al.*, 2004, 2006, 2007, 2009; Cattaneo y Grandi, 2004; De Luca *et al.*, 2010, 2011; Kvaal y Solheim, 1994; Paewinsky *et al.*, 2005; Ritz-Timme *et al.*, 2000; Senawongse *et al.*, 2006; Tsurumachi *et al.*, 2008). El estudio de la dentina tiene interés en la práctica forense por las siguientes razones: la dentina se encuentra aislada del medio externo por el tejido más resistente del organismo, el esmalte, lo que le confiere una alta resistencia a los agentes físicos, químicos y a la putrefacción; por otra parte, la dentina es una estructura relativamente estática que, una vez formada, no se ve sometida a procesos de reabsorción o regeneración como el hueso. A su vez está en íntimo contacto con la pulpa, por tanto, los procesos de hipoxia e isquemia que ocurren con el envejecimiento pueden traducirse en cambios en su composición; la dentina es un tejido con una alta composición mineral (70%), lo que contribuye a su resistencia. Además un 20% está formado por materia orgánica, principalmente colágeno, que se modifica lentamente con el envejecimiento.

El estudio de todos estos cambios morfológicos, se ha aprovechado, desde el punto de vista forense, para proponer modelos que permitan un cálculo, lo más aproximado posible, de la edad cronológica del sujeto.

En este sentido, Gustafson (1950) creó el primer método científico basado en el estudio de los cambios morfológicos en el diente



seccionado, obteniendo resultados más o menos correctos. Este método supone algunos inconvenientes que se presentan a continuación. La técnica de Gustafson se basa en seis cambios que suceden con la edad en los distintos tejidos dentarios. Tales cambios son la atrición, la aposición de dentina secundaria, la transparencia radicular, el grado de periodontosis, la aposición de cemento y la reabsorción gradual del ápice de la raíz. Tras realizar un corte sagital del diente, los parámetros fueron cuantificados de 0 a 3 en una muestra de 41 dientes extraídos de sujetos de edades conocidas, con un rango de edad entre 11 y 69 años. A través de una serie de fórmulas, en las que se introducía el valor total de la suma de las puntuaciones de los cambios valorados, se obtuvo una regresión lineal mediante la siguiente fórmula:

$$y = 11.43 + 4.56x$$

Donde  $y$  = edad,  $x$  = suma de puntuaciones obtenidas. El método permite estimar la edad con un error de  $\pm 10$  años en las mejores condiciones. No obstante, la técnica de Gustafson presenta una menor precisión al aplicarla en otras muestras. Esto se debería, por una parte, a datos estadísticos equivocados, consecuencia de errores significativos (técnicos, metodológicos y de interpretación) observados en la técnica original y, por otra parte, a las características de la misma muestra seleccionada por Gustafson (1950). De hecho, algunos autores (Maples y Rice, 1979), usando la técnica original o modificada, plantearon dificultades en reproducir la precisión de los resultados publicados, especialmente en lo que se refiere al error de 3,6 años del cual hablaba el mismo Gustafson. Si ahora se analizan los resultados de Gustafson, su error final es de 7,2 años. El error de 3,6 años, en realidad, se refería a la primera muestra de 90 individuos.

A partir de este estudio, se desarrollaron otros más precisos, con base en las mismas observaciones (Bang y Ramm, 1970; Johanson, 1971; Maples, 1978; Shiro-Ito, 1975; Solheim, 1993). El objetivo principal era desarrollar métodos cada vez más fiables, a la par que más rápidos y fáciles de aplicar.

#### **1.4.2 Cambios histológicos**

En el esmalte se produce una disminución de la permeabilidad y un aumento del depósito de nitrógeno. Recordemos que el esmalte, en su componente orgánico, está formado por carbono, oxígeno y nitrógeno (Gil-Chavarría *et al.*, 2007). Sin embargo, otros factores, como los productos blanqueadores, pueden alterar el contenido orgánico del esmalte dental (Pérez Vargas *et al.*, 2004).

En el complejo dentino-pulpar también se detectan cambios histológicos: en la pulpa tiene lugar una disminución de los elementos celulares, especialmente de los fibrocitos, así como un aumento en la cantidad de las fibras de colágeno con el paso de los años, produciéndose una calcificación intra-pulpar (Takatoshi y Shimoda, 2007). A veces, se puede confundir la calcificación fisiológica de la pulpa con calcificaciones del tejido pulpar debidas a depósitos de ácido úrico o a la endodoncia (Siskos y Georgopoulou, 2006). Además, se ha descrito una formación acelerada de dentina y un aumento de la calcificación de la dentina primaria (Valenzuela y Martín de las Heras, 2004). Los métodos requieren una sección del diente y, además, las investigaciones llevadas a cabo hasta el momento no han podido averiguar relaciones estadísticamente significativas entre estas variables y la edad cronológica del sujeto (Martín de las Heras, 2005)

### 1.4.3 Cambios bioquímicos

La **racemización del ácido aspártico** en esmalte, dentina y cemento parece ofrecer resultados muy satisfactorios (Bada *et al.*, 1973). La racemización de este aminoácido, es decir, la transformación de su forma levógira (L) en su forma dextrógira (D), se produce de manera más estable y duradera. El método se puede aplicar en casos forenses más recientes y en restos antiguos (Ogino *et al.*, 1985). A partir del primer estudio de Helfman y Bada (1975), realizado en esmalte y posteriormente en dentina, un gran número de investigaciones (Ogino *et al.*, 1985; Ohtani, 1991; Pfeiffer *et al.*, 1995; Ritz *et al.*, 1990) ha demostrado la excelente precisión de este método, confirmando una mayor correlación en la dentina, bien coronal o de la raíz. En la práctica forense, cuando gran parte de la corona del diente desaparece a causa de varios factores (caries, altas temperaturas, empastes, etc.), se puede recurrir al análisis de la dentina de la raíz que suele quedar intacta. La ventaja de la utilización de dentina y esmalte es que no presentan prácticamente remodelación de sus componentes y la forma D se acumula en proteínas metabólicamente estables.

Los resultados de los trabajos realizados muestran un error de  $\pm 4$  años para algunos autores (Ogino *et al.*, 1985) y de  $\pm 5,69$  años para otros (Ritz *et al.*, 1990). Este error aumenta en individuos de edad muy avanzada. No obstante, no existe todavía una estimación precisa del intervalo de error en esta categoría de edad. Se ha demostrado que, en individuos jóvenes, el grado de racemización es más elevado en la dentina coronal que en la de la raíz. En cambio, en los individuos más ancianos, ocurre lo contrario (Ohtani y Yamamoto, 1987). Pese a la fiabilidad del método, varios investigadores han hecho hincapié en la

falta de reproducibilidad de la técnica. (Martín de las Heras *et al.*, 1999).

Recientemente, Martín de las Heras *et al.* (1999), un equipo de investigadores de la Universidad de Granada, han propuesto un método basado en la determinación de **deoxipiridinolina (DPD)**. Este aminoácido es un marcador óseo bioquímico relacionado con el proceso de remodelación del hueso y cuyo aumento es proporcional a la edad del individuo. Se encuentra casi exclusivamente en el hueso y en la dentina (se han encontrado muy pequeñas cantidades en tejidos blandos como ligamentos y aorta). No está presente en el colágeno de la piel, no se metaboliza en el hígado, no se absorbe en el intestino ni se ve influenciada por la dieta. El análisis forense de la deoxipiridinolina proporcionó un resultado con un error de 14,9 años y un intervalo de confianza del 65%. De momento, hay que destacar su utilidad como método alternativo o complementario a otras técnicas morfológicas o bioquímicas de estimación de la edad en adultos (Martín de las Heras, 2005; Prieto, 2002).

## **1.5 Radiología dental**

### **1.5.1 Estado del arte**

La identificación humana es un proceso que reúne las más diversas áreas del conocimiento, pudiendo estar o no asociada a recursos computarizados o de imágenes. En España, podemos considerar al Doctor Antonio Ortega Piga (1974) como pionero de la técnica radiográfica dental en el ámbito forense. En el 1974 realizó un trabajo de fin de carrera titulado: *Identificación médico-legal: técnica radiológica maxilofacial*, en el cual explica de forma detallada los

métodos de identificación dental y las técnicas radiológicas apropiadas. De hecho, el uso de la radiología en Odontología Forense puede presentar importantes variaciones respecto a su uso en Odontología Clínica. Según se trate de sujetos vivos, de restos óseos con o sin partes blandas, la técnica utilizada tendrá que variar (Goaz y White, 1994; Mckenna, 1999; Prieto Carrero, 2002). Las principales ventajas del uso forense de la técnica radiográfica dental son las siguientes: proporciona mucha información acerca de aquellas características morfológicas que no son perceptibles a simple vista. De hecho, es posible, como veremos, con el debido cuidado, realizar mediciones de longitudes y ángulos; no es destructiva, ventaja importante si estamos trabajando con hallazgos antiguos y valiosos; la rapidez con la que se pueden conseguir resultados; la posibilidad de conservar los registros radiográficos que, digitalizados, no se deteriorarán; representa un método seguramente muy económico y eficaz.

A pesar de lo anterior, cabe considerar también las complicaciones que plantea su utilización, como por ejemplo la cantidad de radiaciones. No obstante, hay que señalar que la dosis de exposición a radiación en los procedimientos radiográficos intra-orales y extra-orales se han reducido enormemente a lo largo de las pasadas décadas. Además la reducción en el tiempo de exposición, con el uso de radiografía digital directa, es bien conocida y no supone ninguna pérdida de información diagnóstica (Geist y Katz, 2002). Se requieren conocimientos importantes de técnica y anatomía radiológicas para la correcta interpretación de las imágenes obtenidas. Queda fuera de los objetivos de este trabajo conocer todas las peculiaridades de las imágenes radiológicas, las cuales entran en el campo de investigación de los especialistas. Me limitaré a describir cómo se presentan, en una

radiografía, las estructuras anatómicas e histológicas descritas en los capítulos anteriores.

En la radiografía de un diente se pueden apreciar las siguientes estructuras o tejidos (Pasler, 1992): **esmalte**: es una banda radiopaca que cubre la corona del diente y termina a nivel del cuello dentario. Es la estructura más radiopaca que se puede observar. Sólo algunos materiales odontológicos la superan. En una radiografía, por ejemplo, la amalgama de plata, material utilizado en el tratamiento de la caries, aparece brillante y mucho más radiopaco que el esmalte dental; **dentina**: es algo menos radiopaca que el esmalte, de una densidad similar al hueso. Constituye parte de la corona y de la raíz del diente; **pulpa**: se ve como una cámara radiotransparente de mayor tamaño en la corona y que se continúa estrechándose hasta el ápice de la raíz; **cemento**: es difícil observarlo radiológicamente porque forma una capa muy fina alrededor de la raíz. En caso de hipercementosis (HC), se puede observar con más precisión. Tiene una densidad ligeramente menor que la de la dentina.

### 1.5.2 Técnicas de radiología oral

El conjunto de técnicas y procedimientos para obtener una imagen radiográfica es múltiple y complejo. Es oportuno distinguir entre técnicas convencionales y técnicas especiales. Las primeras son aquellas que están utilizándose desde hace más de 100 años y que se pueden considerar pioneras en el radiodiagnóstico. Aunque han evolucionado en algunos aspectos técnicos, siguen teniendo en común con aquellas: tubo generador de rayos X (Tubo de Hittorf-Crookes); medio material al que dirigir el haz de radiaciones; receptor de imagen

en el que recoger el mensaje fotónico (radiación remanente) (Chimenos Küstner, 2005).

Por el contrario, se llaman técnicas especiales las que precisan de la presencia de un ordenador para producir la imagen. En el último decenio ha aparecido la radiología digital, intra-oral y ortopantomográfica. Ésta, a pesar del uso cada vez más frecuente del ordenador, sigue clasificándose como técnica convencional. El resultado final de la exploración, la imagen, y el proceso a partir del cual se logra el fin último del estudio, el diagnóstico, siguen siendo iguales. Lo que ha cambiado es el receptor de imagen, que no es película radiográfica, sino dispositivo electrónico con una mayor sensibilidad que el anterior.

Las funciones de cada técnica varían mucho según el tipo de muestra y la información que queramos conseguir (Pasler, 1988; Whaites, 1992). Se suelen distinguir en:

- Técnicas radiográficas intra-orales: en esta clase de técnicas la película se coloca dentro de la cavidad bucal. Existen varios procedimientos: **radiografías peri-apicales** o retro-alveolares, inter-proximales o de aleta de mordida y oclusales.
- Técnicas radiográficas extra-orales: en esta clase de técnicas la película se coloca fuera de la cavidad oral. De ellas la más conocida es la **ortopantomografía** o **radiografía panorámica**. En este caso se utilizan aparatos más sofisticados que deben ser manejados por un experto. Hay que recordar también la telerradiografía lateral de cráneo (cefalometría), la naso-mento-placa (explora los senos maxilares y la cavidad nasal), las proyecciones desenfaladas para ramas mandibulares, la proyección transcraneal oblicua de la articulación

temporomandibular y otras que incorporan nuevas tecnologías como la tomografía computarizada y la resonancia magnética (RM).

La **radiografía peri-apical** es una técnica exploratoria utilizada tanto en clínica como en Odontología Forense porque brinda la posibilidad de observar el diente completo y con detalles (desde la corona hasta el ápice, así como el espacio periodontal y el hueso adyacente). En cambio, mediante la **ortopantomografía** o **radiografía panorámica**, podemos conseguir, en una sola placa, una visión completa de los dientes, las estructuras óseas adyacentes, el periodonto (estructura formada por la encía, el ligamento periodontal, el hueso alveolar y el cemento) y algunas estructuras faciales. Esta técnica reduce la dosis de radiación en un 90% con respecto a las series radiográficas peri-apicales. Sus principales desventajas son: la distorsión que se produce en determinadas zonas, la menor nitidez y pérdida de detalle, la deformación y magnificación de la imagen. Además, el aparato de ortopantomografía no es portátil como, muy a menudo, lo es en las técnicas intra-orales o peri-apicales (Beeching, 1983).

El estudio radiográfico puede ser efectuado en las salas de autopsias, donde se requiere un examen inmediato para la comparación con las fichas dentales *antemortem* del individuo o bien sobre el terreno, como ocurre en el caso de grandes catástrofes o desastres de masa, donde se requiere la presencia de aparatos portátiles por parte de los expertos forenses. Actualmente, a raíz del incremento mundial de los desastres de masa, este aparato es utilizado por numerosos especialistas forenses. En Tailandia, por ejemplo, o en Nueva Orleans, ha sido fundamental en el desarrollo de las tareas de identificación de



las víctimas del tsunami y del huracán Katrina (Figura 7). Aprobado por la FDI para su comercialización en los EE.UU. y en Europa, este moderno aparato incorpora blindaje interno para bloquear el escape de radiación y un escudo de retrodispersión para proteger al operador de los rayos-X dispersados por parte del individuo (Figura 8).



**Figura 7.** Uso del aparato portátil “Aribex Nomad Pro” en contextos forenses y maletín para el transporte (Foto Dra. Tzipi Kahana).



**Figura 8.** Uso del aparato portátil “Aribex Nomad Pro” en restos óseos antiguos de la colección identificada del Museo de Antropología de la Universidad de Coímbra (Foto Stefano De Luca).

### 1.5.3 Radiografía peri-apical o retro-alveolar

En el caso de tener dientes sueltos, la única precaución será la de colocar el diente lo más paralelo posible a la placa radiográfica y modificar la distancia al tubo de rayos intentando minimizar la

magnificación de la imagen del diente. Si los dientes están unidos al hueso alveolar, disponemos de dos técnicas para tratar de evitar la distorsión: **técnica de la bisección** o **de cono corto** (Figura 9) y **técnica paralela** o **de cilindro largo** (Figura 10).

En la primera, la película se ha de situar por dentro del maxilar o de la mandíbula, en la cara lingual del diente. De aquí el término de técnica retro-alveolar o retro-dentaria, de manera que la placa profundice en la bóveda palatina o en el suelo bucal, para permitir la exploración de la zona apical. De aquí la denominación de peri-apical. El eje central del foco ha de ser perpendicular a la bisectriz del ángulo formado entre el eje del diente y el eje de la placa. Los rayos enfocan al ápice del diente. Pese a la rapidez de la técnica, distorsiona bastante la imagen. Por eso puede ser válida para medir, pero hay que ser cautos si se quieren describir características morfológicas.

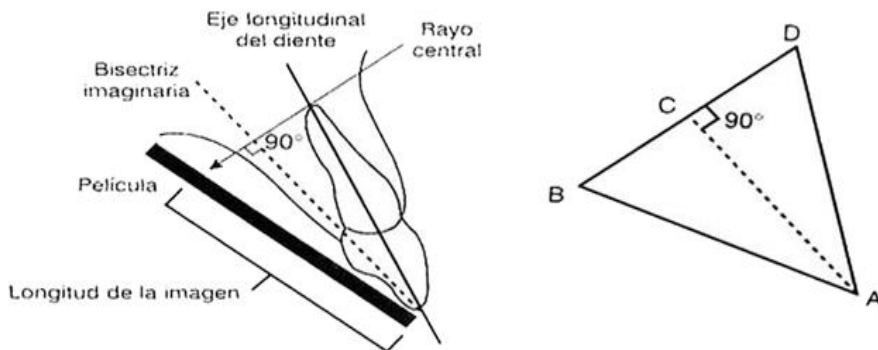


Figura 9. Esquema para la aplicación de la técnica de la bisección o de cono corto.

En la segunda, se coloca el diente paralelo a la placa y ambos perpendiculares al eje de rayos. Estos enfocan al centro del diente. Para sujetar el diente en posición, en caso de dientes sueltos, es importante utilizar material radiotransparente, como siliconas. Lo ideal sería el uso de cinta adhesiva o pequeños trozos de plastilina.

Esta técnica, además, requiere un sistema de sujeción de la película que permita su colocación paralela al diente. La imagen, en este caso, presenta menor distorsión que con la técnica de bisectriz (Figura 10) (Chimenos Küstner, 2005).

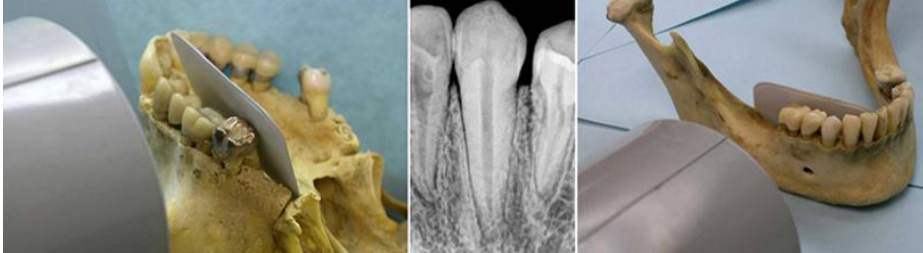


Figura 10. Aplicación de la técnica paralela o de cilindro largo y resultado final (Foto y rayos-X Stefano De Luca).

#### 1.5.4 Técnica de radiología oral digital

Desde el descubrimiento de los rayos X, el receptor de imagen más utilizado ha sido algún tipo de película fotográfica. A pesar de sus ventajas, hay que resaltar algunos inconvenientes: dosis relativamente elevadas de exposición y la necesidad de un procesamiento químico con soluciones potencialmente contaminantes y alergénicas. La aplicación de la tecnología informática a la radiología ha permitido la adquisición, el almacenamiento, la recuperación y la transmisión de imágenes a lugares remotos en formato digital. Existen dos métodos para obtener una imagen radiográfica digital: la **imagen radiográfica digitalizada** y la **imagen radiográfica digital**. La diferencia entre ambas consiste en que la imagen digitalizada se obtiene mediante el escaneo o la captura fotográfica de la imagen de una placa radiográfica, convirtiendo así una imagen analógica en una imagen digital, mientras que la radiografía digital se obtiene mediante la captura digital directa

de la imagen para convertir los rayos-X directamente a señales electrónicas (Quiros y Quiros, 2005).

La radiografía digital directa, a diferencia de la radiografía digitalizada, utiliza sensores electrónicos sensibles a los rayos-X que son colocados de manera similar a la película común. El sensor electrónico va conectado a un ordenador, creando una imagen radiológica que será visualizada inmediatamente en la pantalla (Figura 11).



**Figura 11.** Ejemplo de radiografía digital directa con captador de imagen (Foto Stefano De Luca y Fernando Navarro).

Uno de los mayores avances de la radiología digital es la separación de la captación de la imagen de las funciones de presentación. La imagen puede ser procesada, respecto a sus características de densidad, brillo y contraste, para fines diagnósticos específicos o para mediciones. Otra gran ventaja es la reducción del 50 al 90% en la exposición para los técnicos que trabajen con ella. En las radiografías peri-apicales o intra-orales digitales, la carga radioactiva es casi 10 veces menor que la de las películas radiográficas. Finalmente,

esta técnica permite eliminar el procesado húmedo, la necesidad del cuarto oscuro y la considerable reducción del tiempo que transcurre entre la captación y la presentación de la imagen digitalizada. Una vez obtenida la imagen digital se puede proceder a la visualización y optimización de la información mediante programas y software específicos. Muchos de estos programas son desarrollados por los propios fabricantes de los sistemas de radiología digital (Kodak®), mientras que otros consisten en programas comerciales de tratamiento genérico de la imagen digital (Adobe® Photoshop o Corel® Draw para Windows®) o forman parte de las iniciativas de software libre (GMP o ImageJ) (Mol, 2000).

Sin embargo, frente a las ventajas teóricamente incuestionable de la radiología digital, se ha argumentado en su contra: la necesidad de una mayor documentación que demuestre realmente una disminución en la tasa de repeticiones (con el ordenador, el empleo del posicionador es más complicado o más inseguro en vivos); los receptores tipo CCD se conectan mediante un cable al ordenador, de modo que el sujeto vivo no puede cerrar completamente la boca en el momento del disparo para una aleta de mordida; la menor manejabilidad del receptor frente a la película convencional.



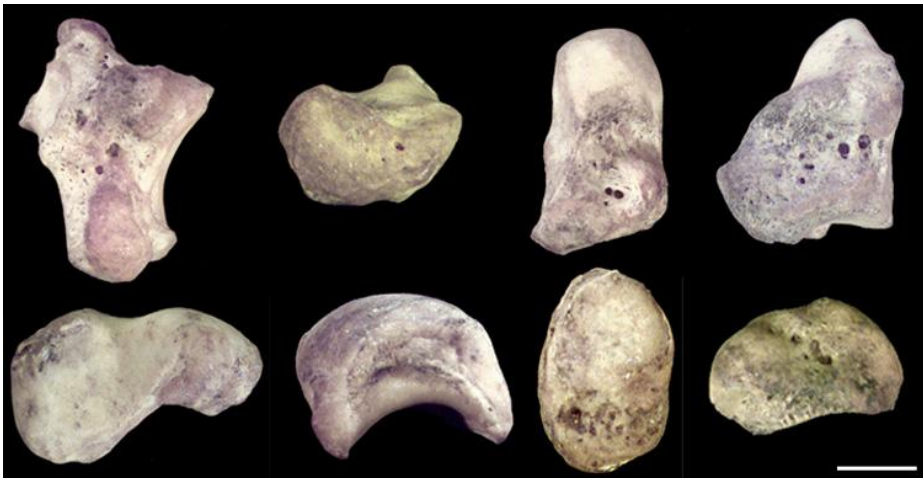
## **CAPÍTULO 2**



## 2.1 Anatomía osteo-articular del carpo

### 2.1.1 Huesos del carpo

Cada mano posee 27 huesos, ocho en el carpo, 5 metacarpianos y un total de 14 falanges. El pulgar sólo tiene dos falanges mientras el resto de los dedos tiene tres. Aunque se le considera como una sola articulación, la muñeca es en realidad una articulación compuesta, con movimiento global, debido a las interacciones entre los huesos individuales del carpo, así como interacciones distales con las bases de los metacarpianos y en dirección proximal con la superficie articular distal de cubito y radio (Figura 1).



**Figura 1.** Huesos del carpo de la mano derecha. De izquierda a derecha y de arriba abajo: trapecio, trapezoide, grande, ganchoso, escafoides, semilunar, piramidal, pisiforme (Foto Dr. Miguel C. Botella y Dra. Paola Mastrangelo).

Los huesos del carpo de la muñeca se disponen en dos filas, una proximal y la otra distal, cada una formada por cuatro pequeños huesos. Todos los huesos del carpo son irregularmente cuboides y por consiguiente tienen seis caras. De estas caras, dos, la anterior o palmar



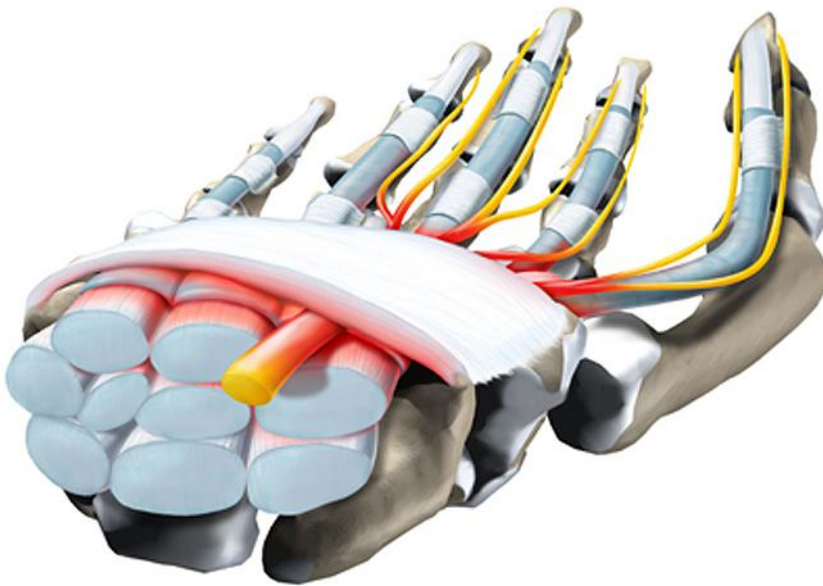
y la posterior o dorsal, son rugosas y están en relación con las partes blandas de la región palmar y dorsal. Las otras cuatro, superior o braquial, inferior o metacarpiana, externa o radial e interna o cubital, son lisas y están recubiertas de cartílago.

De lateral a medial, y vista desde la parte anterior, la fila proximal de huesos está formada por el escafoides con forma de barco; el semilunar que se parece a una media luna; el piramidal que tiene tres caras y el pisiforme con forma de guisante. El pisiforme es un hueso sesamoideo incluido en el tendón del flexor cubital del carpo y se articula con la superficie anterior del piramidal. El escafoides tiene un tubérculo prominente en la zona lateral de su cara palmar que se dirige anteriormente.

De lateral a medial, vista desde la parte anterior, la fila distal de huesos está formada por el trapecio, de forma irregular, con cuatro lados; el trapecoide, de cuatro lados; el grande con una cabeza; el ganchoso que posee un gancho (apófisis unciforme). El trapecio se articula con el metacarpiano del pulgar y tiene, en su superficie palmar, un tubérculo bien diferenciado, que se proyecta anteriormente. El mayor de los huesos del carpo, el hueso grande, se articula con la base del III metacarpiano. El ganchoso, que se sitúa inmediatamente lateral y distal al pisiforme, tiene un gancho prominente en la superficie palmar, que se proyecta anteriormente.

Los huesos del carpo tienen numerosas superficies articulares. Todas ellas se articulan entre sí, y los huesos del carpo de la fila distal lo hacen con los metacarpianos de los dedos. Todas las articulaciones del carpo con los metacarpianos, menos la del pulgar, son muy poco móviles. Las grandes superficies proximales del escafoides y del semilunar se articulan con el radio y forman la mayor parte de la

articulación de la muñeca. Los huesos del carpo no se disponen en un plano coronal aplanado, sino que forman un arco, cuya base se dirige en sentido anterior. La parte lateral de la base está formada por los tubérculos de los huesos escafoides y trapecio. La parte medial está formada por el pisiforme y el gancho del hueso ganchoso. El retináculo flexor se extiende desde el lado medial al lateral de la base del carpo, para formar la pared lateral del llamado túnel del carpo. Los lados y el techo del túnel están formados por el arco de los huesos del carpo (Figura 2) (Drake *et al.*, 2005).



**Figura 2.** Túnel carpiano con inflamación del nervio mediano  
(Modificado de Drake *et al.*, 2005)

### 2.1.2 Articulación del carpo

La articulación de la muñeca es una articulación sinovial que se establece entre el extremo distal del radio y el disco articular situado en el extremo distal del cúbito, y los huesos escafoides, semilunar y

piramidal. Tenemos que imaginarnos en conjunto la superficies articulares de los huesos del carpo como un huevo de bordes convexos que se articula con la superficie cóncava del radio y del disco articular. Debido a eso, la articulación de la muñeca permite que se realicen movimientos en dos ejes, es decir, la mano se puede abducir, aducir, extender y flexionar en esta articulación.

Aunque el movimiento de las articulaciones el carpo es limitado, éstas contribuyen a desplazar la mano durante la abducción, la aducción, la flexión y especialmente durante la extensión. Como la apófisis estiloides del radio se proyecta más distalmente que la del cúbito, la mano por lo general se puede aducir más grados de los que se puede abducir.

Hay cinco articulaciones que se forman entre la fila distal de los huesos del carpo y los cinco huesos metacarpianos. Entre el primer metacarpiano y el trapecio existe una articulación en silla de montar que permite una gran amplitud de movimientos al dedo pulgar, a diferencia de los demás dedos. Los movimientos que se pueden realizar en la primera articulación carpo-metacarpiana son los siguientes: flexión, extensión, abducción, aducción, rotación y circunducción. Las articulaciones carpo-metacarpianas entre el segundo-quinto metacarpianos y los huesos del carpo son mucho menos móviles, y solamente permiten movimientos limitados de deslizamiento. El movimiento de las articulaciones más mediales es mayor que el de las laterales, de forma que el quinto metacarpiano se desliza más que lo demás. Esto se puede observar en la superficie dorsal de la mano cuando se cierra el puño (Drake *et al.*, 2005; Latarjet *et al.*, 2004).

### 2.1.3 Anatomía de los ligamentos del carpo

Las uniones entre los diversos huesos de la mano están reforzadas por un sistema de ligamentos que le permite desarrollar su función mientras ayuda a mantener sus relaciones anatómicas. Los ligamentos de la muñeca, según la clasificación de Taleisnik (1988), se dividen en intrínsecos y extrínsecos. Estos últimos se insertan en los huesos del carpo o proximales o distales a ellos, mientras que los intrínsecos se insertan por completo en los límites del carpo.

Los ligamentos extrínsecos palmares se clasifican como radio-carpianos y cubito-carpianos. Desde la apófisis estiloides del radio, de ulnar a radial, se describen los ligamentos radio-escafoideo-hueso grande, el radio-ulnar largo, el radio-escafo-semilunar y el radio-ulnar corto. El único ligamento extrínseco sobre el dorso del carpo es el radio-carpiano dorsal (radio-piramidal), que se define intra-capsular al igual que los ligamentos del lado palmar. Entre los ligamentos intrínsecos figuran los interóseos, así como el ligamento en V o deltoideo (escafo-piramidal o inter-carpiano dorsal). Este se origina en la superficie dorsal del cuello y el polo distal del escafoideo, y cruza en dirección transversa sobre el semilunar para insertarse en el piramidal, con el fin de cumplir una importante función en la estabilización transversa de la fila proximal. En la superficie palmar del carpo, comenzando en la porción radial, se cuentan, entre los ligamentos intrínsecos, el escafo-trapecial-trapezoidal, escafoideo-hueso grande, piramido-ganchoso, piramidal-hueso grande, escafo-semilunar y el luno-piramidal (Latarjet *et al.*, 2004).

### 2.1.4 Anatomía músculo-tendinosa del carpo

La movilidad de la mano se debe a la actividad de músculos y tendones flexores y extensores. Cuando el origen de éstos está en el antebrazo se habla de músculos extrínsecos, por el contrario, cuando se originan en la misma mano se habla del sistema muscular intrínseco (Drake *et al.*, 2005; Latarjet *et al.*, 2004).

Los músculos flexores extrínseco se originan proximalmente en el antebrazo, volviéndose tendinosos en los tercios medio y distal del mismo. En el túnel del carpo, el nervio mediano se acompaña de 9 tendones, 4 superficiales, 4 profundos y el *flexor pollicis longus*. Los *flexor carpi radialis* y *carpi ulnaris* se insertan en la base del segundo hueso metacarpiano, hueso ganchoso y quinto metacarpiano, respectivamente. El tendón del *flexor carpi ulnaris* envuelve al pisiforme, lo cual ofrece ventajas biomecánicas a su función como flexor de la muñeca y desviador cubital. Además, puesto que la flexión de la muñeca y la desviación cubital son sinérgicas, este tendón es el más importante de los dos flexores de la muñeca. El ligamento transversal del carpo se extiende desde el escafoide y el trapecio en la parte radial, hasta el hueso ganchoso en la porción medial, formando el techo del túnel del carpo. En el interior de éste túnel los tendones flexores de los dedos, yacen profundos respecto al nervio mediano pero la inflamación del tendón puede contribuir y, en algunos casos, causar síndrome del túnel del carpo. Después de pasar por el surco, el tendón flexor atraviesa la palma y entra en la zona de la vaina osteo-fibrosa, antes de insertarse en la falange media en el caso del tendón superficial, y sobre la falange distal en el caso del tendón profundo. En la base de la primera falange, el tendón flexor superficial se divide en dos cintillas

que se ubican primero laterales y luego dorsales, con respecto al flexor profundo. Frente a la articulación falángica proximal, estas dos cintillas intercambian fibras, formando el Quiasma de Camper que se inserta en la parte media de la segunda falange. En el canal digital, el aparato flexor está rodeado por una vaina sinovial que favorece a la vez su deslizamiento y su nutrición. El tendón del *flexor pollicis longus* se inserta en la falange distal del pulgar. La flexión del pulgar está asegurada por un solo tendón extrínseco, el flexor largo.

De los 5 músculos profundos, el *abductor pollicis longus* y sus extensores *brevis* y *longus* cruzan el antebrazo en dirección oblicua de cubital a radial, para insertarse distalmente sobre el pulgar. Los dos músculos restantes del grupo profundo son el supinador propio y el extensor propio, ambos del dedo índice. Cada uno de estos músculos se origina en el tercio medio de la cara posterior del cúbito y ligamento interóseo. El *abductor pollicis longus* se origina en un punto proximal y anterior al *extensor pollicis brevis* y el *brevis* se origina en un punto justamente proximal y anterior al *extensor pollicis longus*; el extensor propio del índice nace en el tercio distal de la cara posterior del cúbito.

Los músculos intrínsecos de la mano son el aductor del pulgar, los interóseos, los músculos de la eminencia tenar, los músculos de la eminencia hipotenar, el palmar corto y los lumbricales. A diferencia de los músculos extrínsecos, que se originan en el antebrazo, se insertan en la mano y desempeñan una función de “agarre potente”, los músculos intrínsecos se encuentran por completo en la mano y realizan principalmente movimientos de precisión (agarre preciso) entre los dedos y el pulgar (Drake *et al.*, 2005).

### **2.1.5 Arterias, venas y nervios del carpo**

La irrigación de la mano depende de las arterias radial y cubital que forman en la palma dos arcos vasculares interconectados (superficial y profundo). Los vasos para los dedos, los músculos y las articulaciones se originan en los dos arcos y en las arterias originarias: la arteria radial colabora principalmente en la irrigación del pulgar y de la zona lateral del dedo índice; el resto de los dedos y la zona medial del índice están irrigados principalmente por la arteria cubital (Drakes *et al.*, 2005).

La mano está inervada por los nervios cubital, mediano y radial. Todos ellos son responsables de la inervación sensitiva cutánea y propioceptiva (sensibilidad muscular). El nervio cubital inerva todos los músculos intrínsecos de la mano, excepto los tres músculos de la eminencia tenar y los dos lumbricales laterales, que son inervados por el nervio mediano. El nervio radial sólo inerva la piel de la zona dorso-lateral de la mano (Drakes *et al.*, 2005).

## **2.2 El carpo en las perspectivas médico-legal y forense actuales.**

### **2.2.1 Estado del arte**

La estimación de la edad en jóvenes indocumentados se plantea ante la necesidad de proteger los derechos de los niños o niñas menores de edad reconocidos por los distintos convenios y tratados internacionales, cuando éstos se ven sometidos a la acción de la justicia o simplemente solicitan asilo en un país extraño. Cada vez es más frecuente la actuación del médico forense en los casos de estimación de

la edad en jóvenes detenidos, generalmente inmigrantes indocumentados o, con menos frecuencia, pertenecientes a grupos marginales de nuestra sociedad que, en unos casos, carecen de documentación fiable en la que conste la fecha de nacimiento y, en otros, la ocultan con el fin de obtener los beneficios que la ley contempla en nuestra legislación para el menor de edad (Prieto, 2004). A efectos penales, las edades de interés diagnóstico médico forense serían, por tanto, los 14 años, por debajo de los cuales cualquier persona es inimputable, los 18 años, por debajo de los cuales serían de aplicación las medidas previstas en la Ley del Menor, y los 21 años, por debajo de los cuales la ley contempla una reducción de la imputabilidad (Bañón, 2003; Prieto, 2004).

Otra de las situaciones que plantea la necesidad de efectuar un diagnóstico forense de la edad es la de los inmigrantes no acompañados, dado que las disposiciones de la legislación española que conceden el disfrute de beneficios en materia de salud y educación, residencia temporal en España y opción a un permiso de trabajo están vinculados a la edad. El incremento de la emigración a Europa de ciudadanos procedentes de países del Tercer Mundo, entre los que se contabiliza un 4% de menores, ha impulsado la creación del Programa “Separated Children in Europe”, por iniciativa del Alto Comisionado de las Naciones Unidas para los Refugiados (ACNUR) y de la Alianza “Save the Children”. Este programa protege a los jóvenes menores de 18 años que se encuentran fuera de su país de origen, separados de ambos padres o de la persona que por ley o costumbre le tuviera a su cargo. Este programa ha impulsado la elaboración de una Declaración de Buenas Prácticas que proporciona pautas de trabajo comunes para todos los países. En el documento se establecen algunas directrices en



este sentido, advirtiendo que esta estimación no es un dato exacto y que posee un considerable margen de error. La Guía ACNUR (1997) establece que “cuando se utilicen métodos científicos para la estimación de la edad en niños, deben aportarse los márgenes de error”. Además, los métodos empleados deben ser, por otra parte, seguros y han de respetar la dignidad humana (Bañon, 2003).

Edad biológica, edad esquelética y maduración esquelética son sinónimos usados para describir los estadios de maduración de los individuos. La maduración esquelética se refiere al grado de desarrollo de osificación de un hueso. Durante el crecimiento cada hueso sufre una serie de cambios que pueden ser evaluados radiográficamente. Por lo tanto, la maduración esquelética está determinada por la evaluación de radiografías de una o más áreas del cuerpo (Schmeling *et al.*, 2006).

Teóricamente cualquiera de las partes del cuerpo puede ser empleada en la valoración de la edad ósea. Sin embargo por facilidad, estandarización y reproducibilidad se han determinado ciertas radiografías como las más adecuadas para hacer esta valoración ósea; entre ellas están la radiografía de la mano, radiografía de las vértebras cervicales y de la falange media del dedo medio (Bañon, 2003; Barbería y De Nova, 2003; Schmeling *et al.*, 2007; Schulz *et al.*, 2008).

En el año 2000, el grupo multidisciplinario alemán del Arbeitsgemeinschaft für Forensische Altersdiagnostik der Deutschen Gesellschaft für Rechtsmedizin (AGFAD) elaboró una de las primeras guías específicas para la estimación de la edad en individuos vivos sometidos a procedimientos criminales. Según esta guía, se estima la mayoría o minoría de edad penal mediante las siguientes pruebas: estudio antropométrico (peso, talla, constitución, madurez sexual, identificación de patologías que alteren el desarrollo); examen

radiográfico de la mano izquierda; examen del estado de dentición y radiográfico; osificación del cartílago costal de la clavícula en relación con edad igual o superior a 21 años; otros autores proponen lo mismo para la primera costilla (Cunha *et al.*, 2009; Ritz-Timme *et al.*, 2000; Rösing, 2000; Schmeling *et al.*, 2000).

La aplicación de las recomendaciones del AGFAD se enfrenta en la práctica forense no sólo con la necesidad de poner los resultados de las pruebas practicadas en relación con estudios científicos previos, sino también con la dificultad de decidir qué método de interpretación de los resultados es el más adecuado y su particular grado de fiabilidad (Garamendi y Landa, 2003). A este propósito, el 7 de octubre del 2010, los miembros del “Grupo sobre determinación de la edad en menores extranjeros no acompañados” se reunieron en Madrid para evaluar el estado actual de la temática. El documento final de consenso de buenas prácticas en esta materia sería de interés general para los Médicos Forenses de los Instituto de Medicina Legal Españoles. Las conclusiones fueron las siguientes (Bustos *et al.*, 2011):

- La estimación de la edad en menores no acompañados por medio de la valoración de la madurez ósea y la mineralización dental es un método sujeto a grandes márgenes de error. Sin embargo, en ausencia de otros elementos probatorios documentales y utilizada adecuadamente es la metodología más fiable de que se dispone.
- La estimación médica de la edad en un supuesto menor debe ser ordenada por la autoridad judicial o por el Ministerio Fiscal, y realizado preferentemente en un Instituto de Medicina Legal. El informe resultante debe ser presentado a la autoridad que lo solicitó, a la que le corresponde tomar la decisión definitiva, con las garantías del procedimiento judicial.

- La estimación médica de la edad es un proceso que debe ser realizado por profesionales con formación específica y los informes emitidos deben ser sometidos a algún sistema de control de la calidad.
- Los Institutos de Medicina Legal deben asignar facultativos expertos para realizar de forma centralizada este tipo de exámenes. La creación de unidades especializadas debe ser considerada en función de la casuística de cada Instituto de Medicina Legal.
- Para ofrecer una respuesta científicamente competente y especializada se considera necesario completar la puesta en funcionamiento de los Institutos de Medicina Legal en aquellos lugares en que todavía están por desarrollar.
- La estimación médica de la edad es un procedimiento complejo al que se le debe conceder el tiempo suficiente para su realización. En la medida de lo posible, debe evitarse su asignación a los servicios forenses en funciones de guardia.
- Para la realización de los exámenes complementarios radiológicos, se deben establecer los oportunos convenios con establecimientos públicos o privados que permitan su realización en condiciones técnicas adecuadas, y teniendo en cuenta el impacto que estos exámenes suponen sobre el funcionamiento normal de dichos servicios.
- La exploración deberá preservar la dignidad y seguridad de la persona explorada. Debe ser comprensible para el presunto menor y expresamente consentida.

- La identificación del presunto menor debe hacerse de forma fehaciente, mediante técnicas que minimicen la posibilidad de reevaluación y reexposición de la persona.
- La evaluación médica de la edad debe seguir un procedimiento técnico basado en evidencias científicas. Se respalda expresamente el “Documento de recomendaciones sobre métodos de estimación forense de la edad de los menores extranjeros no acompañados”, presentado en esta Jornada.

### **2.2.2 Radiografía del carpo para la estimación de la edad en subadultos**

La osificación de estos huesos tiene lugar a partir de un núcleo único para cada hueso. Empieza precozmente en el primer año de vida, primero en el hueso grande y en el ganchoso; en el piramidal durante el tercer año; en el semilunar durante el cuarto año; en el trapecio, trapecoide y escafoides, en orden, del cuarto al sexto año; y en el pisiforme hacia el undécimo o duodécimo año de vida. La osificación suele empezar antes en las mujeres y se completa entre los 14 y 16 años (Setter, 1990).

En los años 30 del siglo pasado, K. Simmons y T.W. Todd elaboraron una tabla de estándares para las edades comprendidas entre los 3 meses y los 13 años, basada en los parámetros de altura y peso. Además, estos investigadores analizaron la correlación de estos parámetros con la maduración sexual. Simmons y Todd llegaron a la conclusión de que el peso es un indicador poco fiable de la maduración de un sujeto, debido a la influencia que el agua y la grasa tienen en él. Todd, por otro lado, recogió las radiografías de la mano que se les había realizado a los individuos de su serie, comparándolas

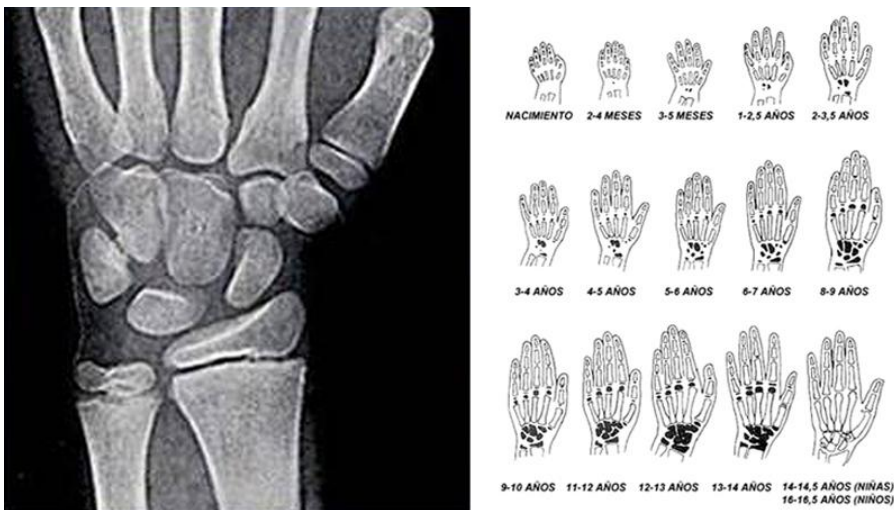
posteriormente con una serie de esqueletos identificados. De esa forma, pudo desarrollar y publicar su **Atlas of Skeletal Maturation** (Todd, 1937), basado en la selección de una radiografía representativa para cada edad y sexo. Dicha radiografía debía cumplir dos requisitos:

- La radiografía en cuestión debe tener igual grado de desarrollo para los 28 huesos y núcleos de osificación que son objeto de estudio;
- La radiografía seleccionada debe corresponder a un individuo con un grado de desarrollo corporal situado en la media de los que corresponden a su edad y sexo.

Las radiografías seleccionadas con este proceso, una para cada edad en cada sexo, se convierten así en el estándar con el que se ha de comparar las nuevas radiografías a estudiar. El Atlas de Todd fue usado como principal referencia hasta que, en el año 1950, fue revisado por Greulich y Pyle (1959) que dieron lugar al famoso atlas que se usa de forma habitual en la mayoría de los casos de estimación de edad en menores: “**Radiographic atlas of skeletal development of the hand and wrist**”, publicado en 1959. Es un atlas con una serie de radiografías de niños que recogen 30 estados evolutivos en la escala de madurez. Las ventajas de la utilización de las radiografías de la mano y del carpo son las siguientes:

- En primer lugar, el desarrollo del carpo es muy polimórfico, ya que está compuesto por múltiples pequeños huesos que se suceden en el ritmo de aparición.

- Por otra parte, su visibilidad a los rayos-X es muy definida y objetiva, permitiendo una observación relativamente independiente del subjetivismo.
- Los cambios se suceden en una secuencia ordenada y previsible.
- Dichos cambios son continuos desde el crecimiento hasta la edad adulta.
- Permite comparaciones directas entre diferentes niños, independientemente de sus diferencias genéticas o de tamaño que están relacionadas con los cambios sexuales, que a su vez lo están con los cambios madurativos generales.
- En el estudio de las radiografías de la mano y del carpo se pueden apreciar los efectos de algunos estados patológicos, como un retraso en la aparición o desarrollo de determinados o de todos los centros de osificación.



**Figura 3.** Radiografía del carpo de la mano izquierda y comparación con un atlas de maduración (Modificado de Greulich-Pyle, 1959).

La técnica consiste en la radiografía del carpo izquierdo para valorar el grado de osificación del mismo (Figura 3). La selección de la mano izquierda para la realización de las radiografías y el estudio se debe a una serie de factores:

- En primer lugar, porque si es válido hacerlo en una sola mano (como parece ser), se puede reducir la radiación soportada por el individuo a la mitad.
- En segundo lugar, porque es una convención antropométrica realizar las mediciones en el lado izquierdo del cuerpo, ya que así fue propuesto mediante un Acuerdo Internacional estipulado en Mónaco y Ginebra en los años 1906 y 1912.
- Tercero, porque ya que los diestros representan la mayoría entre la población, el lado derecho es el más susceptible para sufrir modificaciones de origen ambiental derivadas de traumatismos y de las modificaciones hipertróficas por el mayor uso.
- Por último, porque, aunque existan discrepancias hetero-laterales, los estudios realizados han mostrado que esas diferencias no son significativas y afectan a un período determinado del crecimiento, por debajo de los 6 años de edad (Dreizen *et al.*, 1957).

A continuación, se compara la imagen obtenida con la homóloga contenida en un atlas estandarizado. Los atlas más conocidos son el de Greulich-Pyle (1959) basado en niños americanos, el de Tanner-Whitehouse (1962, 1972, 1988) basado en niños anglosajones, y el del método de FELS (1988). Una vez seleccionado el estándar adecuado, se procede a estudiar el detalle de los huesos individuales y de las epífisis y su comparación con el estándar. Cada uno de los centros de osificación y de los huesos recibe una valoración con respecto al

estándar. Si no cumple los criterios de valoración del mismo, se debe comparar con el adyacente. Cuando el estado de maduración se encuentra entre dos estándares, se le asigna aquél que se considera más próximo. Para el resultado final, se tiene en cuenta si se corresponde exactamente con una edad ósea, y en ese caso se le asigna ésta. En el caso de que se encuentre entre dos edades, se debe asignar una edad que se encuentre proporcionalmente entre ambas. Con respecto a la precisión y fiabilidad del método, se debe señalar que para aumentar las mismas hay que tener en cuenta obligatoriamente que este método tiene un importante componente subjetivo y que el atlas proporciona meras estimaciones del estado esquelético del individuo.

Desde su introducción, los métodos basados en los atlas de maduración han sido objeto de numerosas evaluaciones y estudios, sin que hasta la fecha se pueda proponer como superior un método sobre los demás. En general, el grado de conocimiento del experto de las tablas a utilizar suele ser un parámetro que compensa las posibles diferencias entre los sistemas (Bañon, 2003; Garamendi *et al.*, 2003). Algunos autores han evaluado las diferencias intra- e inter-observador, encontrando variaciones significativas. Ante esta innegable posibilidad, los autores recomiendan:

- Que el observador realice un período de entrenamiento adecuado y con la adecuada supervisión.
- Que su actitud sea de juicioso escepticismo hacia sus estimaciones hasta que éstas sean valoradas por un observador independiente.
- Los métodos de control de calidad que evalúan la concordancia de las mediciones inter-observadores pueden mostrar altas



correlaciones cuando los resultados son homogéneos, lo que no implica necesariamente que sean correctos, o que el método sea exacto. Debe valorarse con precaución este tipo de control.

Las características socio-económicas de cada población son para algunos autores (Schmeling *et al.*, 2001) los factores más significativos en cuanto a su capacidad para influir sobre las variaciones en el ritmo de maduración de la edad ósea. Entre los factores patológicos identificados como factores de alteración del ritmo de evolución de la edad ósea se hallan, entre otros, la enuresis nocturna (micciones incontroladas) (Dundaroz *et al.*, 2001), el déficit de GH (Vallejos-Bolano *et al.*, 1999), la obesidad (Bueno *et al.*, 1996), los hábitos deportivos de alta competición (Theintz *et al.*, 1993), o las malformaciones óseas y la exposición a agentes físicos, como las congelaciones (Freyschmidt *et al.*, 2001).

En cualquier caso, las evaluaciones de la edad ósea mediante esquemas de la maduración esquelética de los huesos de la muñeca y mano deben estar basadas en estudios de referencia de valor científico reconocido, y que cumplan los requerimientos estadísticos y poblacionales necesarios, como los que se han citado. El informe que se derive de este estudio debe incluir la reseña del método utilizado y expresar los márgenes de error suficientes para incluir las variaciones poblacionales (Bañon, 2004).



## **CAPÍTULO 3**



**AGE ESTIMATION BY PULP/TOOTH RATIO IN CANINES BY PERI-APICAL X-RAYS: RELIABILITY IN AGE ESTIMATION OF SPANISH AND ITALIAN MEDIEVAL SKELETAL REMAINS.**

BASADO EN:

**De Luca S.<sup>1</sup>, Alemán I.<sup>1</sup>, Bertoldi F.<sup>2</sup>, Ferrante L.<sup>3</sup>, Mastrangelo P.<sup>1</sup>, Cingolani M.<sup>4</sup>, Cameriere R.<sup>5</sup>** 2010. Age estimation by pulp/tooth ratio in canines by peri-apical X-rays: reliability in age estimation of Spanish and Italian medieval skeletal remains. *Journal of Archaeological Science*; 37: 3048-3058.

1. Laboratory of Anthropology, Faculty of Medicine, University of Granada, Granada, Spain.
2. Dipartimento di Scienze dell'Antichità e del Vicino Oriente, University of Ca' Foscari, Venice, Italy.
3. Institute of Biochemical Biotechnologies, Faculty of Medicine, Polytechnical University of Marches, Ancona, Italy.
4. Institute of Legal Medicine, University of Macerata, Macerata, Italy.
5. AgeEstimation project, Institute of Legal Medicine, University of Macerata, Macerata, Italy.

**KEYWORDS:** PALAEODEMOGRAPHY, DENTAL AGE, SECONDARY DENTINE, PULP/TOOTH AREA, MEDIEVAL CEMETERIES, SPAIN, ITALY.

## INTRODUCTION

Estimation of age at death is one of the main tasks of forensic and archaeological research, but the aims and human material of these disciplines are different.

In the forensic context, age assessment is not only a prerequisite for stating that an individual has officially died; it is also the basis for investigating crimes, mass disasters or war crimes. Judicial requirements, time and the accuracy of the age range are basic factors in developing identification procedures.

Central to palaeodemography is the generation and interpretation of skeletal age distributions, as this information offers key insights into the demographic composition of a particular population and possible differential mortality based on age. Reconstruction of mortality patterns is essential for an understanding of the living condition which human populations faced in historic ecosystems (Hoppa and Vaupel, 2002).

Age-related changes in the skeleton occur as an individual undergoes growth, development, and maturation. The appearance of age markers in an individual skeleton can vary, depending on the individual's life history. In subadults, according to age groups, stages of dental and skeletal growth and development are used to estimate age reliably (Scheuer and Black, 2000; Ubelaker, 1999). In adult human skeletal remains, in which skeletal and dental development is already complete, techniques for estimating age at death rely on degenerative skeletal changes which are much more variable and less predictable than growth sequences.

The most widespread techniques of adult age estimation, according to body preservation, are based on analysis of macroscopic

characteristics of various skeletal structures (Cunha *et al.*, 2009): the pubic symphysis (Suchey and Katz, 1998; Todd, 1921), the auricular surface of the ilium (Lovejoy *et al.*, 1985), the sternal rib ends (Işcan and Loth, 1989) or the endo- and ectocranial sutures (Galera *et al.*, 1988; Meindl and Lovejoy, 1985). However, these methods establish large spans of age classes and cannot yield precise results for individuals aged more than 45-50 years. In addition, these specific skeletal structures are commonly subjected to taphonomic processes and are often not recovered or are too damaged to contribute to satisfactory osteological analysis. So it becomes necessary to check the validity of more accurate methods, less biased by other factors such as the degree of age-related information contained within specific skeletal traits, as well as sampling strategies and statistical methods used to develop age estimation methods (Baccino *et al.*, 1991; González, 2007; Igarashi *et al.*, 2005; Jackes, 2000; Landa *et al.*, 2009; Roksandic *et al.*, 2009).

Thanks to recent and relevant advances of physical anthropology, old methods have been improved and new techniques have been recently proposed. However, there is still much confusion about the standardisation of methods, procedures and statistical parameters (Cattaneo, 2007; Cunha *et al.*, 2009; Martín de las Heras, 2005; Rösing *et al.*, 2007). It is necessary to take into account many factors such as the context, costs, time and equipment required, the examiner's qualifications and the various states of preservation of bodies. Choice also partly depends on how accurate the age diagnosis needs to be in the case in question (Schmeling *et al.*, 2007).

With this move towards improving existing techniques of age at death estimation, more accurate age-related changes in teeth have

recently been re-examined as an alternative to skeletally based techniques. Dental structures are becoming more and more useful, because of their resistance to physical and chemical agents. They are still preserved even when most of the bones have been destroyed, mutilated or affected by other taphonomic agents (Lucy *et al.*, 1995; Prieto, 2002).

Several proposed dental methods are based on macroscopic, microscopic and biochemical analysis of teeth. Study of dental wear is certainly the easiest and fastest, but also the least accurate (Brothwell, 1989; Kim, 2000). Other methods imply partial destruction of the tooth, and seem to be very complicated and expensive to be applied on a large scale (Gustafson, 1950; Martín de las Heras *et al.*, 1999; Ohtani, 1991; Renz and Radlanski, 2006).

One of the best-known features of ageing is the reduction in size of the pulp chamber, caused by the continual secretion of dentinal matrix by odontoblasts (physiological secondary dentinogenesis) (Solheim, 1992). Dentine is a living tissue containing odontoblasts which form the tooth and which, during a person's lifetime, for both physiological and pathological reasons, deposit layers of secondary dentine which gradually obliterates the pulp chamber (Bodecker, 1925; Vasiliadis *et al.*, 1983).

The mean rate of increasing dentinal thickness has been found to be 6.5  $\mu\text{m}$  per year for the crown and 10  $\mu\text{m}$  per year for the root. The effect of continuous dentine deposition is the progressive increase in dentinal thickness by 0.45 mm (17.1%) and 0.60 mm (24.3%) in the crown and root areas, respectively. The pattern of secondary dentine deposition varies with tooth type. As regard sex, no statistically significant differences are observed (Murray *et al.*, 2002).

In 1925, Bodecker ascertained that the apposition of secondary dentine was correlated to chronological age. Detailed studies of the pattern and rate of secondary dentine apposition in maxillary anterior teeth were performed by Philippas and Applebaum (1966, 1967, 1968) but without the aim of estimating age at death. Secondary dentine deposition was included in the method pioneered by Gustafson (1950), in which dentine transparency and secondary dentine values showed the highest correlation with age. Currently, the apposition of secondary dentine may provide a useful tool in age estimation in adults (Cunha *et al.*, 2009; Drusini *et al.*, 1997).

Secondary dentine has been studied by several methods: examples are sectioning and X-rays (Kvaal and Solheim, 1994; Paewinsky *et al.*, 2005; Philippas, 1961) and peri-apical X-rays of canines. Both methods reduce possible errors caused by magnification and distortion of X-rays and provide better image quality. Cameriere *et al.* (2007 a,b) studied the relationship between the age at death and the ratio of the pulp/tooth area in peri-apical X-rays of upper and lower canines of several individuals in an identified Italian osteological collection.

Reliability is the degree to which a method produces the same results when it is used at different times, either by multiple observers or by the same observer. It can be tested by conducting inter-observer or intra-observer variation studies to determine error rates. Low inter-observer variation (or error) indicates high reliability (Adams and Byrd, 2002).

The main aim of this paper was to test the reliability of Cameriere's method in three medieval samples of unknown age at death, from Spain and Italy, and to examine its use in order to estimate



the age of skeletal remains from archaeological contexts. This method, which was tested in a small sample of 9 identified mummies (14<sup>th</sup> century) from the Basilica of S. Domenico Maggiore (Cameriere *et al.*, 2006), one of the largest and most important churches in Naples (Italy), is now tested for the first time on a large Medieval sample from various archaeological sites.

Another aim of the work was to compare results obtained by various ageing methods. Many ageing techniques have demonstrated a general trend of over-ageing younger individuals and under-ageing older ones (Aykroyd *et al.*, 1997). Taking this into account, we focused attention on some of the factors which typically confound studies of historically extant populations. First of all, differential preservation of samples is a major source of bias in palaeodemographic parameters (Bell *et al.*, 1996; Haglund and Sorg, 2002). Secondly, these data can determine which of these methods tend to estimate high ages among all the procedures, and shows to what extent age estimates, based upon various ageing criteria, can vary in differing conditions of conservation (Wittwer-Backofen *et al.*, 2008).

## **MATERIALS AND METHODS**

The Spanish sample dates to the Middle Ages and consists of 30 individuals, 14 males and 16 females, from one of the most important Medieval Islamic cemeteries in Spain, La Torrecilla (Arenas del Rey, Granada) (11<sup>th</sup>-14<sup>th</sup> centuries). This cemetery is located north of the Bermejales swamp, in the southern part of the province of Granada (Spain). Drs. Arribas and Riu conducted two brief excavations in 1968 and 1969. Later works were carried out in 1974 and 1976 (Souich du, 1979). Currently, the skeletons are housed in the Laboratory of

Anthropology, Faculty of Medicine, University of Granada (Spain). The condition of the bone remains is excellent; especially skulls and jaws which, despite the antiquity of the finds, have been very well preserved. A subsample of 113 upper and lower canines was analysed.

The Italian sample consists of the individuals buried in the Medieval cemeteries of Comacchio (Ferrara) and Castel San Pietro (Bologna) (Bertoldi, 2009; Librenti, 2003). These samples were composed of 43 individuals, 21 males, 20 females and two indeterminate, dating from the early Middle Ages to the Modern Age (16<sup>th</sup>-17<sup>th</sup> century A.D.). The Italian samples, especially those from Comacchio, are poorly preserved, due to bone diagenesis, soil erosion, mechanical destruction, and poor excavation techniques.

It is important to note that the selected samples are not representative of the Medieval Spanish and Italian populations as a whole. Therefore, neither the age nor sex distribution of these samples should be interpreted as population-specific. Sex was estimated by osteological characteristics according to Ferembach *et al.* (1980). The selected nomenclature to classify the canines is that proposed by the I.D.F (International Dental Federation).

Depending both on the state of preservation of each skeleton and the observer's experience, several methods based on the macroscopic changes in various skeletal and dental structures have been employed: endo- and ecto-cranial sutures (Galera *et al.*, 1988; Meindl and Lovejoy, 1985), dental wear (Brothwell, 1989; Lovejoy, 1985), structure of the pubic symphysis (Suchey and Katz, 1998; Todd, 1921), changes in the auricular surface of the ilium (Lovejoy *et al.*, 1985), metamorphosis of the sternal rib ends (Işcan and Loth, 1989), degree of fusion of the sacral vertebrae (Belcastro *et al.*, 2008) and,

lastly, the degree of fusion of the epiphysis of the long bones (Mays, 2003).

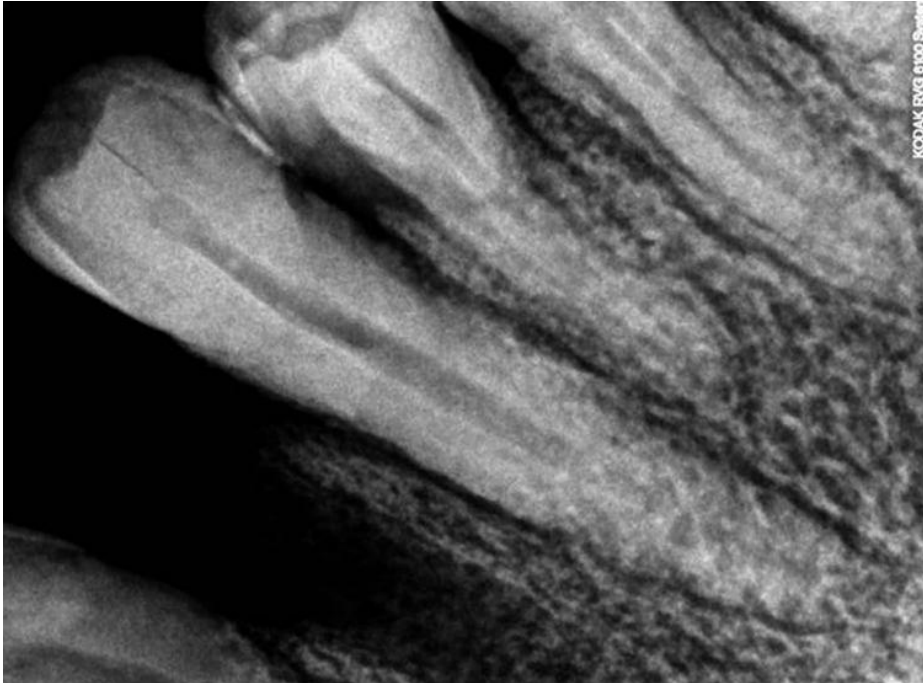


**Figure 1.** Upper right canine of TOR 254 before peri-apical X-ray. In this case the tooth has been extracted, without damage, before X-raying the sample.

In addition, in all samples, the age at death of each individual was estimated by radiographic evaluation of secondary dentine of the upper and lower canines (Cameriere *et al.*, 2007 a,b). Canines without significant pathologies were chosen and, if both were present, both were studied.

Intra-oral peri-apical digital radiographs were taken on a KODAK RVG 6100 Digital Radiography System with the paralleling technique, with a 10 mA exposure, time of 0.05 seconds at 70 kVp. Due to technological advances with the optical plate and scintillator, all size sensors have increased sensitivity, which allows researchers to decrease the radiation dose. The teeth were X-rayed both isolated and *in situ*, depending on the state of conservation of each skeleton and on the possibility of extracting them without damage (Figure 1).

The radiographic images were saved as high resolution in JPEG size for further image analysis (Figure 2).



**Figure 2.** Detail from a peri-apical X-rayed image of the upper right canine of TOR 294. Observe the great contrast and definition of the image thanks to digital radiography system.

Following Cameriere *et al.* (2007 a,b), the images of the canines were processed with a computer-aided drafting program (ADOBE® Photoshop CS4®). A minimum of 20 points from each tooth outline and 10 points from each pulp outline were identified and connected with the line tool, also on the Draw Toolbox, and the area of both tooth and pulp were ascertained.

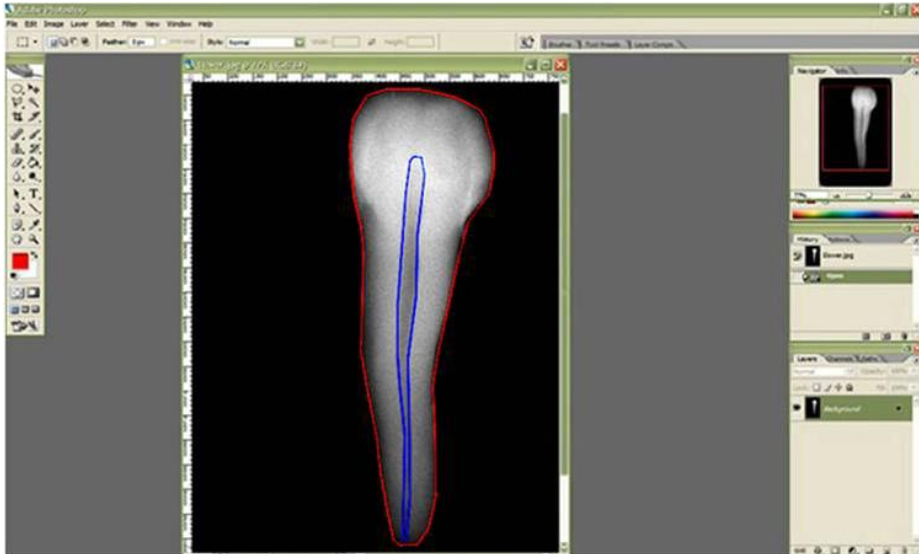
Age estimation was made by applying the three linear regression equations proposed by Cameriere *et al.* (2007 a,b) for the upper canine (1), lower canine (2), and for both canines (3):

1. Upper canine:  $\text{Age} = 99.937 - 532.775 (x1)$

2. Lower canine:  $\text{Age} = 89.456 - 461.873 (x2)$

3. Both canines: Age = 114.624 - 431.183 (x1) - 456.692 (x2) + 1798.377 (x1)(x2)

where x1 and x2 respectively represent the pulp/tooth area ratio in upper and lower canines (Figure 3).



**Figure 3.** The radiographic image of the canine has been processed using a computer-aided drafting program (ADOBE® Photoshop CS4®), before measuring pulp and tooth areas with the line tool.

All measurements were carried out by two different observers with ample experience of this method. To test intra-observer and inter-observer reproducibility, a random sample of 50 peri-apical X-rays was reexamined after an interval of three weeks. Intra-observer and inter-observer reproducibility of measurements was studied by Pearson's concordance-correlation coefficient.

The anthropological age (AA) represents the mean age range calculated taking into account all the age intervals obtained by applying all the studied methods of age estimation. The anthropological age (AA) and dental canine age (DA) were defined as matching if the

estimate of the age at death obtained with equations 1, 2 and 3 belonged to the mean range of the age at death estimated on the same skeletons using anthropological methods.

## **RESULTS**

As regards radiographic study of the samples, there were no statistically significant intra-observer and inter-observer differences between the paired sets of measurements carried out on the re-examined peri-apical digital X-rays. The Pearson test also revealed that there were no significant differences ( $p < 0.01$ ).

Depending on the method applied, the percentage of skeletons deemed suitable for analysis varied between 11 and 85%, reflecting the differential preservation of skeletal elements and the influence of taphonomic processes after burial. In addition, 85% of the individuals were analysed according to the degree of dental wear; 63% by examining other anthropological indicators of age such as degree of fusion of the sacral vertebrae (20.4%) or morphological changes in the pubic symphysis (36.9%). However, 100% of the canines were still intact, and all of them were analysed by Cameriere's method. This reflects the importance of teeth in identification procedures in which, for incomplete or greatly deteriorated specimens, study of dental characteristics may often be the sole resource for age estimation. Table 1 lists the number of analysed individuals according to type of age estimation methods. Table 2 lists the number of subjects aged respectively according to Cameriere's method (DA), Brothwell's method (WA) and other anthropological indicators of age (AA).

Table 3 shows the actual ranges of age estimates given by the various methods for Italian samples (CSP and COM) and Table 4 those

for the Spanish sample (TOR). Anthropological age represents the mean age range achieved by the application of the conventional anthropological techniques and it reflects the individual variability of the specific traits in the reference sample. Dental canine age was calculated by the study of the apposition of secondary dentine according to Cameriere *et al.* (2007 a,b), and it was indicated with a precision of 0.1 years. The last column in Table 4 lists the mean ranges of the minimum and maximum values of age at death, calculated by applying anthropological methods. The mean age ranges of all individual age estimates for a specific method vary from 3 to 12 years and reach a maximum of 47 years. This is indicative of a poorly preserved skeleton for which not all traits could be properly assessed in each case. The width of each range may vary significantly, depending on the number of traits, their consistency, and other factors, as can be seen in the ranges of minimum and maximum values of age at death and three individuals (TOR 225, 252 and 265) for which the maximum age limit was not calculated.

In the Spanish sample, the dental canine age was over-estimated in only three individuals (TOR 220, 269, 314); of these, only one was over-estimated by more than 4 years (TOR 269). However, when the minimum and the maximum values of the age ranges are considered, the results obtained by Cameriere's method clearly fit the same ranges. Table 5 emphasises the differences which occur in the obtained mean ranges of age at death when different procedures and dental canine ages are applied. In addition, Table 5 lists all the applied methods for age estimation used in the Spanish sample, including the method of Belcastro *et al.* (2008). This method does not stress significant differences, but always considers the impossibility of correct age

assessment by means of data from the sacrum, for mature and senile subjects. In fact, although Belcastro's technique suggests that incompletely fused sacra can help in distinguishing young adults (20-34 years) from old ones (40 years older), it can only be applied in the case of adult subjects with incomplete fusion of the sacral vertebrae. As regards Brothwell's method (Brothwell, 1989), it is not possible to observe any significant differences in the Spanish sample, except in the case of individual TOR 269, a female subject, in which the deposition of secondary dentine demonstrated an over-estimated age at death of several years. However, this result was consistent with the method of Iscan and Loth (1989) which, although very difficult to execute in living individuals (Dedouit *et al.*, 2008), can be very useful in an archaeological context. However, we note two bias in this method: recovery and identification of the fourth rib in an archeological situation may sometimes be very complicated and it apparently depends much on activity patterns. Of the methods listed in Table 5, that based on the degree of fusion of the humeral head matches dental canine age, except in three cases: TOR 233, in which dental age was over-estimated but consistent with results from the analysis of the fusion of iliac crest; TOR 252, in which dental canine age was lower but matched the age estimated by dental wear; and TOR 314, in which the over-estimation of dental canine age matched, however, the age indicated by analysis of the pubic symphysis (Suchey-Kats, 1998; Todd, 1921).

Regarding the Italian samples from Comacchio (Ferrara) and Castel San Pietro (Bologna), almost all analysed by study of dental wear, due to their high fragmentation, show less reliable anthropological age compared with dental canine age. However, taking into account all the macroscopic skeletal structures, and especially the



pubic symphysis, dental canine age matches the anthropological age ranges in 70% of cases, with no more than 5 years of discrepancy. When only dental wear age was taken into account, the age spans of anthropological diagnosis becomes larger and less accurate. Although dental wear was one of the most frequently used methods in these samples, it is usually regarded as one of the most unreliable methods for estimating age at death. Older ages normally considered in the age span “45 or 50+” find more accurate diagnosis through application of dental canine age.

Table 6 presents age results for the samples from Castel San Pietro (Bologna) and Comacchio (Ferrara). The last column in Table 6 lists the mean ranges of the minimum and maximum values of age at death, calculated by applying analysis of dental wear and pubic symphysis. The mean age ranges of all individual age estimates for a specific method vary from 1 to 10 years. The Suchey and Kats method (Suchey and Kats, 1998) and Todd’s method (Todd, 1921) are more accurate for ageing individuals between 17 and 40 years old and, also, their application is simple. However, this technique presents some disadvantages: sex and ancestry are prerequisites, and the pubic symphysis is frequently damaged in these ancient skeletons.

Table 5 and 6 show how various methods of age estimation tend to be more reliable for younger individuals and much less reliable for older ones, especially in cases of highly fragmented remains. Note that all age ranges are limited to a specific trait or set of traits, documenting the applicability of a specific ageing trait to a specific skeletal sample, depending on the observer’s experience and the state of preservation. In addition, these data confirm the fact, well-known in anthropological literature, that small degree of error is predominantly found in younger

individuals. Whereas, a lower degree of overlap is observed in older individuals, whose mean ages fall between 40 and 60 years.

The mean ranges of anthropological age were compared with dental canine age in the Figs. 5 and 6. The values of both Spanish and Italian samples are graphically represented to verify if dental canine age matched anthropological age. The anthropological age (AA), in all three samples, and dental canine age (DA) were concordant in 89% of cases. As expected, the data obtained by applying Cameriere's method overlapped more than 50% with those of the other anthropological methods.

## **DISCUSSION**

As Maples (1989) states, age estimation of skeletal remains is ultimately “an art, not a precise science”. Next to sex, age is an essential basic biological parameter which facilitates the identification of human remains in forensic and palaeodemographic contexts (Komar and Buikstra, 1998). Due to the inherent challenges in ageing and the need for better understanding of age estimates from adult skeletons, forensic anthropologists must constantly develop and test techniques for age estimation, mostly drawing on samples of known age at death.

In contrast to forensic anthropology, palaeodemography focuses on the construction of population profiles. This particular field has undergone its own critiques as regards standardisation of techniques and understanding error rates when constructing population profiles from unidentified skeletal remains. The correct interpretation of age distributions has been at the centre of intense debate, because it relies on age estimation in the absence of written records (Kemkes-Grottenthaler, 2002; Wood *et al.*, 1992).

The results from the present work contribute to the discussion about factors which can influence age estimates made on the basis of various anthropological and dental methods. Interpreting the above tables and graphs, we note that different areas of the skeleton age differently and independently to the extent that both comparison of individual age estimates and the age ranges achieved by different methods and the respective age at death distributions show significant differences. This is of great interest in cases when the remains are in differing states of preservation or when not all the age indicators can be analysed. This has a major influence on the application of well-known ageing methods to historical skeletal collections, in which taphonomic processes, individual variability and pathologies can all influence the applicability of several ageing techniques.

Firstly, poor preservation often makes age estimation difficult and sometimes obliges researchers to use methods yielding inferior results. At other times, soil characteristics destroy skeletal tissues, animal activity may result in missing and/or damaged elements, and poor excavation techniques may mean that skeletal components cannot be properly recovered. Animal-related processes include trampling, entrance fall, gnawing, and digestion. Physical factors include rock-fall, water transport, sandblasting, weathering, burial, diagenetic movement, volcanic shockwave, acid attack by roots, cryoturbation, release and breakup by bottom-fast ice, and mineralization by ground water (Marshall 1989). All of these can act independently or in unison to produce alteration of bones. Additional taphonomic biases result from differential burial practices, sometimes leading to missing or under-represented age groups. Secondly, external factors such as differences between population groups, nutrition, disease, life-style and socio-

economic status have all been shown to influence the rate of bone turnover in an old adult. This interplay between intrinsic and extrinsic factors confounds age estimation and hampers contextual archaeological research such as palaeodemography (Jackes, 2000).

The most important results of the present work, which corroborates previous studies (e.g., Wittwer-Backofen *et al.*, 2008), is the fact that small degree of error is exclusively found in younger adults, due to the low individual variability of morphological ageing traits during childhood and early adulthood. However, in individuals whose mean ages are higher than 45-50 years, a lower degree of concordance between applied methods is observed. In this age range, due to the same nature of human senescence, characterised by an accumulation of metabolic disorders, morphological methods of age estimation do not offer sufficiently accurate results. The level of reliability and accuracy may vary from one study to another, but no reliable method seems to exist yet (Buckberry and Chamberlain, 2002; Meindl and Russel, 1997).

This study shows that age assessment through study of the apposition of secondary dentine is a method consistent with the others and in most cases matches the results achieved by anthropological methods. Thanks to the position of the dentine inside the pulp cavity, which acts like an armour, taphonomic factors such as water, fire, chemical substances and micro-organisms do not affect internal examination of the tooth. The radiographic images of the teeth show greater contrast and there is a lower possibility of overlap. In addition, measurements of pulp and tooth areas on digital peri-apical images of canines yield more reliable and reproducible data than those achieved by orthopantomograms (Cameriere *et al.*, 2004). In the present study,

when pulp and tooth areas were measured on digital X-Ray images of both upper and lower canines, the concordance correlation coefficient showed that there were no significant intra-observer or inter-observer differences.

It is clear that, depending on the degree of preservation of each skeletal sample, Cameriere's method is not only a useful technique to assess the chronological age of living persons (Cameriere *et al.*, 2007 a,b) but also that it is a reliable tool in determining age at death in historical skeletal remains. The method does not involve destruction or damage to teeth. In addition, although alterations in the pulp cavity may be detected in some ancient populations, indicating that diagenetic changes have taken place, such changes do not substantially affected the relation between apposition of secondary dentine and age at death.

Of the many dental methods of age estimation, the progressive diminution of the tooth pulp cavity has received far less research attention than other promising methods of age estimation (Rösing and Kvaal, 1998). As Cunha *et al.* (2009) noted, other dental methods such as that of Lamendin *et al.* (1992) or cementum annulation (Kagerer and Grupe, 2001) are not recommended for identifying ancient skeletal remains. These techniques have been tested unsuccessfully on samples which had been buried in soil for several decades and they should be used with caution on historical samples (Griffin *et al.*, 2009; Megyesi *et al.*, 2006; Roksandic *et al.*, 2009; Rösing *et al.*, 2007). The applicability and the reliability of cementum annulation have also been seriously questioned (Renz and Radlanski, 2006). Several limitations have also been observed in analysis of dental wear (Brothwell, 1989), in which physiological and pathological elements both contribute to dental structure degeneration with ageing. Applying attrition as the only

parameter may yield great deviations from the true age if, for instance, the person has had an abnormal occlusion or an unusual dental habit, which would cause greater attritional damage than normal. Brothwell's method should only be used as a general indicator of age and never as a technique of accurate estimation.

As regards the age estimation of older subjects, it is still necessary to test Cameriere's method in large samples of known age and sex, in order to determine whether the technique is applicable in terms of accuracy and also to recognise the many types of biases associated with it. We must try to develop standards that balance statistical effectiveness with wide-scale applicability.

## **CONCLUSIONS**

Reliable age at death estimation of archaeological human remains is considered imperative in order to interpret osteological data within a bio-cultural framework. However, conventional osteological methods of age estimation in adult skeletons are fraught with problems, so that the findings of this study further highlight such difficulties. If the human skeletal remains are in fairly good state of preservation and complete in their "most diagnostic parts", normally employed macroscopical methods are adequate for a fairly good estimation, but if the skeletons are highly fragmented and incomplete, specific skeletal structures such as the pubic symphysis, auricular surface and sternal rib ends are often absent or too damaged for proper analysis. Depending on recovered components and taking into account the fact that the teeth are sometimes the only skeletal remains available, study of apposition of secondary dentine offers numerous advantages: it has been shown to

provide a reliable age at death estimate and may help to narrow an estimate when used in combination with other morphological markers.

In this work, Cameriere's method (Cameriere *et al.*, 2007 a,b) was applied to an archaeological sample of individuals coming from three Spanish and Italian medieval cemeteries, in order to test its reliability in ancient skeletal remains. The results indicate the following:

1. The real age of the skeletal samples in the study was not known and, due to several confounding effects, the affect of particular influencing factors on age estimation could not be quantified. One key factor, for the choice of the appropriate method for aging adult remains, is the quality of the preservation of these remains; dealing with a well-preserved entire body is a completely different problem than trying to age fragmented body parts.
2. It is evident from our results that different approaches may lead to significantly different mean age estimations and/or age ranges for each skeleton analyzed. Depending on the number of applicable indicators of age, their consistency, and other factors, individual age ranges may vary significantly. Both the number and selection of age indicators, and the state of preservation may influence final palaeodemographic reconstruction. Furthermore, this study confirms that, when ascertaining the age of a skeleton, a multivariate approach is far more accurate than using one method alone (Martrille *et al.*, 2007).
3. The appropriateness of using tooth/pulp area ratio (Cameriere *et al.*, 2007 a,b) as morphological variable to predict individual ages, especially when comparing obtained age estimates with other skeletal age calculation techniques based on, for example,

cranial suture, pubic symphysis, auricular surface of the ilium or sternal rib ends.

4. Study of the apposition of secondary dentine is easy to apply, is not destructive, is more easily to check scientifically, is less dependent on technical ability than other techniques, and does not require highly specialised equipment (Cameriere *et al.*, 2007 a,b; Kvaal and Solheim, 1994). Some methods are very complex and/or destructive, and are not therefore normally used in anthropology. Also, they are often qualitative and require great technical expertise.
5. As noted in previous works (e.g., Cameriere *et al.*, 2007 a,b; Murray *et al.*, 2002), the apposition of secondary dentine is not sex-dependent. Other anthropological indicators, such as the pubic symphysis, auricular surface of the ilium or metamorphosis of sternal rib ends depend on sex, which is not always easily diagnosed in archaeological material or in younger individuals.
6. Analysis of dental wear was the method most widely used in this study. However, tooth wear is highly dependent on too many variables such as attrition, diet and occlusion; loss of teeth may depend on social habits or infections and diseases (not necessarily will an edentulous mouth belong to an old individual, although it is more probable that it does).

Future research should aim at acquiring even larger sample sizes in order to reduce standard errors of estimates in older subjects and at testing the technique in more ancient samples, for which the influence of taphonomic factors and pathologies, such as wear or decay of one or several teeth, may be much more significant.



# **ANEXOS 1**

## **Tablas**

**Table 1.** Number of individuals aged according to different anthropological methods.

DA	DW	CS	PS		AS	IV Rib	Fusion			Sacrum
Cameriere <i>et al.</i> (2007 a,b)	Brothwell (1989); Lovejoy (1985)	Meindl- Lovejoy (1985)	Todd (1921)	Suchey and Kats (1998)	Lovejoy <i>et al.</i> (1985)	Işcan and Loth (1989)	Humeral head (Mays, 2003)	Iliac crest (Mays, 2003)	Ischiatic tuberosity (Mays, 2003)	Belcastro <i>et al.</i> (2008)
73	62	3	23	4	5	4	9	7	1	15

DA = Dental Age; DW = Dental wear; CS = Cranial Suture; PS = Pubic Symphysis; AS = Auricular Surface

**Table 2.** Number of subjects aged according to Cameriere’s method, Brothwell dental wear and other anthropological techniques.

DA (Cameriere <i>et al.</i> , 2007 a,b)	DW (Brothwell, 1989)	AA
73	62	46

DA = Dental Age; DW = Dental Wear; AA = Anthropological Age

**Table 3.** Mean ranges of AA and DA for Italian sample.

Individual	Sex	AA (Mean Age Range)	DA	Range (max and min)
CSP 1	M	~40	39.0	35-45
CSP 2	F	17-25	24.1	17-25
CSP 4	F	17-25	24.2	17-25
CSP 5	M	30-35	30.6	30-45
CSP 16	F	25-35	29.6	25-35
CSP 17	F	17-25	19.2	17-25
CSP 18	F	25-35	40.1	25-35
CSP 20	F	17-25	21.1	17-25
CSP 21a	M	17-25	18.4	17-25
CSP 28	M	~35	40.8	30-35
CSP 35	M	~35	45.7	30-35
CSP 42	F	35-45	45.3	35-45
CSP 46	M	45-50+	56.5	45-55
CSP 51	F	25-35	37.2	25-35
CSP 54	M	25-30	26.2	25-30
CSP 70	F	35-45	54.2	33-45
CSP 90	M	17-25	20.2	17-25
CSP 93	F	17-25	21.3	17-25
CSP 115	M	33-45	62.2	33-35
CSP 161	F	33-45	56.2	33-45
COM 6	F	17-25	21.0	17-25
COM 34	F	33-45	45.3	33-45
COM 40	M	33-45	50.1	33-45
COM 41	M	17-25	23.9	17-25
COM 43	F	45+	57.4	45-55
COM 50	F	~45	51.6	35-45
COM 51	M	~35	42.2	25-40
COM 52	F	33-45	48.7	33-45
COM 56	M	45+	52.2	45-55
COM 59	M	33-45	45.8	33-45
COM 67	M	30-35	27.9	25-35
COM 76	M	45-50+	50.7	45-55
COM 77	M	~30	41.7	27-30
COM 87	F	33-45	41.5	33-45
COM 89	F	17-25	20.3	25-35
COM 90	M	33-45	33.8	25-35
COM 92	M	33-45	34.9	33-45
COM 110	M	33-45	42.1	33-45
COM 129	F	33-45	50.2	33-45
COM 134	F	17-25	19.6	17-25
COM 139	M	~30	27.5	33-45
US 1349	?	33-45	43.0	33-45
US 1845-2	?	33-45	42.0	33-45

AA = Anthropological Age; DA = Dental Age

**Table 4.** Mean ranges of AA and DA for Spanish sample.

Individual	Sex	AA (Mean Age Range)	DA	Range (max and min)
TOR 204	M	25-30	26.5	25-30
TOR 207	M	21-26	21.0	17-30
TOR 214	M	18.5-25	22.0	17-25
TOR 216	F	23-27	25.7	21-30
TOR217	F	18-22	22.0	18-23
TOR 218	F	26-32	32.0	23-34
TOR 220	F	27.5-32	33.7	25-34
TOR 222	M	18-22	21.5	18-25
TOR 225	F	39-64	63.0	39-64
TOR 228	F	18-23	22.0	18-24
TOR 229	F	42-87	47.0	42-87
TOR 231	M	28-32	31.0	26-34
TOR 233	F	18.5-23.5	23.0	17-25
TOR 234	M	34-42	35.6	33-45
TOR 235	M	40-45	45.0	40-45
TOR 237	M	28-33	31.0	25-35
TOR 249	M	43-55	54.0	43-55
TOR 251	F	19-22	20.0	17-24
TOR 252	M	21-27	24.0	17-30
TOR 254	F	25-32.5	27.7	25-35
TOR 255	M	25-32	29.9	25-35
TOR 265	M	41-62	51.0	32-65
TOR 267	F	29-38	33.7	25-42
TOR 269	F	29-38	42.0	25-42
TOR 277	F	17-24	20.0	17-25
TOR 291	F	18-23	23.0	17-25
TOR 293	F	18.5-25	25.0	17-25
TOR 294	M	26-32	31.2	25-35
TOR 301	M	26-32	31.0	25-35
TOR 314	F	18-25	26.0	17-29

AA = Anthropological Age; DA = Dental Age

**Table 5.** Age at death of the individuals of the Spanish sample.

Individual	Sex	DA	DW	CS	PS		AS	IV RIB	FUSION			SACRUM	
					1	2			Humeral head	Iliac crest	Isch. Tuber.		
TOR 204	M	26.5										25-30	
TOR 207	M	21.0	17-25							20-25	21-24		25-30
TOR 214	M	22.0	17-25							20-25			
TOR 216	F	25.7									21-24		25-30
TOR 217	F	22.0								18-22			18-23
TOR 218	F	32.0				23-38	30-34						
TOR 220	F	33.7					30-34						25-30
TOR 222	M	21.5								18-22			23-25
TOR 225	F	63.0	> 45	39-64		Average 61.4							
TOR 228	F	22.0								18-22	21-24		18-23
TOR 229	F	47.0				42-87							
TOR 231	M	31.0				25-30	30-34	26-32					
TOR 233	F	23.0	17-25							18-22	21-24		18-23
TOR 234	M	35.6	33-45			35-39							
TOR 235	M	45.0				40-45							
TOR 237	M	31.0	30-35				30-34						25-30
TOR 249	M	54.0	> 45					43-55					
TOR 251	F	20.0									21-24	17-20	18-23
TOR 252	M	24.0	17-25							25+			25-30
TOR 254	F	27.7	25-35										25-30
TOR 255	M	29.9	25-35			27-30							25-30
TOR 265	M	51.0	> 45	32-65		50+	50-60						
TOR 267	F	33.7	25-35					33-42					

**Table 5. (continued)**

TOR269	F	42.0	25-35					33-42				
TOR277	F	20.0	17-25									18-23
TOR291	F	23.0	17-25						15-19	21-24		
TOR293	F	25.0	17-25							21-24		
TOR294	M	31.2	25-35		27-30							
TOR301	M	31.0	25-35		27-30							25-30
TOR314	F	26.0	17-25			20-29				18-22		

**DA = Dental Age; DW = Dental wear; CS = Cranial Suture; PS = Pubic Symphysis; AS = Auricular Surface**

**1 = Todd's method; 2 = Suchey and Kats' method**

**Table 6.** Age at death of the individuals of the Italian samples and applied methods.

Individual	Sex	DA	DW	PS	RANGE	OAI
CSP 1	M	39.0	33-45	39-44	33-45	
CSP 2	F	24.1	17-25	22-24	17-24	Ilium about to fuse with the ischium.
CSP 4	F	24.2	17-25		17-25	
CSP 5	M	30.6	33-45	30-35	30-45	
CSP 16	F	29.6	25-35		25-35	
CSP 17	F	19.2	17-25	18-19	17-25	Head of the femur just fused to the diaphysis.
CSP 18	F	40.1	25-35		25-35	Medial end of the clavicle shows traces of fusion.
CSP 20	F	21.1	17-25		17-25	Head of the humerus still unfused.
CSP 21a	M	18.4	17-25	18-19	17-25	Ilium about to fuse with the ischium.
CSP 28	M	40.8	30-35		30-35	Medial end of the clavicle shows traces of fusion.
CSP 35	M	45.7	30-35		30-35	
CSP 42	F	47.3	33-45		33-45	
CSP 46	M	56.5	45+	50+	45-55	
CSP 51	F	37.2	25-35		25-35	Medial end of the clavicle shows traces of fusion.
CSP 54	M	26.2	25-30		25-30	Medial end of the clavicle shows traces of fusion.
CSP 70	F	54.2	33-45		33-45	
CSP 90	M	20.2	17-25	18-19	17-25	Iliac crest and ischiatic tuberosity just fused.
CSP 93	F	21.3	17-25	20-21	17-25	Ilium, ischium and pubis are still unfused.
CSP 115	M	62.2	33-45		33-45	
CSP 161	F	56.2	33-45		33-45	

**Table 6. (continued)**

COM 6	F	21.0	17-25	22-24	17-25	Medial end of the clavicle shows traces of fusion.
COM 34	F	46.3	33-45		33-45	
COM 40	M	49.8	33-45		33-45	
COM 41	M	23.9	17-25	22-24	17-25	Medial end of the clavicle still unfused.
COM 43	F	57.4	45+		45-55	Several AM losses of teeth, abscesses, periodontitis.
COM 50	F	51.6	33-45	39-44	33-45	Almost complete obliteration of cranial sutures.
COM 51	M	42.2	25-35	35-39	25-39	
COM 52	F	48.7	33-45		33-45	
COM 56	M	52.2	45+			
COM 59	M	45.8	33-45		33-45	Several AM losses of teeth.
COM 67	M	27.9	25-35	30-35	25-35	
COM 76	M	50.7	45+	44-50		Several AM losses of teeth, abscesses, periodontitis.
COM 77	M	41.7	25-35	27-30	25-35	Medial end of the clavicle shows traces of fusion.
COM 87	F	41.5	33-45		33-45	
COM 89	F	20.3	25-35		25-35	
COM 90	M	33.8	25-35		25-35	Medial end of the clavicle shows traces of fusion.
COM 92	M	34.9	33-45		33-45	
COM 110	M	42.1	33-45		33-45	
COM 129	F	49.9	33-45		33-45	
COM 134	F	19.6	17-25	20-21	17-25	Erupting M3, iliac crest about to fuse.
COM 139	M	27.5	33-45		33-45	



**Table 6. (continued)**

COM US 1349	?	43.0	33-45		33-45	
COM US 1845-2	?	42.0	33-45		33-45	

**DA = Dental Age; DW = Dental Wear; PS = Pubic Symphysis; OAI = Other Age Indicators**



## **CAPÍTULO 4**



**AGE-AT-DEATH ESTIMATION BY PULP/TOOTH AREA RATIO IN CANINES: STUDY OF A 20<sup>TH</sup>-CENTURY MEXICAN SAMPLE OF PRISONERS TO TEST CAMERIERE'S METHOD.**

BASADO EN:

**De Luca S.<sup>1</sup>, Bautista J.<sup>2</sup>, Alemán I.<sup>1</sup>, Cameriere R.<sup>3</sup>** 2011. Age-at-death estimation by pulp/tooth area ratio in canines: study of a 20th century Mexican sample of prisoners to test Cameriere's method. *Journal of Forensic Sciences*; DOI: 10.1111/j.1556-4029.2011.01784.x.

1. Laboratory of Anthropology, Faculty of Medicine, University of Granada, Granada, Spain.
2. Department of Physical Anthropology, INAH, Mexico City, Mexico.
3. AgEstimation Project, Institute of Legal Medicine, University of Macerata, Macerata, Italy.

**KEYWORDS:** FORENSIC SCIENCE, FORENSIC ODONTOLOGY, AGE ESTIMATION, SECONDARY DENTINE, PULP/TOOTH AREA, LINEAR REGRESSION.

## INTRODUCTION

Accurate age-at-death estimation is an important component of both forensic and archaeological studies (Hooton, 1947). However, the aims and human material of these disciplines are different. In bioarchaeology and other population-focused studies (Cunha *et al.*, 2009; Wittwer-Backofen *et al.*, 2008), age estimation is essential for inferring derived demographic parameters such as growth rates, fertility schedules, and life expectancies (Foti *et al.*, 2001; Jackes, 2000; Schmeling *et al.*, 2007). In forensic contexts, where both accuracy and reliability are required (Ousley, 1995), this parameter is fundamental for identification of deceased victims and living persons, in connection with crimes, mass disasters and migration movements (Foti *et al.*, 2001; Jackes, 2000; Ousley, 1995; Schmeling *et al.*, 2007).

Age-at-death assessment faces biological and methodological problems due to its great variation, both within and between populations. As skeletons delivered for examination are often incomplete, the possibility of identifying dead bodies with respect to parameters such as stature, age, sex, and individual traits by means of classical osteological methods alone (employed in both forensic medicine and anthropology) is usually limited. For this purpose, various parts of the body are examined and several techniques are employed (Baccino *et al.*, 1999; Kulmann, 1995; Lucy *et al.*, 1995; Martrille *et al.*, 2009). However, there is still much confusion about the standardization of methods, procedures and statistical parameters (Cunha *et al.*, 2009; Cattaneo, 2007). It is necessary to take into account many factors such as the context, costs, time and equipment required, the examiner's qualifications and the various states of

preservation of bodies. Choice also partly depends on how accurate the age diagnosis needs to be in the case in question (Passalacqua, 2009).

With this move towards improving existing age-at-death estimation techniques, more accurate age related changes in teeth have recently been re-examined as an alternative to skeletally based techniques (Baccino *et al.*, 1991; González, 2007; Landa *et al.*, 2009). Age estimations from teeth are frequently used because teeth may be preserved long after all other tissues have disappeared (Kulmann, 1995; Lucy *et al.*, 1995; Ubelaker y Parra, 2008). They are still preserved even when most of the bones have been destroyed, mutilated or affected by other taphonomic agents (Lucy *et al.*, 1995).

Forensic odontologists have a number of such methods available for use in their discipline (Willems, 2001). The search for optimal age estimation procedures has continued over the years until the present day (Cunha *et al.*, 2009). Using the degree of aspartic acid racemization in dentine (Ohtani, 1991) or the determination of cementum annulation from tooth-root cross-sections (Renz y Radlansky, 2006), the error bounds for age estimates within 95% confidence intervals did not exceed 2.5 years (Cunha *et al.*, 2009; Ohtani, 1991). However, these dental age estimation methods most frequently referred to require extraction and, in some of them, preparation of microscopic sections of at least one tooth. These methods are time-consuming and expensive and a destructive approach may not be acceptable for ethical, religious, cultural or scientific reasons (Ohtani, 1991; Willems *et al.*, 2006; Roksandic *et al.*, 2009; Rösing, 2000).

Additional problems can be the reference samples on which the various methods have been developed, which are also of fundamental

concern since the methodologies become too specific or dependent on the demographical and chronological profile of the series. Correct age estimation must consider this unavoidable limit in order to define with precision the limits of results provided (Cunha *et al.*, 2009; Ritz-Timme *et al.*, 2000; Ubelaker y Parra, 2008).

For adults, the literature offers various possibilities, such as morphological, biochemical and radiological techniques (Cunha *et al.*, 2009; Martín de las Heras *et al.*, 1999; Oliveira *et al.*, 2006; Thali *et al.*, 2006). Several very fine and relatively accurate dental methods are now available (Willems, 2001). One of them is apposition of secondary dentine which represents an ongoing, regular process, only modified by extensive caries or tooth wear (Philippas y Applebaum, 1967; 1968). Dentine is a living tissue containing odontoblasts which form the tooth and which, during a person's lifetime, for both physiological and pathological reasons, deposit layers of secondary dentine which gradually obliterates the pulp chamber (Bodecker, 1925; Gustafson, 1950). The mean rate of increasing dentinal thickness has been found to be 6.5  $\mu\text{m}$  per year for the crown and 10  $\mu\text{m}$  per year for the root. The effect of continuous dentine deposition is the progressive increase in dentinal thickness by 0.45 mm (17.1%) and 0.60 mm (24.3%) in the crown and root areas, respectively. The pattern of secondary dentine deposition varies with tooth type. As regard sex, no statistically significant differences are observed (Murray *et al.*, 2002).

In 1925, Bodecker (1925) ascertained that the apposition of secondary dentine was correlated to chronological age. Detailed studies of the pattern and rate of secondary dentine apposition in maxillary anterior teeth were performed by Philippas and Applebaum (1967, 1968) but without the aim of estimating age at death. Secondary

dentine deposition was included in the method pioneered by Gustafson (1950), in which dentine transparency and secondary dentine values showed the highest correlation with age.

Secondary dentine has been studied by several methods: examples are sectioning and X-rays (Bosmans *et al.*, 2005; Cameriere *et al.*, 2004; Paewinsky *et al.*, 2005). However, radiographic analysis does not require grinding or sectioning of teeth and therefore it does not destroy any tooth substance.

Kvaal *et al.* (1995) and Paewinsky *et al.* (2005) obtained reproducible measurements of the dental pulp chamber and great correlation between the individual age and the dimensions of the pulp chambers.

Since 2004, Cameriere *et al.* (2008a) have published five papers on a new method for age estimation using apposition of secondary dentine in canines. Canines were chosen for a number of reasons: they have the longest functional survival rate in the mouth, undergo less wear as a result of diet than posterior teeth, are less likely than other anterior teeth to suffer wear as a result of particular work, and are the single-root teeth with the largest pulp area and thus the easiest to examine. Currently, the apposition of secondary dentine by peri-apical X-ray may provide a useful tool in age estimation in adults (Cameriere, 2008; Cunha *et al.*, 2009).

Reliability is the degree to which a method produces the same results when it is used at different times, either by multiple observers or by the same observer. It can be tested by conducting inter-observer or intra-observer variation studies to determine error rates. Low inter-observer variation (or error) indicates high reliability (Adams y Bird, 2002).





**Figure 1.** Inaugurated by the President Porfirio Díaz and known in popular culture as the “Black Palace of Lecumberri,” it was used as a penitentiary from 1900 to 1976. The building was decommissioned as a prison in 1976 and was turned over to the National Archive in 1980.

The present study examines the reliability of Cameriere’s method (2007 a,b) in a sample of skeletal human remains from Mexico. This osteological collection belongs to the Department of Physical Anthropology of the INAH (Instituto Nacional de Antropología e Historia), in Mexico City. The importance of this collection lies in the characteristics of the individuals composing the sample: 85 Mexican male subjects of known age and cause of death who were detained in the National Penitentiary of Lecumberri (Mexico City) between 1901 and 1914 (Figure 1). The most common cause of death was infections of various kinds (Bautista y Pijoan Aguadé, 1998).

The main aim of this work is to test the accuracy of the pulp/tooth area ratio by peri-apical X-ray images as an age indicator, using identified sample from a 20<sup>th</sup>-century Mexican skeletal collection. The method of Cameriere *et al.* (2004) is the first to focus on analysis of this ratio to estimate age. Nevertheless, it is necessary to ascertain whether the original formulas predicted age accurately or if population-specific equation improved age assessment. As Cunha *et al.* noted (2009), sometimes, the best method is that which has been tested by many on several and different populations, which is suitable for a specific forensic context, practical, quick and not expensive.

#### **MATERIALS AND METHODS**

Peri-apical X-rays of 103 canines from 85 male subjects aged between 18 and 60 years were analyzed (Table 1). Teeth were selected from the osteological collection, mentioned above, formed of the 122 skulls with mandibles of prisoners, aged between 18 and 75, who had died in the Lecumberri Penitentiary before completing their sentence. Due to the parameters selected (presence of canine), it was possible to study only the 85 male subjects indicated before, excluding the individuals older than 60 years because of the absence of canines.

There was a clause in the prison's regulation, which stated that the bodies of all prisoners dying before the end of their sentence should be autopsied and their skulls retained. It was due to this rule that a collection of 130 male skulls was made. Of the 130 skulls that originally formed the collection eight were lost (Bautista y Pijoan Aguadé, 1998). It is currently composed of 122 complete skulls with mandibles, collected between 1901 and 1914. The prisoners' skulls were emaciated and cleaned after autopsy, so that the samples are

generally exceptionally well preserved (Figure 2, A and B). This condition facilitated radiographic analysis of teeth.



**Figure 2.** **A)** Skull n. 11 of the osteological collection of Lecumberri Penitentiary. Professor Nicolás León created this collection between 1901 and 1914. A successive numeration from 1 to 130 was assigned to the skulls in the Department of Physical Anthropology of the INAH (1983); **B)** Skull n. 91 has two reference numbers, one on the left parietal bone and the other on the mandible. In order to create an internal catalogue of the skulls, a new label was assigned to them, from Da-2-530 to Da-2-653 and from Db-2-530 to Db-2-653. Da was the label selected to define normal skulls and Db to pathological ones (photo R. Enríquez, DAF-INAH).

Of these 122 skulls, 119 had tags giving the personal details of each subject : prisoner's name, date and place of birth, occupation, age on entering jail, marital status, religion, ethnicity, educational attainment, crime, sentence, date of admission to prison, date of completion of sentence, and date and cause of death. All the skulls belong to adult male subjects, divided into the following age ranges, as ranked by Hooton (1947):

Subadult (18-20 years) 3 (2.4%)

Young Adults (21-35 years) 63 (50.0%)

Average-age Adults (36-55 years) 50 (39.7%)

Old Adults (56-75 years) 10 (7.9%)

Hooton (1947) had taken his data before four of these 126 skulls had been lost (Bautista y Pijoan Aguadé, 1998). As the age appearing in the personal files is that at the moment of imprisonment, it was necessary to add the number of years they stayed in prison until they died (Figure 3). The highest number of deaths occurred between 1908 and 1911, peaking in 1909. Table 2 lists the numbers and dates of deaths.



**Figure 4.** Personal tag of a prisoner. Doctor Nicolás León obtained the personal data of each detainee from the penitentiary authorities (photo R. Enríquez, DAF-INAH).

Many of the detainees had been born in the central-southern parts of the Mexican Republic (Table 3), and many of them gave their occupations as day laborers (Table 4). A high percentage of them could not read, 30 could read and write, 18 could only read but not write, four had been to elementary school, and one had gone to high school. None

of the others had any data regarding schooling. The crimes for which they had been sent to prison were mainly homicide, followed by assault and battery, or both (Table 5). Living conditions in the penitentiary were so poor that many prisoners died within a few months of entering. The average length of stay ranged from five months to two years.

Finally, causes of death were mainly infections. The most common causes were gastrointestinal diseases, acute or chronic, and tuberculosis, which killed at least one-fifth of the detainees every year. Cardiovascular diseases represented the main cause of death of the younger individuals (Table 6).

The method applied here to estimate age at death followed that previously published by Cameriere *et al.* (2007 a,b). Only individuals with at least one canine were selected and, if both teeth were present, bilateral canines were studied. In addition, canines without endodontic treatment or any prosthetic fittings and canines without dental fillings and significant pathologies, such as wear, caries, and calculus, were chosen. The selected nomenclature to classify the canines is that proposed by the Fédération Dentaire Internationale (F.D.I.).

Standard X-rays generating equipment (Toshiba® IRYOYOHIN-Torex 20) for intraoral radiography was used, manufactured by Picker X-ray Corporation Waite Manufacturing Division, Inc. and International Association of Machinists and it was property of the INAH (Instituto Nacional de Antropología e Historia). It is a mobile X-rays machine easy to use and simple to operate. The teeth were X-rayed in a designated area (controlled area) both isolated and *in situ*, depending on the state of conservation of each skull and on the possibility of extracting them without damage. Normal intraoral and peri-apical X-rays were taken directly by manual radiological

techniques with an exposure of 40 mA at 70 kVp. Both paralleling and bisected angle techniques were utilized, depending on the situation of each canine inside the skull and mandible. Direct-action or non-screen film (Kodak® INSIGHT dental film - 24 x 40 mm) was used as image receptor. This type of film is often used for intraoral radiography where the need for excellent image quality and fine anatomical detail are of great importance (Bodecker, 1925; Whaites, 2002). Manual processing (developing and fixing) of radiographic images was carried out in a darkroom including a series of solution tanks, thermometer, timer and film. X-rays were then digitized using a scanner (HP G4050 scanjet, at least 300 dpi resolutions) and images were stored digitally. The images were saved in JPG format for further image analysis (Figure 4, A and B).

Following Cameriere *et al.* (2007 a,b), the radiographic images of the canines were processed with a computer-aided drafting program (ADOBE® Photoshop® CS4). A minimum of 20 points from each tooth outline and 10 points for each pulp outline were identified and connected with the line tool, also on the Draw Toolbox, and the area of both tooth and pulp were ascertained (Cameriere, 2008). All measurements were made without prior information about personal data of the subjects.

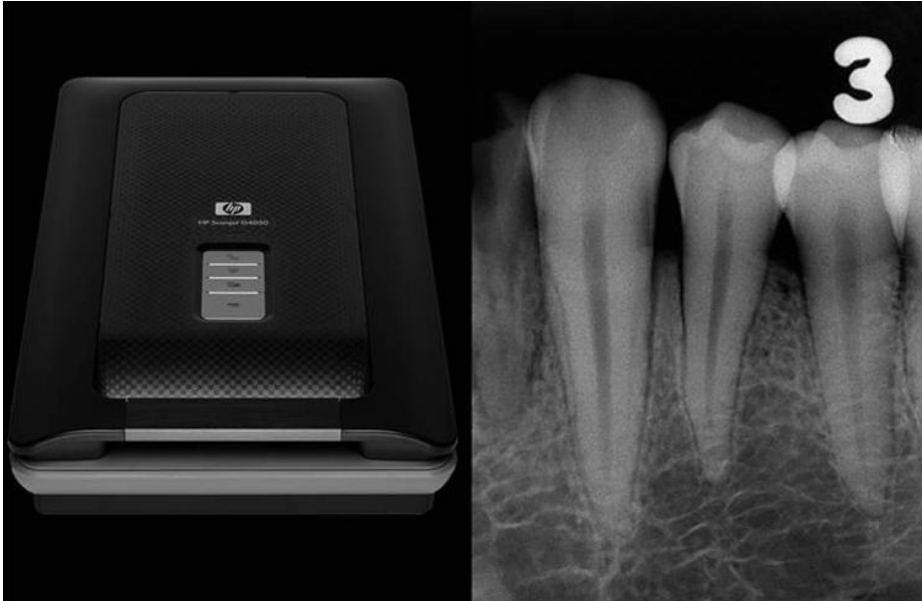
Age was estimated by applying the three equations proposed by Cameriere *et al.* (2007b) for upper canine (1), lower canine (2), and for both canines (3):

Upper canine:  $\text{Age} = 99.937 - 532.775 (\text{RAu})$

Lower canine:  $\text{Age} = 89.456 - 461.873 (\text{RAI})$

Both canines:  $\text{Age} = 114.624 - 431.183 (\text{RAu}) - 456.692 (\text{RAI}) + 1798.377 (\text{RAu})(\text{RAI})$

RAu and RAl respectively represent the pulp/area ratio in upper and lower canines.



**Figure 4.** A) The scanner HP G4050 scanjet is property of the Laboratory of Anthropology of University of Granada (Spain). This equipment showed high pixel reproducibility and high image quality; B) Peri-apical X-rays of the lower left canine of skull Da-2-551. Observe the great contrast and the low image distortion that enable the analysis of the pulp chamber.

### STATISTICAL ANALYSIS

For each skull in the Mexican sample, dental maturity was evaluated by measuring the pulp/tooth area ratio on upper (RAu) and lower canines (RAl). All measurements were carried out by the same observer with ample experience of this method. To test intra-observer reproducibility, all peri-apical X-rays were re-examined after an interval of two weeks. Intra-observer reproducibility of measurements was studied by Pearson's concordance-correlation coefficient.

The accuracy of dental age estimation was defined as how closely chronological age could be predicted, measured as the difference between chronological age and dental age. To evaluate the accuracy of an age estimation method, the age of each subject ( $Age_i$ ,  $i = 1, \dots, n$ ) was compared with estimated ages ( $Age_{est,i}$ ,  $i = 1, \dots, n$ ) by means of the mean prediction error:

$$ME = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n E_i = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n |Age_i - Age_{est,i}|,$$

where  $n$  is the number of subjects in the sample, and  $E_i$ , ( $i = 1, \dots, n$ ) is the absolute value of the  $i$ -th residual, i.e., the difference between the chronological and dental ages of the  $i$ -th individual:

$$\delta_i = Age_i - Age_{est,i}, i = 1, \dots, n.$$

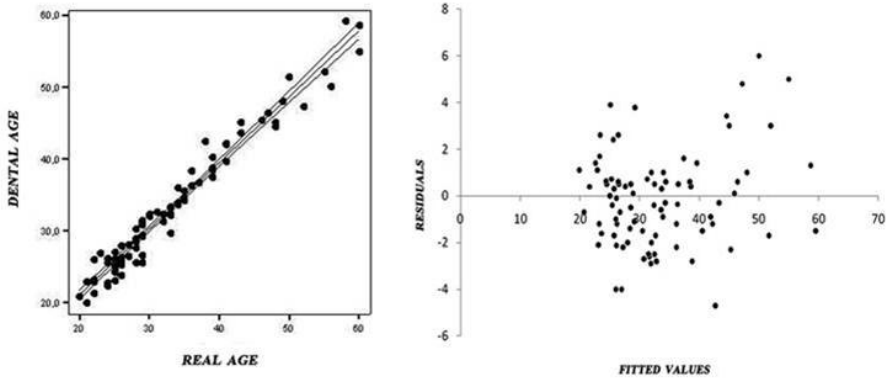
A positive value of  $\delta_i$  indicates underestimation and a negative value overestimation. Data were analysed by SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) 15.0 software. The significance threshold was set at 5%.

## RESULTS

In the above sample, there were no statistically significant intra-observer differences between the paired sets of measurements carried out on the re-examined peri-apical X-rays ( $p < 0.01$ ). Very good agreement was found between intra-observer measurements (Table 7). Pearson's correlation coefficients between age and morphological variables showed that all of them were significantly correlated with age and all correlation coefficients between age and morphological



variables were significant and negative (Table 8). The regression model explained 96.2% of total variance ( $R^2 = 0.962$ ) with a standard error of estimate of 1.909 (Table 9). The standard deviation is 1.947.



**Figure 5.** Plots of data and regression line. Residuals against fitted values using a simple linear regression model to describe age as function of pulp/tooth ratio.

The residual plot (Figure 5, right panels) shows no obvious pattern, and the data points did not plot outside the expected boundaries. The regression line (figure 5, left panel) shows that the regression model fits the data trends very well. Hence, both diagnostic plots support the chosen model.

## DISCUSSION

Age estimation is essential in both forensic and anthropological sciences. While sex assessment in adults generally does not present any difficulty, the estimation of age at death of adults remains difficult and is subject to many types of error which can be prejudicial for forensic and bioarchaeological analysis (Cunha *et al.*, 2009).

Reliable aging techniques are available for many different anatomical regions of the human skeleton. However, elements

commonly used for establishing age at death, such as the pubic symphysis, the auricular surface of the ilium and the fourth rib, are sometimes missing and body parts may be frequently damaged (DiGangi *et al.*, 2009; Kimmerle *et al.*, 2008; Ousley, 1995). So, it becomes necessary to check the validity of more accurate methods, less biased by other factors such as the degree of age-related information contained within specific skeletal traits, as well as statistical methods used to develop age estimation methods (Baccino *et al.*, 1991; González, 2007; Landa *et al.*, 2008; Roksandic *et al.*, 2009; Kimmerle *et al.*, 2008; Igarashi *et al.*, 2005). A large number of methods and variants have been developed, and this number is constantly increasing, reflecting the difficulty of diagnosis and dissatisfaction with available techniques. The key criterion for assessing the value of a method is the error of estimate (confidence interval, tolerance limits, etc.), that is, a measure of dispersion in the reference sample (Rösing, 2001; Rösing *et al.*, 2007).

Study of dental characteristics is often the sole resource for age assessment, due to the relatively small error of estimation (Oliveira *et al.*, 2006; Rösing *et al.*, 2007; Willems *et al.*, 2002). However, several dental methods imply partial destruction of the tooth, and seem to be very complicated and expensive to be applied on a large scale (Drusini *et al.*, 1997; Foti *et al.*, 2001; Martín de las Heras, 1999; Renz y Radlansky, 2006; Willems, 2001). The apposition of secondary dentine is a frequently used method of ascertaining age (Cunha *et al.*, 2009). Preliminary results by Cameriere *et al.* (2006), applying orthopantomography, revealed a linear regression between age and pulp/tooth ratio of upper canines.

This new paper was organized following the above preliminary study but with peri-apical X-rays instead of orthopantomography. A more accurate radiographic image was produced by applying both paralleling and bisecting angle techniques. The paralleling technique provided low image distortion. The root and the crown of the canine were well shown enabling the study of tooth and pulp chamber. The resulting digitalized images showed greater contrast and had less chance of overlap. In addition, when extracted teeth were examined, peri-apical images of single canines made data analysis even easier.

Dental age was evaluated by measuring the pulp/tooth area ratio according to labio-lingual peri-apical X-rays on upper and lower canines. Measurements of pulp and tooth areas on digital peri-apical images of canines yielded more reliable and reproducible data than those achieved by orthopantomograms. The results did not reveal any statistically significant differences between Mexican and European samples, and therefore suggested the possibility of applying the same regression equations to both populations.

The results of this study demonstrate the great accuracy of the pulp/tooth area ratio as an indicator of age at death. With this simple and accurate method, the error of age estimation (about 1.9 years) is much lower than that of most anthropological methods, which give an error of more than 5 years. Also, it confirms the importance of studying anthropological frameworks for identification, which lead to reliable methods and allow for both quick and economic procedures.

## **CONCLUSIONS**

In forensic contexts, accurate estimates of age at death are crucial in efforts positively to identify partially or completely

decomposed individuals by narrowing down the missing persons list of potential victims. In this context, judicial requirements, time and the accuracy of the age range are basic factors in developing identification procedures. In addition, as a result of the global increase in migration movements in recent years, there is a growing demand for age estimates of living persons. Furthermore, during U.S. federal legal proceedings, the reporting of statistic error in forensic science applications is necessary in cases of legal admissibility according to the Daubert standard (1993). This means that forensic techniques must be accurate; they must lead to very precise results with ranges which will correctly classify an individual at least 95% of the time.

The origin of errors may frequently be found in variations both between and within studied populations, in observer variations, and in the methods employed. Thanks to recent and relevant advances of physical anthropology, old methods have been improved and new techniques have been recently proposed (Martín de las Heras *et al.*, 1999; Oliveira *et al.*, 2006; Thali *et al.*, 2006). However, due to genetic and non genetic factors, when applied to independent populations of known age at death, many methods prove less reliable than the results obtained from the samples used to elaborate those methods (Cunha *et al.*, 2009; Schmeling *et al.*, 2007; Kulmann, 1995).

The results of this study clearly indicate the following:

1. Study of the apposition of secondary dentine by peri-apical X-rays (Cameriere *et al.*, 2007 a,b) can be used to generate forensically significant age-at-death estimates, both in living and deceased persons.
2. Due to its relatively small error of estimation, the analysis of morphological parameters of teeth on peri-apical X-rays of adult

humans is more reliable than most other methods for age estimation. Computer-assisted image analysis avoids the bias inherent in observer subjectivity, and improves the reliability and the statistical analysis of data.

3. This application to a Mexican sample demonstrates that the same regression equations can be used without any statistically significant differences between individuals from a population of diverse origin.
4. Study of the apposition of secondary dentine (Cameriere *et al.*, 2007 a,b) is easy to apply, is not destructive, is easier to check scientifically, is less dependent on technical ability than other techniques, and does not require highly specialised equipment.
5. The method (Cameriere *et al.*, 2007 a,b) also can reveal its usefulness in both bio-archaeological and forensic anthropological settings, suggesting the use of the pulp/tooth ratio also for paleodemographic studies. Paleodemography examines the structure and dynamics of pre-modern populations (Hoppa y Vaupel, 2002). As its analyses are mainly based on expected longevity, infantile mortality and mortality rates, it can benefit from any method which is able to determine age at death with greater precision and accuracy (Wittwer-Backofen *et al.*, 2008; Jackes, 2000; Passalacqua, 2009).
6. This method (Cameriere *et al.*, 2007 a,b) should be always used in conjunction with one another in order to provide the most precise estimation of age possible.

Future research should aim at reducing standard errors of age estimation, at studying the effect of different races and cultures on

model parameters, and at investigating the use of several teeth together, in order to improve dental age estimation.

**ANEXOS 1**  
**TABLAS**

**Table 1.** Age distribution of Mexican sample of Lecumberri Penitentiary.

Age	N	%
18 - 20	1	1.18
21 - 35	59	69.4
36 - 55	21	24.7
56 - 60	4	4.7
TOTAL	85	100

**Table 2.** Distribution of mortality in Lecumberri Penitentiary (modified from Baustista and Pijoan Aguadé, 1998).

Year	N	%
1901	1	4.2
1902	6	5.1
1903	2	1.7
1904	3	2.5
1905	5	4.2
1906	11	8.4
1907	13	8.4
1908	20	16.8
1909	21	17.6
1910	17	14.3
1911	14	11.8
1912	5	4.2
1914	1	0.8
TOTAL	119	100



**Table 3.** Place of birth of the criminals detained in Lecumberri Penitentiary (modified from Baustista and Pijoan Aguadé, 1998).

Place	N	%
MEXICO CITY	74	60.7
GUANAJUATO	20	16.4
ESTADO DE MEXICO	10	8.2
QUERÉTARO	5	4.1
PUEBLA	4	3.3
MICHOACAN	3	2.5
HIDALGO	2	1.6
CHIAPAS	1	0.8
JALISCO	1	0.8
MOREOS	1	0.8
BELICE	1	0.8
<b>TOTAL</b>	<b>122</b>	<b>100</b>

**Table 4.** Main occupation of the detainees of the Lecumberri Penitentiary (modified from Baustista and Pijoan Aguadé, 1998).

Occupation	N	%
VARIOUS JOBS	62	50.8
DAY LABORER	32	26.2
CRAFTSMAN	13	10.7
DOMESTIC	3	2.5
DEALER	3	2.5
PEASANT	1	0.8
EMPLOYEE	1	0.8
UNKNOWN	7	5.7
<b>TOTAL</b>	<b>122</b>	<b>100</b>

**Table 5.** Type of crime of the criminals of the Lecumberri Penitentiary (modified from Baustista and Pijoan Aguadé, 1998)

<b>Kind Of Crime</b>	<b>N</b>	<b>%</b>
HOMICIDE	59	48.4
ROBBERY	45	36.9
PHYSICAL DAMAGE	6	4.9
HOMICIDE AND ROBBERY	5	4.1
RAPE	2	1.6
HOMICIDE AND DAMAGE	2	1.6
FAILED HOMICIDE	1	0.8
KIDNAPPING	1	0.8
ROBBERY AND DAMAGE	1	0.8
TOTAL	122	100

**Table 6.** Main cause of death of the prisoners in Lecumberri Penitentiary (modified from Baustista and Pijoan Aguadé, 1998).

Year	Gastro	%	Tuberculosis	%	Epatic Disease	%	Cardiac Disease	%	Renal Disease	%	Syphylis	%	Rheumatic Disease	%	Lung Disease	%	Violence	%	Other	%	All
1901	1	20			1	20											2	40	1	20	5
1902	1	16	3	50	1	16			1	16											6
1903	1	50																	1	50	2
1904									1	33							1	33	1	33	3
1905	2	40	2	40															1	20	5
1906	2	20	3	30			2	20			1	10			1	10			1	10	10
1907	3	30	1	10	1	10	4	40			1	10									10
1908	2	10	3	15	3	15	3	15			1	5	4	20	1	5	1	5	2	10	20
1909	5	23	4	19			7	33	1	5			2	10					2	10	21
1910	6	35	5	29	1	6	3	17											2	12	17
1911	5	35	6	42			2	14											1	7	14
1912	1	20	3	60													1	20			5
1914							1	10													1
1915							2	66					1								3
<b>All</b>	29	24	30	25	7	6	24	20	3	2	3	2	7	6	2	2	5	4	12	10	122

**Table 7.** Pearson’s correlation between measurements of the same observer (Intra-observer error).

		<b>Dentalage1</b>	<b>Dentalage2</b>
<b>Dentalage1</b>	Pearson’s correlation	1	0.998
	Sig. (bilateral)		0.000
	N	85	85
<b>Dentalage2</b>	Pearson’s correlation	0.998	1
	Sig. (bilateral)	0.000	
	N	85	85

**Table 8.** Correlation coefficients between predictive morphological variables and real age.

		<b>Real age</b>	<b>*ptar43</b>	<b>*ptar23</b>	<b>*ptar13</b>	<b>*ptar33</b>
<b>Real age</b>	Pearson’s correlation	1	0.947	0.856	0.964	0.940
	Sig. (bilateral)		0.000	0.000	0.000	0.000
	N	85	19	25	31	22

**\*Ptar = pulp/tooth area ratio.**

**Table 9.** R-square of the linear regression.

<b>Model</b>	<b>R</b>	<b>R-s quare</b>	<b>Corrected R-s quare</b>	<b>Standard error of the estimate</b>
1	0.981	0.962	0.962	1.909



## **CAPÍTULO 5**



**ACCURACY OF THREE AGE ESTIMATION METHODS IN CHILDREN BY MEASUREMENTS OF DEVELOPING TEETH, AND CARPALS AND EPIPHYSES OF THE ULNA AND RADIUS.**

BASADO EN:

**De Luca S.<sup>1</sup>, Cameriere R.<sup>2</sup>, Biagi R.<sup>3</sup>, Cingolani M.<sup>4</sup>, Farronato G.<sup>5</sup>, Ferrante L.<sup>6</sup>** 2011. Accuracy of three age estimation methods in children by measurements of developing teeth, and carpals and epiphyses of the ulna and radius. *Journal of Forensic Sciences*; in press.

1. Laboratory of Anthropology, Faculty of Medicine, University of Granada, Granada, Spain.
2. AgEstimation Project, Institute of Legal Medicine, University of Macerata, Macerata, Italy.
3. Department of Pediatric Dentistry, School of Dentistry, University of Milan, Milan, Italy.
4. Institute of Legal Medicine, University of Macerata, Macerata, Italy.
5. Department of Orthodontics, School of Dentistry, University of Milan, Milan, Italy.
6. Institute of Biochemical Biotechnologies, Faculty of Medicine, Polytechnic University of Marches, Ancona, Italy.

**KEYWORDS:** FORENSIC SCIENCE, AGE ESTIMATION, CHILDREN, ACCURACY, TOOTH DEVELOPMENT, HAND-WRIST BONES.



## INTRODUCTION

Several techniques are available for age estimation in children. In the past, the accuracy and reliability of these methods have been subjected to constant evaluation by skeletal biologists and forensic scientists (Bagherpour *et al.*, 2010; Cameriere *et al.*, 2006a; Coutinho *et al.*, 1993; Dünkel, 1997; Haavikko, 1970; Noback, 1954; Tompkins, 1996; Tunc and Koyuturk, 2008). Within clinical medicine, age assessment assists in diagnosis and treatment planning. It is also a fundamental issue in pediatric endocrinology and in orthodontic treatment (Cameriere and Ferrante, 2008). In forensic sciences and bio-archaeology, age-at-death estimation can aid the identification of a dead child and also give important information with regard to past populations. Age estimation is also proving valuable when birth data are lacking or doubted, for instance, in supervising immigrants without documents and for identifying presumed under-aged juvenile perpetrators or victims of pedo-pornography (Chen *et al.*, 2010; Coutinho *et al.*, 2003; Cunha *et al.*, 2009; Dünkel, 1997; Ritz-Timme *et al.*, 2000).

In the last few years, great attention has been given to child pornography, which has increased particularly due to the development of web technology. The misuse of the Internet as a criminal tool is a serious problem, particularly with regards to the rising issue of this type of child abuse (Cunha *et al.*, 2009). In Italy, for example, the criminal code has precisely defined juvenile pornography as “the abuse of juveniles younger than 18 years of age in order to perform pornographic exhibitions or produce pornographic material” (Art. 600 cpp). Furthermore, there is a specific article in the criminal code (Art. 14 of law no. 269) concerning “rules against exploitation of

prostitution, pornography, sexual tourism against minors, as new types of slavery” and a law (no. 38, 2006) which establishes the institution of a “National Centre against pedo-pornography on the web”, in order to collect all reports on websites with pedo-pornographic content, even from foreign countries, public and private associations. Interpol has established a database so that victims and suspects, who are already known to the authorities, can be identified rapidly. Europol also has set forth successful operations (e.g., Icebreaker), which have resulted in the arrest of suspects across 13 countries who were involved in child pornography. In the European Union, a “Council Framework Decision on Combating the Sexual Exploitation of Children and Child Pornography” has also been founded (Cunha *et al.*, 2009). Therefore, an accurate diagnosis of age is becoming increasingly important in verifying the existence of a crime punishable by law (Cunha *et al.*, 2009; Ritz-Timme *et al.*, 2000; Schour and Massler, 1937).

In European countries, the age threshold for criminal responsibility (the age from which the child is judged capable of contravening the criminal law) ranges between the 13th and 21st years of life, although in some places individuals can be held accountable for their crimes from the age of 7 (Cameriere *et al.*, 2007e; Cameriere and Ferrante, 2008c; Dünkel, 1997). Under Italian criminal law, the minimum age of criminal responsibility is set at 14 years (Dünkel, 1997).

When examining living subadults or the remains of infants, children and adolescents, the most suitable age indicators are the different stages of dental mineralization (Diaz *et al.*, 1993; Schour and Massler, 1937, 1941), the length of long bone diaphyses, the appearance of ossification centers and the fusion of epiphyses (Flecker,

1932; Hailer-Neto *et al.*, 2006; Noback, 1954; Sciulli, 2007). Hands, especially their carpal bones, have been used as age indicators in several studies (Cameriere *et al.*, 2006b; Cameriere and Ferrante, 2008c). The skeletal development of hand-wrist bones is evaluated by X-ray examination and comparisons with the Greulich and Pyle atlas (Greulich and Pyle, 1959), the Tanner-Whitehouse scores (Tanner *et al.*, 1975) and the FELS method (Roche *et al.*, 1988). The quickest and most sufficiently accurate method for this purpose is the Greulich and Pyle atlas (Greulich and Pyle, 1959). Examination is facilitated by the absence of other hard tissues, the low level of radiation exposure, and the large number of bones, making this area preferential for age evaluation (Cameriere *et al.*, 2006b; Cameriere and Ferrante, 2008).

The literature has indicated that dental methods are more reliable than skeletal analyses because they are presumed to be less influenced by racial and environmental factors (Cunha *et al.*, 2009, Ritz-Timme *et al.*, 2000). However, a particular limitation of dental development standards is that the reliability of age estimation is not uniform from birth to adulthood. At around 14 years most teeth are fully developed and age estimation becomes increasingly difficult (Cunha *et al.*, 2009). Generally at this stage the third molars are the only teeth still developing; this particular tooth, however, is not always useful as it is not only characterized by considerable variation in the timing of formation and growth, but is also frequently congenitally absent. As Cunha *et al.* (2009) noted, a comparison between dental and skeletal age is always necessary in order to corroborate results, to verify possible discrepancies, and also to look for indications of sex differences, due to the fact that males have a skeletal delay in growth with respect to females.

Since 2000, the researchers at the Institute of Legal Medicine of the University of Macerata (Italy) have been extensively studying new methods for age estimation in both living and deceased subadults. They have developed regression formulae for age estimation using measurements of teeth (T), hand-wrist bones (HW) and/or both areas (THW) (Cameriere *et al.*, 2006 a,b; Cameriere and Ferrante, 2008).

Accuracy is the degree of error in a measurement as calculated from the true value (Youden, 1998). For skeletal and dental age estimation, this is the ability of a method to continually and consistently provide age intervals which encompass the true age-at-death of individuals. Lovejoy *et al.* (1985) describes the difference between estimated and known ages as biased as it measures the amount of over- and underestimation. An accurate method has no bias, i.e., the mean difference between dental age and known age is zero or close to zero (Liversidge *et al.*, 2010). Reliability is the degree to which a method produces the same results when it is used at different times, either by multiple observers or by the same observer. It can be tested by conducting inter-observer or intra-observer variation studies to determine error rates. Low inter-observer variation (or standard error) indicates high reliability (Adams and Byrd, 2002). The standard deviation (SD) of the mean difference between dental age and real age, also known as the standard error of the estimate (Ritz-Timme *et al.*, 2000), refers to the precision or reliability of estimated age.

The aim of this study is two-fold: firstly, to test the accuracy of three techniques in a new Italian sample; secondly, to elaborate on a standardized procedure for using a combination of these methods. Lastly, it also aims at finding a method suitable in all cases of crimes

involving children, particularly child pornography and child prostitution.

## **MATERIALS AND METHODS**

### *Sample*

This work is a retrospective cross-sectional study of radiographs. X-rays of hand-wrist bones and orthopantomograms (OPGs), taken from 288 Caucasian Italian children (152 boys and 136 girls), aged between 5 and 15 years, were analysed. Subjects' identification number, sex, date of birth and date of X-rays were recorded. Chronological age for each case was calculated from the date of birth to the date of the X-ray. All selected individuals were orthodontic patients and did not display any growth disorders. Studies of children with endocrine disorders have demonstrated that dental development and skeletal growth are not under identical hormonal control (Heyerdahl *et al.*, 1994; Lacey *et al.*, 1973). OPGs of patients with hypodontia or hyperdontia, as well as those with bilaterally extracted mandibular first molars were excluded from the study since it was impossible to obtain complete data from them. Protocols to collect radiographs for human subjects were approved by the Ethics Committee for Research Involving Human Subjects of the University of Macerata (Italy), and the study was conducted in accordance with the ethical standards laid down by the Declaration of Helsinki (Finland).

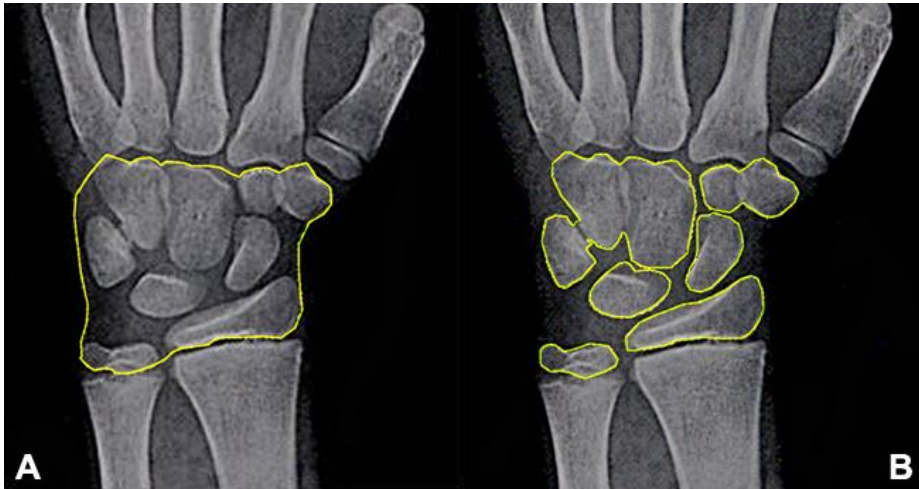
The OPGs were taken as part of routine treatment between 2004 and 2008. In order to evaluate the dental maturity of each individual, the apical end of the roots of the seven left developing permanent mandibular teeth of each individual were analysed (Cameriere *et al.*,

2006a; Haavikko, 1970). Conventional radiographs of left hands and wrists were taken. Radiographic examination was carried out by Trophy with green-sensitive, 18 x 24, 24 x 30, 30 x 40 films for the left hand and wrist (Kodak®). Exposure doses were calculated according to age, zone of exposure and tissue thickness. The exposed doses ranged from 46 to 50 kV and 6.5 to 25 mA. X-rays were digitized with a scanner (HP G4050 scanjet, at least 300 dpi resolution), and images were recorded on computer files, and then processed with a computer-aided drafting program (Adobe® Photoshop® CS4).

With regard to the hand-wrist bones, mineralization of this area begins at birth and lasts until approximately 13 years for girls and 15 for boys for carpals, and 16–17 years for epiphyses of the ulna and radius. Thus, a 5 years girl has 7 carpal centers, while the last carpal center (pisiform) appears only at 12-13 years. In the majority of healthy children, there is an established sequence of ossification for the carpal which is remarkably constant for both sexes. Overall, the first ossification center to appear in hand-wrist radiographs is the capitate, and the last is, most often, the sesamoid of the *adductor pollicis* of the thumb. The first epiphyseal center to appear is that of the distal radius, followed by those of the proximal phalanges, the metacarpals, the middle phalanges, the distal phalanges, and, finally, the ulna (Garn *et al.*, 1967).

Following Cameriere and Ferrante (2008) for hand-wrist bones, X-rays of the left hand were taken in the postero-anterior projection, with fingers slightly splayed. X-ray images were processed by a computer-aided drafting (Adobe® Photoshop® CS4). The mathematical area of the carpal bones (Ca) and epiphyses of ulna and

radius were identified and defined by the polygonal lasso instrument of Adobe® Photoshop® CS4 software.



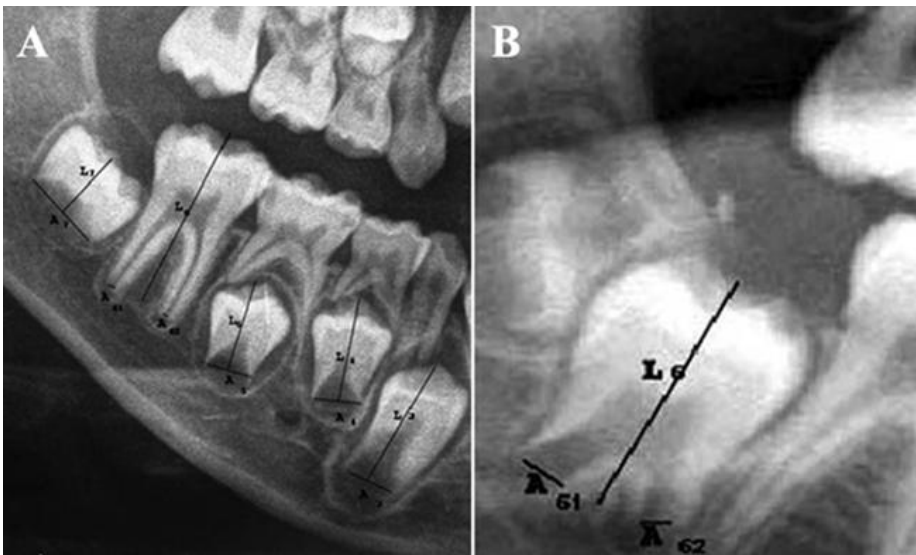
**Figure 1.** **A)** An example of the carpal area selected using the polygonal lasso instrument of Adobe® Photoshop® CS4 software; **B)** An example of correct selection of each carpal bone.

The pixels of these areas were computed and presented as a histogram (Figure 1A). The mathematical area of each carpal bone was selected by the polygonal lasso, and the pixel areas were calculated and added together to yield the global values of bone areas (Bo). If two bones overlapped, the common area was calculated only once (Figure 1B). Lastly, to normalize measurements, the Bo/Ca ratio between total area of bones and carpal area was calculated. With the Bo/Ca ratio, the age was estimated as follows:

$$\text{Age HW} = - 3.253 + 0.719g + 20.610 \text{ Bo/Ca}$$

As regards teeth, the seven left developing permanent lower teeth were evaluated by the same observer. X-rays were digitized using a scanner (HP G4050 scanjet, at least 300 dpi resolution), and images were recorded on computer files, which were processed using a

computer-aided drafting program (Adobe® Photoshop® CS4). The number of teeth with complete root development, i.e., apical ends of roots completely closed (N0), were counted. Teeth with incomplete root development, i.e., open apices, were also examined and the distance ( $A_i$ ,  $i = 1, \dots, 7$ ) between the inner side of the open apex was measured (Figure 2 A y B).



**Figure 2.** **A)** An example of tooth measurement.  $A_i$ ,  $i = 1, \dots, 5$  (teeth with one root), is the distance between the inner sides of the open apex;  $A_i$ ,  $i = 6, 7$  (teeth with two roots), is the sum of the distances between the inner sides of the two open apices; and  $L_i$ ,  $i = 1, \dots, 7$ , is the length of the seven teeth. **B)** An example of measurement of a tooth with two roots.  $A_6$  is the sum of the distances ( $A_6 = A_{61} + A_{62}$ ) between the inner sides of the two open apices, and  $L_6$  is the length of the second molar.

In order to take into account the effect of possible differences among X-rays in magnification and angulations, measurements were normalized by dividing by tooth length ( $L_i$ ,  $i = 1, \dots, 7$ ). Dental maturity was evaluated according to the normalized measurements of the seven left permanent mandibular teeth ( $x_i = A_i/L_i$ ,  $i = 1, \dots, 7$ ), the sum of normalized open apices ( $s$ ) and number (N0) of teeth with



complete root development. Lastly, age was calculated according to the formula (Cameriere *et al.*, 2007c):

$$\text{Age T} = 8.387 + 0.282 g - 1.692 x5 + 0.835 N0 - 0.116 s - 0.139 s \times N0$$

This is the European linear regression formula, also available as an MS Excel template at the website of the Istituto di Medicina Legale, Università degli Studi di Macerata (Italy), AgeEstimation project: <http://agestimation.unimc.it>.

When both areas of the teeth and hand-wrist bones were considered, age was estimated by the following linear regression formula (Cameriere and Ferrante, 2008):

$$\text{Age THW} = 4.619 + 0.401g + 0.551N0 - 0.647s + 7.163Bo/Ca - 0.123N0 s$$

where g is a variable with assigned value of 1 for boys and 0 for girls. All measurements were carried out by the same observer with ample experience of this technique. The intra-observer repeatability of this study was tested by re-examining 10% (N = 30) of OPGs and hand-wrist X-rays after an interval of 2 weeks.

### *Statistical analysis*

Each orthopantomogram and hand-wrist radiograph was labeled with a number to blind observers as to the name, sex, date of birth and date of the radiograph. Intra-observer reproducibility of measurements was studied by Pearson's correlation coefficient.

The accuracy of age estimation was defined as how closely chronological age could be predicted. In order to evaluate the accuracy of these age estimation methods, the mean difference between

estimated age and real age was calculated (MdE) as well as several other measures of accuracy (mean/median absolute difference). Absolute accuracy was determined separately by means of the absolute differences in real age – chronological age for girls and boys and age cohorts. The mean prediction error (MdE) is one of many ways to quantify the difference between an estimator and the true value of the quantity being estimated. It also represents the mean and median of the difference between chronological and dental ages,  $\delta$  (residual). The real age was subtracted from the estimated age. A positive result indicated an overestimation, and a negative one an underestimation.

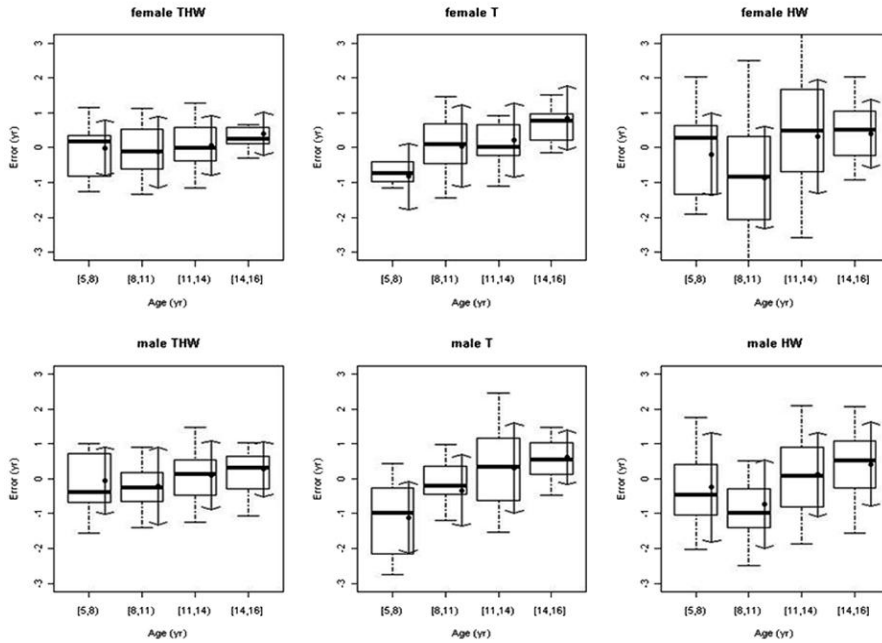
In order to detect differences of residuals in sex, the generalized Friedman rank sum test with replicated blocked data was applied.

To handle outliers and/or skewed distributions, differences between groups of individuals were analysed by the Kruskal-Wallis non-parametric statistical test (Olze *et al.*, 2004). Exact versions of the test were applied to handle major differences in sample sizes. Statistical analysis was carried out by R version 2.8. (R Development Core Team, 1998). The significance threshold was set at 5%.

## RESULTS

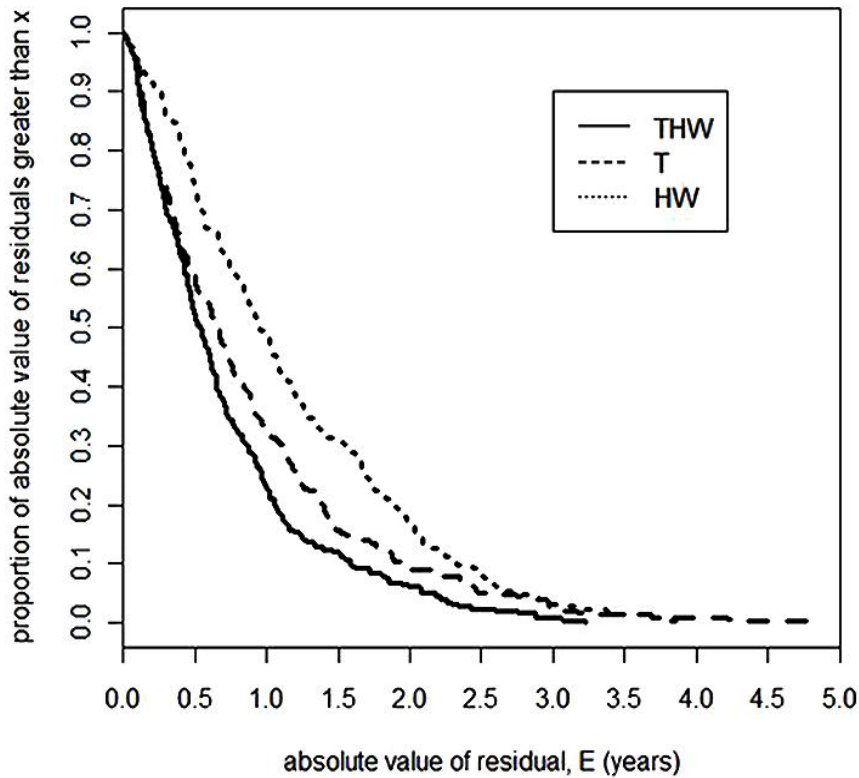
The age and sex distribution of the Italian individuals are listed in Table 1. There were no statistically significant intra-observer differences between the paired sets of measurements carried out on the re-examined panoramic and hand-wrist radiographs. The Friedman test showed that the residuals between boys and girls were not statistically significant ( $\delta= 0.3148$ ,  $df = 1$ ,  $p = 0.5748$ ).

The distribution of results into age cohorts for girls and boys separately are shown in Figure 4, illustrating median and inter-quartile ranges.



**Figure 4.** Boxplots of differences between real and estimated ages according to teeth (T), hand-wrist (HW) and both areas (THW) (upper panel; girls; lower panel; boys). Solid circles; means of error distributions, to 1 standard deviation (arrows).

Results comparing accuracy by all three methods for girls and boys are shown in Table 2. It is clear that younger individuals tend to show a negative difference and older individuals a positive one. The differences between real and estimated ages were evaluated for each method and for all ages. When predicted age was obtained only with teeth (T), it showed an underestimation with a median of residuals of 0.12 year (mean = 0.11 year); in younger individuals, for both sexes, predicted age tended to be underestimated and overestimated in older ones (Figure 5).



**Figure 5.** Proportion of absolute value of residuals greater than settled values, according to methods T, HW and THW.

This age trend matches numerous previous studies in which the reliability of Cameriere’s method was tested. In an Indian sample of children, this method (Cameriere *et al.*, 2006a) yielded a mean overestimation of 0.05 year for boys and 0.04 year for girls. This therefore led Rai *et al.* (2010) to propose a specific formula for the Indian population. In Peruvian school children, Cameriere *et al.* (2007d) showed more accurate estimates compared with Demirjian’s method (1973). The mean error in age estimation was 0.75 year for Cameriere’s method and 1.31 for Demirjian’s method. In the same study, data broken down into age cohorts showed that Cameriere’s method tended slightly to underestimate children’s chronological age,

whereas Demirjian's method overestimated it by more than one year, with higher variability of error. The accuracy of both methods was lower for the central age groups (11–13 years) and best for the oldest age group. In the study of El-Bakary *et al.* (2010), Cameriere's method (2006a) underestimated the mean age by 0.26 year for girls and 0.49 year for boys. Similarly, Cameriere's method underestimated the mean age in various European populations (Cameriere *et al.*, 2006c; Garn, 1967).

The hand-wrist bones method (HW) yielded an underestimation for boys by a median of residuals of - 0.10 year, with a residual standard error of 0.08 year. Only for boys at ages 11 and 16 was HW slightly overestimated. For girls aged between 8 and 11 years, the HW was found to be considerably underestimated. There was a clear age trend in differences between chronological and estimated ages with HW. Although differences were greater in the first age group than in the second, from this group onwards differences increased steadily. The previous study of Cameriere *et al.* (2006b) showed a median of the absolute values of residuals of 0.08 year, with an inter-quartile deviation of 1.59 year and a standard error of estimate of 1.19 years. In a sample of Slovenian children aged between 6 and 16 years, a new regression formula developed by Cameriere *et al.* (2007e) yielded the following results: the median of the absolute values of residuals (observed age minus predicted age) was 0.09 years, with an inter-quartile deviation of 0.79 year, and a standard error of estimate of 0.66 year.

Lastly, when the THW method was used, accuracy increased in all the age cohorts. When predicted age was obtained by a combined method (THW), involving both teeth and hand-wrist bones, the median

of residuals was 0.08 year, with a residual standard error of 0.06 year. In the work of Cameriere and Ferrante (2008), the median of the absolute values of residuals (observed age minus predicted age) was 0.465 year, with an inter-quartile range (IQR) of 0.529 year. The mean prediction error was 0.553 year and the standard error of estimate 0.73 year.

The absolute accuracy of the three methods, in the different age groups, is showed in the table 3. The absolute accuracy of estimated ages from the HW method turned out to be worse (MdE = 0.94 year) than that obtained from the method based on tooth development (T), which showed an MdE of 0.66 year. The THW method showed the lowest bias, with an MdE of 0.52 year (Table 2). This combined technique therefore yielded better results than those achieved from teeth or hand-wrist bones independently. The THW method yielded 51.9% of absolute residuals (differences between chronological and dental ages) greater than 0.50 year and only 22.7% of absolute residuals exceeded 1.00 year. Conversely, the percentage of absolute residuals was greater than 1.00 year and increased to 32.3% and 48.1% respectively, when the T and HW methods were employed separately (Figura 4).

The Kruskal-Wallis test showed that the residuals were not statistically different among age classes for either boys (Kruskal-Wallis  $\chi^2 = 5.9136$ ,  $df = 3$ ,  $p = 0.1159$ ) or girls (Kruskal-Wallis  $\chi^2 = 6.6802$ ,  $df = 3$ ,  $p\text{-value} = 0.08282$ ) groups.

## **DISCUSSION**

In the last few years, the cases of age estimation in the living children and adolescents have become more and more frequent (Cunha

*et al.*, 2009; Ritz-Timme *et al.*, 2000). The main issues of age estimation concern adoption and imputability (14, 16, 18, 21 years, depending on the country). For forensic purposes, age assessment plays an important judicial role due to the classification of a crime that may have been committed by a juvenile who is less than 14 years of age or who is between 14 and 18 years of age. This determines how they will be penalized, the place of reclusion, and restoration of rights. In addition, in cases of victimizers, these will be aggravated if the victims are less than 14 years of age.

With respect to the dead and the relative requirements for a biological profile, aging the living requires the use of non invasive methods and a higher accuracy and precision because of specific legal requests (Cunha *et al.*, 2009; Ritz-Timme *et al.*, 2000). In line with recommendations issued by the Study Group on Forensic Age Diagnostics, and with special attention to sensitive legal and ethical implications, a forensic age estimate should combine the results of a physical examination and anthropometrical analysis, sexual development assessment, the x-ray of the left hand, and a dental examination by orthopantomogram (Cunha *et al.*, 2009; Schmeling *et al.*, 2000). In addition, one particular issue which should be kept in mind for court purposes is whether an individual has reached a specific threshold. In fact, most of the used methods give standard errors or standard deviations: in the main cases the forensic response to the judge will be, for example, 13–14.5 years. This may put the judge in a “difficult” situation, in which it would be helpful to know the probability of that person actually having reached the threshold (e.g., 14 years). The explanation of the error is therefore crucial (Cunha *et al.*, 2009).

Due to the above reason, several methods for age estimation, in both forensic and clinical settings, have been developed (Olze *et al.*, 2004; Rai *et al.*, 2010; Sciulli, 2007; Speechly and Liversidge, 1997). However, since there are considerable variations in the rate of bone and tooth development among populations and among statistical procedures, caution must be exercised in interpreting the results of various age assessment methods (Büken *et al.*, 2009; Cunha *et al.*, 2009). The accuracy of age estimation indicates how well chronological age can be predicted and greater accuracy can be obtained by choosing the method which shows the least variability with age (Liversidge, 1994).

Hand-wrist bones and teeth are two of the most reliable parts of the body for age estimation in children (Büken *et al.*, 2009, Hägg and Taranger, 1980; Kock *et al.*, 2001; Lamons and Gray, 1958; Sierra, 1987). Certain skeletal developmental stages of the hand and wrist have been shown to be closely associated with the pubertal growth spurt, and hand radiographs have been used as an indirect method to assess the maturity stage (Chertkow and Fatti, 1979; Hägg and Taranger, 1980). In addition, the ease of recognition of dental development stages, together with the availability of peri-apical or orthopantomograms in most orthodontic or pediatric dental practices are useful reasons for attempting to assess the physiologic maturity of children and adolescents (Krailassiri *et al.*, 2002; Mappes *et al.*, 1992). Normally, the teeth and hand-wrist bones are evaluated separately, and only a few studies have analysed these regions together (Cameriere and Ferrante, 2008). Previous papers have reported the importance of using bones and teeth combined for age evaluation and have promoted many studies (Lacey *et al.*, 1973; Pfau and Sciulli, 1994; Sierra, 1987). In one of the



most recent studies, Cameriere and Ferrante (2008) used a combination of both teeth and hand-wrist bones for age estimation in children. The results obtained were interesting and highlighted better accuracy compared with results achieved with teeth or hand-wrist bones separately.

In the present study, a new Italian sample of 288 individuals was examined. Results indicated that, although the combined method slightly underestimates age, a combination of tooth development (T) and hand-wrist bones (HW) is useful as a maturity indicator of the pubertal growth period. These results match those of Cameriere and Ferrante (2008).

The previous finding that age in younger children can be more accurately predicted than in older ones was not observed in the present study. An age trend in differences between chronological and estimated ages in T, HW and THW was observed, particularly in boys and less so in girls (Figure 4). The origin of errors may be found in variations both between and within studied populations, in observer variations and in the methods employed. The precision is mainly related to factors influenced by chance, i.e., random errors (Pfau and Sciulli, 1994). Besides inherent methodological errors, the biological variation should also be considered (Harris and McKee, 1990).

As regards hand-wrist bones, variations in the appearance of the center of ossification at the wrist joint show the influences of race, climate, diet, and regional factors (Chen *et al.*, 2010; Cunha *et al.*, 2009; Olze *et al.*, 2004). As regards the T method, although regional differences in the timing of dental development have been recognized, their significance and cause are uncertain (Dünkel, 1997; Harris and McKee, 1990; Mappes *et al.*, 1992; Ochollo, 1990; Speechly and

Liversidge, 1997; Tompkins, 1996). Differences in the timing of developmental events between these studies may be marked, and non-biological factors (e.g., methodology, choice of morphological standard, differences in analytic approach, sample age distribution) have been identified as potential sources of variation (Pfau and Sciulli, 1994; Smith, 1991). In fact, although the quality of dental age assessments seems to depend predominantly on the use of specific geographic standards, other possible sources of variation are method of age calculation and age distribution of the sample (Braga *et al.*, 2005; Liversidge, 1994; Liversidge *et al.*, 2003). The underestimation for younger individuals and overestimation for older ones may be an artifact of the regression equations used in the original studies. It may be due to the relatively small sample used in this paper with respect to the larger sample used to obtain the regression formulae and, consequently, to low variability in terms of sequences and timing of dental mineralization within each category. A second plausible explanation is that individuals who mature early, or at an average rate, reach the various developmental stages earlier than those who mature late. Another possible bias in this analysis lies in the degree of resolution of the ortopantomograms. Although the radiographs for dental diagnosis were recent (2004-2008) and high resolution film was used, it was sometimes difficult to analyse many structures, such as poorly mineralized root apices or tooth crowns. In practice, crown apices and root growth fronts may be poorly mineralized, and radiographic observations will always underestimate their maturity (Beynon and Dean, 1991; Gleiser and Hunt, 1955). However, none of these factors can explain the poor accuracy for the older age groups,

and this is compounded by the very small sample size of children over 13 years of age.

Few works have been published on comparing accuracy of quantitative dental methods by measuring developing teeth. Some have small sample sizes or uneven age distributions, or present results in a way that makes comparison difficult. Liversidge *et al.* (1994) studied data from Maber *et al.* (2006) and investigated the absolute difference of various radiographic methods with the addition of several other methods in 145 Caucasian children aged between 8 and 13 years. Age was underestimated in boys and girls using all the methods. Accuracy was better for younger children compared with older ones, and decreased with age. The median of absolute accuracy for Willems' method for both sexes was 0.52 year, which is consistent with the results of the present work. Galić *et al.* (2010 a,b) compared the accuracy of Cameriere's European formula, and Willems' and Haavikko's methods on 1089 OPGs of Bosnian–Herzegovian children aged between 6 and 13 years. Cameriere's method turned out to be the most accurate for both sexes, followed by Haavikko's method; Willems' method was the least accurate. For girls, mean dental age was overestimated by 0.10 year according to Cameriere's method by a range of differences of – 0.80 to 0.60 year in all age groups. For boys, mean dental age was underestimated by – 0.02 according to Cameriere's method by the mean of differences of – 0.60 to 0.09 year for the 10-, 11-, 12- and 13-years-old groups, but was overestimated by the mean differences of 0.09 to 0.45 year for the age groups of children 6, 7, 8 and 9 years old. Staaf *et al.* (1991) compared three radiographic methods, including Haavikko's method on 541 Swedish children, and found that underestimation was 0.38 and 0.55 year for girls under and

over 10 years of age and 0.28 and 0.53 year for boys under and over 10 years of age.

## CONCLUSIONS

As regards the first aim of this study, these results highlight the great accuracy and significance of teeth and the hand-wrist bones as age indicators and, when the data enable it, the importance of using a combination of bones and teeth for more accurate estimation of age. The accuracy of age assessing for the Italian children was slightly better when the combined method was applied, rather than teeth and hand-wrist bones separately. It therefore seems reasonable to recommend the use of the combined method for these age groups (5-15 years), for both boys and girls.

On the other hand, the greater accuracy of the combined technique to study hand-wrist and teeth, can be applied in all cases of crimes involving children. In Europe, while nearly all countries have adopted an upper age of 18, remarkable differences still obtain on the minimum ages of criminal responsibility. A brief overview of the criminal responsibility and penalties across this continent allows to distinguish between worst offenders (notably the Anglophone countries) and those generally recognised as the most liberal, sometimes even referred to as ‘indulgent’ nations such as Finland and Italy. Italy adopted in 1988/89 a new legislation which sets the rules for penal procedures concerning children in conflict with the law, introducing very important changes within the Italian judiciary system (DPR 448/88). According to this organization, the minimum age of criminal responsibility is 14 years, and that of complete criminal responsibility is 18. Children of the age group between 14 and 18 can

be charged if they are capable of understanding and willing. When there is uncertainty over the age of the accused child, the judge will have to call for an expert's report. When the expert's report still leaves doubts, the age will have to be guessed. Children below the age of 14 having infringed the criminal law receive care and supervision by the social service of the local community (municipalities, provinces). If children cannot remain within their family environment, the juvenile court may order a placement in a foster family, a family-type community or in an institution, under the responsibility of the local social services (Cattaneo *et al.*, 2009). However, ascertainment of the minimum age is not only useful when an individual breaks the law, but also in all cases in which that individual is the victim, both in living and fresh cadavers. The combined technique can be applied in cases of child adoption, on which the difference in age between the child and the adoptive parents is important, or in the case of child pornography or child prostitution, also of children, but with very different sentences depending on the age of the minor. In the last few years, for example, websites with pedo-pornographic contents are increasing in number: between 2002 and 2004, an increase of 92.7% was pointed out by different institutions and non-profit associations in Italy (Cattaneo *et al.*, 2009). For this reason, more and more, judges, magistrates or the police call experts such as forensic pathologists, pediatricians or anthropologists in order to evaluate such material and verify with great precision the age of the possible victims and offenders.

Possible future developments must involve additional anthropometric measurements and statistic factors leading to better age estimation (Liversidge, 2008). It would be useful to check the precision and reliability of the combined method for age estimation in children of

other populations. Although tooth mineralization is largely independent of environmental, mechanical and nutritional factors, the growth rate of bones depends on genetic and environmental factors and may vary between sexes, between individuals of the same population, and between the populations themselves (Liversidge, 2008; Schour and Massler, 1940). In addition, new studies are needed in order to verify whether the regional background, sex, chronological age distribution of the sample, and statistical procedure represent major factors controlling accuracy and reliability in subadult age assessment.

**ANEXOS 1**  
**TABLAS**

**Table 1.** Age and sex distribution of the Italian sample.

<b>Age (years)</b>	<b>Girls</b>	<b>Boys</b>	<b>Total</b>
5	4	6	10
6	8	5	13
7	7	6	13
8	13	12	25
9	14	12	26
10	24	14	38
11	17	20	37
12	14	12	26
13	15	24	39
14	14	27	41
15	9	14	20
<b>Total</b>	136	152	288



**Table 2.** Median of residuals (years), inter-quartile range (IQR), mean and standard error (SE) of the differences between the chronological and dental ages for each method tested, for children aged 5-15 years. The last two columns contain the mean prediction error (MdE) and its inter-quartile range.

Method	Sex	N	Summary statistics for $\delta$				MdE	IQR
			Median	IQR	Mean	SE		
<b>HW</b>								
	Girls	136	-0.024	2.106	-0.135	0.130	1.00	1.41
	Boys	152	-0.130	1.879	-0.052	0.107	0.92	1.08
	Both	291	-0.096	1.936	-0.092	0.084	0.94	1.22
<b>T</b>								
	Girls	136	0.092	1.081	0.150	0.103	0.62	0.80
	Boys	152	0.120	1.318	0.073	0.097	0.71	0.92
	Both	291	0.117	1.208	0.110	0.070	0.66	0.91
<b>HW+T</b>								
	Girls	136	0.098	1.044	0.074	0.079	0.41	0.75
	Boys	152	-0.037	1.088	0.057	0.079	0.54	0.66
	Both	291	0.082	1.063	0.065	0.056	0.52	0.71

**Table 3.** Absolute accuracy of the three methods by sex and age cohorts.

Age	THW		T		HW	
	Boys	Girls	Boys	Girls	Boys	Girls
5-8	0.51	0.36	0.69	0.65	0.91	0.99
8-11	0.63	0.39	0.73	0.6	0.98	0.95
11-14	0.53	0.47	0.75	0.63	0.88	0.99
14-16	0.49	0.43	0.68	0.61	0.91	1.2





## **CAPÍTULO 6**



**SEX ASSESSMENT FROM THE CARPAL BONES: DISCRIMINANT FUNCTION ANALYSIS IN A 20<sup>TH</sup>-CENTURY SPANISH SAMPLE.**

**BASADO EN:**

**Mastrangelo P.<sup>1</sup>, De Luca S.<sup>1</sup>, Alemán I.<sup>1</sup>, Botella M.C.<sup>1</sup>** 2010. Sex assessment from the carpal bones: discriminant function analysis in a 20<sup>th</sup> century Spanish sample. *Forensic Science International*; 206: 216e1-216e10.

1. Laboratory of Anthropology, Faculty of Medicine, University of Granada, Granada, Spain.

**KEYWORDS:** FORENSIC ANTHROPOLOGY, SEX ASSESSMENT, CARPALS BONES, DISCRIMINANT FUNCTIONS, SPANISH POPULATION.

## INTRODUCTION

Correct sex identification of the human skeleton is an important factor in both forensic practice and bio-archeological and palaeodemographic research (Byers, 2002). In forensic context, the assessment of sex can substantially narrow the biological profile for unidentified remains. Indeed, in most cases, clarification of the events and later juridical decisions will depend on the precision and the reliability of identification procedures (Barrio *et al.*, 2005). In bio-archaeological studies, sex assessment considerably influences our interpretation of most biological and cultural factors in past populations, burial practices, palaeobiology and palaeodemography (Murail *et al.*, 1999; Rösing *et al.*, 2007).

The success of assessing sex in skeletal remains depends on the completeness and expression of sexual dimorphism in the recovered structures (Bass, 1987; Gapert *et al.*, 2009). Although only two biological sexes exist in humans, it is a very complex task to diagnose the sex of a human skeleton from morphological features (Işcan, 2005; Lazenby, 1994, 2002). This is due, firstly, to the fact that sex-related differences between skeletons are only tertiary, and secondly to the fact that there is a large overlap between the sexes in the distribution of most features; so that in the middle of the overall range no sexual distinction can be made (Rösing *et al.*, 2007). In addition, both general robusticity/gracility and the sexual dimorphism depend on the particular regional population (Alemán, 1997; Alemán *et al.*, 1999; Allen *et al.*, 1987; Alonso, 1969; Murail *et al.*, 1999).

Most researchers agree that sex diagnosis of adult skeletons can be performed easily and with high accuracy (Mays, 1998; Ubelaker *et al.*, 2002). However, the overall reliability depends on the method and

on the skeletal data taken into account. If almost all the bones composing the skeleton are present, sex assessment is not difficult. When the skeleton exists completely, sex can be assessed with nearly 100% accuracy. This estimation rate is 98% for pelvis and cranium, 95% with only pelvis or pelvis and long bones, and 80–90% with only long bones (Krogman and Işcan, 1986).

Nevertheless, fragmentary human remains compromised by different types of inhumation, or physical insults such as explosions, fires, and mutilations may hamper the use of traditional morphognostic sex assessment methods, such as the analysis of the skull and pelvis (Cowal and Pastor, 2008; Kelley, 1979; Saunders and Yang, 1999). It is therefore important to develop methods for fragmented and incomplete material.

New techniques based on discriminant function analysis and mathematical models of sexually dimorphic bone traits have recently been proposed to obviate this limitation (Alemám *et al.*, 1999; Alonso, 1969; Calcagno, 1981; Kemkes-Grotthenthaler, 2005; Mall *et al.*, 2000; Singh *et al.*, 1974). Walker (2008), in his study about sex estimation by visual assessment of cranial traits, noted that not only is collecting osteometric data time consuming, but also it often requires expensive, specialized anthropometric equipment. However, these metrical methods and statistical procedures using quantitative analysis are more objective and repeatable than the morphologic methods and can be performed even on fragmentary skeletal remains (Alemán, 1997; Alemám *et al.*, 1999; Dibennardo and Taylor, 1983; Gapert *et al.*, 2009; Gualdi-Russo, 2007). Although the practical utility of discrete traits of the skull, os coxae, mandible, etc., is unquestionable, the main advantage of discriminant function analysis is that it reduces subjective



judgment as well as the level of expertise and experience needed for the assessment of sex (Barrio *et al.*, 2005; Bidmos and Dayal, 2003; Dittrick and Suchey, 1986). Unfortunately, technical application would be limited to the specific population from which the bone remains were obtained. This methodical limitation of the mathematical functions is related to the variability of a population with respect to body size and it is therefore crucial to have functions for each bone of the skeleton in different human populations (Alemán, 1997; Alemán *et al.*, 1999; Bass, 1987; Krogman, 1946; Trancho *et al.*, 2006).

In the last few years, the literature has showed that sexual dimorphism is really present in the foot and hand bones (Falsetti, 1995; Saunders and Yang, 1999; Wilbur, 1998). Many studies have addressed the use of metacarpals (Bass, 1987; Falsetti, 1995; Lazenby, 1994; Scheuer and Elkington, 1993; Smith, 1996; Stojanowski, 1999), metatarsals (Robling and Ubelaker, 1997; Smith, 1997) and tarsals (Bidmos and Dayal, 2003; Bidmos and Asala, 2004; Introna *et al.*, 1997; Steele, 1976; Wilbur, 1998) in sex assessment of adult human skeletal remains. Owing to the high incidence of recovery of these compact bones in both forensic and archaeological contexts, Sulzmann *et al.* (2008) investigated and identified the potential of using carpal bones for sex assessment. They were the first researchers to devise a metrical method of assessing sex from the complete carpal bones. However, the technique has never been validated for accuracy or to determine its applicability to other populations.

The main aim of this study is to develop new discriminant functions for assessing sex from measurements of carpal bones in a Mediterranean sample. For this purpose, a 20<sup>th</sup> century Spanish skeletal

collection, with known sex and age, was analyzed in order to establish population-specific discriminant functions.

## **MATERIALS AND METHODS**

### *Sample*

The skeletal remains of this work were selected from the identified collection housed in the Laboratory of Anthropology, Faculty of Medicine, University of Granada (Spain). A total of 100 individuals (50 males and 50 females) was analyzed; they belong to a 20<sup>th</sup> century Spanish population of known sex and age, aged between 22 and 85 years, and with no pathological or traumatic lesions affecting the carpals bones. Damaged specimens were excluded. They represent the remains of Spanish persons died between 1962 and 1976, and interred in the Municipal Cemetery of “San José”, Granada (Spain). The age at death, sex and provenience of these individuals were well documented by the cemetery archives. The condition of the bone remains was excellent (Mastrangelo, 2008).

### *Data measurements*

Following Martin and Saller (1959) and Sulzmann *et al.* (2008), between four and nine measurements, depending on the morphology of the eight carpal bones, were performed (Table 1). The morphological localization is indicated visually in Figures 1-8. The measurements were formulated not only to be easy to use and replicable, but also to include measurements that can be taken even if the carpal is damaged. For each carpal bone a technical data with all the studied measurements was generated. All measurements were taken on bones from the right and left side, whenever possible. For the metric analysis, only adults

without evident pathological lesions such as fracture, osteoarthritis, or *perimortem* traumatic alterations were chosen. Carpal dimensions were measured with a sliding caliper Mitutoyo Digimatic w/Absolute Encoders - Series 500, according to standard measuring techniques and approximated to the nearest 0.1 mm. All measurements were performed by the same author with ample experience of this technique.

### *Statistical analysis*

Statistical analysis were undertaken using SPSS version 15 for Windows (V.V.AA., 2005). The usefulness of discriminant functions largely depends on the normality of the data distribution and the equality of the covariance matrices. Normality of the sample was tested using non-parametric Kolmogorov-Smirnov test which is used to decide if a sample comes from a population with a specific distribution. Each measurement was also taken a second time by the author in order to investigate intra-observer error.

The sample was divided in two subgroups according to the sex of the individuals and the laterality. Descriptive statistics, including the maximum and minimum value, the mean and standard deviations, were obtained for each measurement of the study. It was made in order to detect errors in data recollecting and for characterizing the sample.

After having verified the normality in the sample distribution, a paired t-test for independent samples was used to establish the existence and direction of any side asymmetry of the carpal measurements and between the males and females values (Lazenby, 1994). The means were evaluated with  $p \leq 0.05$ . Following this, stepwise discriminant function analysis was performed. Stepwise discriminant analysis, using the Mahalanobis' distance criterion for

variable selection, was used to indicate the most powerful discriminating variables for distinguishing sex.

The first stepwise discriminant functions were produced for all the measurements taken for each of the carpals. In addition, discriminant functions were created for the most statistically significant variables of each carpal bone. These could be used for incomplete or fragmentary bones in which all parameters are not measurable.

In order to select the variables, the stepwise method was utilized. For the discriminant function procedures the minimum probability of F-to-enter was set at 3.84 ( $p \leq 0.05$ ), while the maximum probability of F-to-remove was set at 2.71 ( $p \leq 0.10$ ), allowing the functions to be simplified by reducing the number of variables. These are the parameters of selection yielded by SPSS.

## **RESULTS**

The Kolmogorov-Smirnov test indicated a normal distribution of the sample ( $P > 0.05$ ). Paired t-tests revealed that intra-observer variation was low ( $P > 0.05$  in all cases).

The sample was then analyzed for side asymmetry between left and right carpals using a paired t-test. The laterality analysis pointed to a lack of asymmetry in the series studied (Table 2). This suggests a reduced and not very significant effect of the theoretical functional laterality at least in this Spanish sample (Lazenby, 1994, 2002). Sulzmann *et al.* (2008) reported side asymmetry in both male and female samples. In the male sample only the scaphoid showed no side asymmetry. In their study about metacarpal sexual assessment in a Spanish sample from Madrid, Barrio *et al.* (2006) showed that the

laterality analysis only revealed a reduced number of asymmetrical differences, especially in the male series.

Descriptive statistics with means, standard deviations and univariate  $F$ -ratios are given in Table 3. As expected, all dimensions were statistically significantly larger in males than in females. On the basis of these results, it was evident the usefulness of carpal bones in evaluating differences between the sexes. Once this difference was established, a discriminant function was done. On the basis of the results of their study, Sulzmann *et al.* (2008) had to eliminate several measurements from the rest of the analysis in which pisiform showed the least sexual dimorphism.

Univariate discriminant function analysis produced one function and a demarking point for each variable. These functions can then be used on very fragmented carpal bones remains where few variables can be observed and included in the formulae. The percentage of correctly classified individuals in the Spanish sample is quite high, with great accuracy in both sexes. Taking into account only a variable for each carpal bone, classification accuracy ranged from 67.9% and 97.8%. The measurements with classification accuracy degrees of 80% or above are 37 of 51. The height of triquetral facet of the lunate was the most sexually dimorphic variable with an accuracy of 97.8%. Sulzmann *et al.* (2008) reported that the left hamate measurement (b) is the most sexually dimorphic with a classification accuracy of 84.7%. Classification accuracies ranged between 80.4% and 98.9% in the multivariate stepwise discriminant analysis. The maximum width, the maximum width of triquetral facet and the height of triquetral facet of the lunate showed an accuracy of 98.9%. In the study of Sulzmann *et al.* (2008), classification accuracies ranged from 73.2% to 87.8% for

the left carpal variables and only left lunate measurement and triquetral measurement were chosen by stepwise analysis, yielding 87.9% accuracy. Classification accuracies ranged from 71.7% to 88.6% for single right carpal variables and only triquetral measurement was chosen by stepwise, producing an accuracy of 79.5%.

Table 4 provides unstandardized coefficients, constants, demarking points (average of the two centroids when sample sizes are not equal) and accuracy of each discriminant function score. In order to determine the sex of an individual, the discriminant score is calculated by multiplying each dimension by its raw (unstandardized) coefficient. These are added along with the constant. A score greater than the demarking point indicates male, and smaller female (according to the centroid values). If, for example, a Spanish individual had a maximum width of the dorsal horn of the lunate (MWDH) of 12.21 mm, and a maximum width of the triquetral facet of the same bone (MWTF) of 9.00 mm, the discriminant score (y) is calculated as follows (Table 5):

$$y = (12.21 \times 0.332) + (9.00 \times 0.459) + (-12.515)$$

In this case, a y-value greater than the sectioning point of -0.191 (Table 5) indicates a male, while a smaller value indicates a female. The result, -4.33028, is below the demarking point, indicating a female individual with an accuracy degree of 98.9%. Obviously, a value closer to the demarking point would be less reliable, while a value further from the sectioning point would be more reliable (Işcan *et al.*, 1994).

## DISCUSSION

In forensic and archaeological contexts, human skeletal remains, mainly skulls and pelvis, are frequently fragmented and incomplete. Because of this limitation, the diagnosis of sex must be therefore made with different methods applicable to various parts of the skeleton. The use of discriminant functions to sex unidentified skeletal remains is now a common practice. In fact, since the development of the discriminant function statistic by Fischer (1940), physical anthropologists have found it to be an effective quantitative to sex assessment.

Skeletal biologists have also demonstrated that each population group needs its own specific standards for osteologic assessment of demographic characteristics such as sex. Several factors, such as the differences in nutrition, disease, extreme division of labor, socioeconomic status and technology or population mobility, may alter sexual dimorphism as well (Burns, 2007; Steyn and Işcan, 1999). Each population group requires therefore its own specific standards for accurate assessment of sex (Işcan *et al.*, 2005; Šlaus and Tomičić, 2005; Smith, 1996, 1997).

Previous researchers (Sulzmann *et al.*, 2008) have shown that anthropometric measurements of the carpal bones allow reasonably accurate sexing when these data are analyzed with discriminant functions. In this study, the carpal region of a Spanish 20<sup>th</sup> century Granada cemetery sample was examined for sex differences by using manual osteometry and statistical procedures. The results of this study indicate that carpals bones are useful bones for sex assessment in a Spanish population. This is thus the consequence of the differences in body size between both males and females.

The results of the laterality analysis point to the lack of a differential development between the right and the left sides. Due to the greater physical right-handed activity, even before birth, it would seem logical to assume the existence of a preferential morphological development for this hand in humans. In their study of bilateral asymmetry in bone measurements of the hand, Plato *et al.* (1980) demonstrated that as a rule the right hand measurements are always inherently larger than those of the left hand, regardless of hand dominance. Sulzmann *et al.* (2008) corroborated, in their study of sexual dimorphism in carpal bones, the general observations that right hand dominance is the norm for human populations, and that with greater functional loading on the dominant hand, larger bones are produced. However, the results obtained in this Spanish sample are not consistent with the expected behavior. The almost complete absence of asymmetry in the carpal bones of this sample allows to consider the assumption of a physical activity in which the use of both hands prevents the development of asymmetrical differences. It seems legitimate to suppose that the usual activity of these subjects would have required regular use of both hands.

The discriminant function analysis confirmed the results of previous statistical comparison by sexes (Sulzmann *et al.*, 2008). Male carpal bones have larger dimensions than females ones, in particular if articular regions and maximum length are considered. The measurements with classification accuracy degrees of 80% or above are 37 of 51. Unlike previous studies (Sulzmann *et al.*, 2008), in which several measurements were excluded from the rest of the study because eight left measurements and 20 right measurements were not significantly different, all dimensions are statistically significantly



larger in males than in females and the lunate is the most dimorphic variable with a classification accuracy of 97.8%. Sulzmann *et al.* (2008) reported a great accuracy (84.7%) of the left hamate measurements.

This is probably due to the fact that these bones play a very significant part in the biomechanics of the wrist (Bonjean *et al.*, 1981; Coburn *et al.*, 2007; Compson *et al.*, 1994; Dyankova, 2007; Feipel *et al.*, 1998; Gupta and Al-Moosawi, 2008; Le Minor and Rapp, 1956; Levinsohn, 1990). According to the column theories of Navarro (1929) and Taleisnik (1976), who modified previous study, the carpus is made up of three columns: the central, the lateral and the medial columns. The central column consists of the lunate, capitates and hamate; the lateral column the scaphoid; and the medial column the triquetral and pisiform. Both researchers believed that the central column manage wrist movements on the control of precision grip and wrist flexion and extension, with radial and ulnar inclination occurring by rotation of the scaphoid and triquetral about the central axis. The proximal row, which includes lunate, functions as a variable geometry intercalated segment between the distal row and the radius-triangular fibrocartilage. The distal row (trapezoid, capitate, and hamate) moves as a unit with very little intracarpal motion. The proximal row also moves as a unit, although motion between the scaphoid-lunate and lunate-triquetrum occurs with all wrist movement. These findings indicate that carpal bone motions are interdependent on each other, with the bones of the proximal carpal row having more individual rotation than those of the distal carpal row (Ruby *et al.*, 1988).

## CONCLUSIONS

The assessment of sex using discriminant function analysis is crucial in disasters and forensic cases, and other circumstances in which other anatomical regions typically used to determine sex are either not presented or not adequately preserved (Allen *et al.*, 1987; Holman and Bennet, 1991) Recent work (Sulzmann *et al.*, 2008) has explored sexual dimorphism in the carpal bones as a possible method for sex assessment of partial or fragmentary human remains. The analysis of the expression of sexual dimorphism as well as the development of sex determinant functions using carpal variables from this 20<sup>th</sup> century Spanish sample contributes to the existing literature concerning sexual dimorphism of the carpal bones in other populations. All the eight carpals measured in this investigation proved to be sexually dimorphic to various degrees. Univariate discriminant functions produced demarking points that predicted sex with accuracy levels between 67.9 and 97.8%. Classification accuracies ranged between 80.4% and 98.9% in the multivariate stepwise discriminant analysis. Results from this study indicate that while the method provides good accuracies and a quick and easy manner of assessing sex, care should be taken when applying it to populations of different origin (Alemán, 1997; Alemán *et al.*, 1999; Barrio *et al.*, 2005).

The method can also reveal, according to body preservation, its usefulness in both bio-archeological and forensic anthropological settings, suggesting the use of these discriminant functions also for paleodemographic studies. In archeological contexts, it is relatively common to find carpal bones in good states of preservation. Central to palaeodemography is the generation and interpretation of skeletal sex and age distributions, as this information offers key insights into the

demographic composition of a particular population and possible differential mortality based on sex and age. Reconstruction of mortality patterns is essential for understanding of the conditions in which human populations lived in historic ecosystems (Wittwer-Backofen *et al.*, 2008).

Future research should aim at acquiring even larger sample sizes from other populations in order to determine new discriminant functions of the carpal bones and at testing the technique in many archaeological samples for which the influence of taphonomic factors and pathologies, such as arthritis and fractures, may be much more significant (Lindgren, 1949).

# **ANEXOS 1**

## **TABLAS**

**Table 1.** Variables used in this study.

<b>Carpal Bone</b>	<b>Variable</b>	<b>Denomination</b>
LUNATE	ML	Maximum length
	MW	Maximum width
	MWDH	Maximum width of the dorsal horn
	MWTF	Maximum width of triquetral facet
	HTF	Height of triquetral facet
SCAPHOID	ML	Maximum length
	MW	Maximum width
	MLRF	Maximum length of radius facet
	MLST	Maximum length of scaphoid tubercle
	MLCF	Maximum length of capitate facet
	MWCF	Maximum width of capitate facet
TRIQUETRAL	ML	Maximum length
	MH	Maximum height
	MW	Maximum width
	MLLF	Maximum width
	MWLF	Maximum width of lunate facet
	MLPF	Maximum length of pisiform facet
	MWPF	Maximum width of pisiform facet
	MHHF	Maximum height of hamate facet
MWHF	Maximum width of hamate facet	
CAPITATE	MH	Maximum height
	MIWH	Minimum width of head
	MAWH	Maximum width of head
	MLDB	Maximum length of distal base
	MWDB	Maximum width of distal base
	LT	Length of tuberosity
HAMATE	MH	Maximum height
	MW	Maximum width
	HB	Height of the body
	MWH	Maximum width of the hamulus
	MWDF	Maximum width of the distal facets
	HM(V)F	Height of metacarpal V facet
	HM(IV)F	Height of metacarpal IV facet

**Table 1. (continued)**

PISIFORM	MH	Maximum height
	MW	Maximum width
	HTF	Height of triquetral facet
	WTF	Width of triquetral facet
TRAPEZIUM	ML	Maximum length
	MH	Maximum Height
	MLM(I)F	Maximum length of metacarpal I facet
	MWM(I)F	Maximum width of metacarpal I facet
	MLTF	Maximum length of trapezoid facet
	MLTSF	Maximum length of trapezoid and scaphoid facets
	WSF	Width of scaphoid facet
TRAPEZOID	MH	Maximum height
	LDF	Length of dorsal surface
	LPAS	Length of palmar surface
	WDF	Width of the dorsal surface
	MW	Mid width
	MLTF	Maximum length of trapezium facet
	MWTF	Maximum width of trapezium facet

**Table 2.** Descriptive statistics and independent t-test for left and right side samples, including significance levels.

Measurements	Left				Right				F	Sig.
	N	Means	SD	Error	N	Means	SD	Error		
<b>SCAPHOID</b>										
ML	46	25.14	2.43	0.35	43	25.84	2.50	0.38	0.08	0.183
MW	40	14.20	1.49	0.23	42	14.53	1.17	0.18	1.46	0.262
MLRF	46	16.74	1.89	0.27	40	16.98	2.02	0.31	0.55	0.568
MLST	45	15.15	2.27	0.33	41	15.57	2.10	0.32	0.01	0.383
MLCF	47	13.70	1.40	0.20	44	14.02	1.29	0.19	0.03	0.253
MWCF	45	11.37	1.12	0.16	39	11.58	1.17	0.18	0.05	0.403
<b>CAPITATE</b>										
MH	48	25.08	2.06	0.29	46	25.49	2.12	0.31	0.06	0.345
MIWH	52	11.13	1.34	0.18	48	11.23	1.02	0.14	0.49	0.684
MAWH	50	13.36	1.40	0.19	47	13.75	1.24	0.18	0.15	0.157
MLDB	30	1.706	1.69	0.30	28	17.54	1.93	0.36	0.20	0.319
MWDB	43	10.88	1.12	0.17	41	11.26	1.19	0.18	0.35	0.141
LT	52	14.29	1.32	0.18	50	14.62	1.40	0.19	0.51	0.223
<b>HAMATE</b>										
MH	49	22.31	2.00	0.28	51	22.44	1.74	0.24	0.98	0.728
MW	46	19.78	2.16	0.31	52	20.27	1.91	0.26	0.17	0.237
HB	49	10.03	1.36	0.19	49	10.27	1.24	0.17	0.54	0.362
MWH	34	14.43	1.15	0.19	39	15.18	1.21	0.19	0.28	0.458
MWDF	24	10.05	1.03	0.21	19	10.02	1.03	0.23	0.07	0.940
HM(V)F	27	10.71	1.03	0.20	23	10.95	1.01	0.21	0.00	0.427
HM(IV)F	48	12.61	1.07	0.15	50	12.89	1.10	0.15	0.62	0.196
<b>LUNATE</b>										
ML	47	16.10	1.44	0.21	44	16.54	1.77	0.26	2.55	0.193
MW	47	16.37	1.28	0.18	44	16.64	1.66	0.25	3.72	0.396
MWDH	47	11.01	1.60	0.23	44	11.08	1.50	0.22	0.74	0.838
MWTF	47	8.05	1.69	0.24	43	8.28	1.65	0.25	0.14	0.51
HTF	46	8.08	1.58	0.23	43	8.29	1.61	0.24	0.02	0.539
<b>TRIQUETRAL</b>										
ML	37	17.82	1.43	0.23	38	18.25	1.60	0.26	0.20	0.223
MH	38	15.38	1.21	0.19	37	15.51	1.19	0.19	0.04	0.637
MW	38	13.41	1.30	0.21	39	13.75	1.37	0.21	0.03	0.271
MLLF	39	8.83	1.67	0.26	39	8.87	1.68	0.27	0.22	0.916
MWLF	39	7.54	1.46	0.23	39	7.68	1.49	0.23	0.05	0.678
MLPF	38	12.93	1.66	0.27	38	13.45	1.55	0.25	0.17	0.165
MWPF	37	9.86	1.74	0.28	39	9.84	1.76	0.28	0.00	0.976
MHHF	36	8.88	1.53	0.26	37	8.53	1.40	0.23	0.763	0.306
MWHF	35	8.07	1.48	0.25	36	8.21	1.24	0.20	2.165	0.68
<b>PISIFORM</b>										
MH	19	13.85	2.32	0.53	34	13.87	2.02	0.34	0.21	0.98
MW	18	9.34	1.26	0.30	34	9.37	1.24	0.21	0.15	0.934
HTF	18	7.32	1.19	0.28	33	7.50	1.15	0.20	0.03	0.598
WTF	19	8.72	1.54	0.35	33	8.95	1.56	0.27	0.75	0.601
<b>TRAPEZIUM</b>										
ML	39	22.96	2.23	0.35	38	23.12	2.15	0.35	0.08	0.75
MH	36	17.18	1.64	0.27	36	17.40	1.78	0.29	0.20	0.582
MLM(I)F	34	13.99	2.00	0.34	35	14.03	2.04	0.34	0.24	0.934
MWM(I)F	35	9.77	1.55	0.26	36	9.73	1.43	0.23	0.01	0.908
MLTF	42	12.36	1.75	0.27	41	12.01	1.76	0.27	0.20	0.367
MLTSF	42	17.44	2.10	0.32	41	17.34	1.97	0.30	0.30	0.836
WSF	42	8.20	1.35	0.20	41	8.40	1.19	0.18	1.89	0.467
<b>TRAPEZOID</b>										
MH	45	18.45	1.48	0.22	38	18.88	1.56	0.25	0.62	0.205
LDF	45	8.80	1.25	0.18	38	8.97	1.11	0.18	0.33	0.508
LPAS	44	15.76	1.73	0.26	37	15.99	1.43	0.23	2.46	0.525
WDF	45	10.96	1.20	0.18	38	10.78	1.18	0.19	0.04	0.493
MW	44	8.92	1.36	0.20	37	9.25	1.23	0.20	0.06	0.264
MLTF	43	14.17	1.39	0.21	36	14.66	1.34	0.22	0.19	0.114
MWTF	43	8.60	1.06	0.16	36	8.96	1.15	0.19	0.35	0.157

**Table 3.** Descriptive statistics and independent t-test for male and female samples, including significance levels.

Measurements	Males				Females				F	Sig.
	N	Means	SD	Error	N	Means	SD	Error		
<b>SCAPHOID</b>										
ML	50	27.05	1.91	0.27	39	23.46	1.44	0.23	4.27	0.000
MW	47	15.10	1.15	0.16	35	13.39	0.86	0.14	4.91	0.000
MLRF	47	18.10	1.48	0.21	39	15.29	1.10	0.17	2.85	0.000
MLST	49	16.53	2.03	0.29	37	13.79	1.18	0.19	1.60	0.000
MLCF	51	14.44	1.32	0.18	40	13.11	0.98	0.15	1.85	0.000
MWCF	47	11.97	1.17	0.17	37	10.83	0.72	0.11	6.86	0.000
<b>CAPITATE</b>										
MH	50	26.82	1.39	0.19	44	23.53	1.17	0.17	0.51	0.000
MIWH	42	11.84	1.21	0.16	48	10.46	0.63	0.09	5.77	0.000
MAWH	52	14.30	1.25	0.17	45	12.68	0.78	0.11	6.94	0.000
MLDB	29	18.53	1.59	0.29	29	16.06	1.00	0.18	2.62	0.000
MWDB	43	11.63	1.05	0.16	41	10.47	0.98	0.15	0.71	0.000
LT	53	15.27	1.26	0.17	49	13.57	0.80	0.11	12.66	0.000
<b>HAMATE</b>										
MH	57	23.34	1.49	0.19	43	21.09	1.51	0.23	0.20	0.000
MW	57	20.92	1.89	0.25	41	18.82	1.56	0.24	0.36	0.000
HB	56	10.60	1.21	0.16	42	9.56	1.19	0.18	0.27	0.000
MWH	38	15.44	1.13	0.18	35	14.17	0.99	0.16	2.91	0.000
MWDF	22	10.66	0.95	0.20	21	9.38	0.60	0.13	4.28	0.000
HM(V)F	30	11.43	0.77	0.14	20	9.90	0.55	0.12	2.40	0.000
HM(IV)F	57	13.39	0.83	0.11	41	11.87	0.74	0.11	0.17	0.000
<b>LUNATE</b>										
ML	51	17.29	1.35	0.18	40	15.07	0.93	0.14	7.26	0.000
MW	51	17.47	1.12	0.16	40	15.27	0.73	0.11	8.69	0.000
MWDH	51	17.47	1.16	0.16	40	9.69	0.69	0.11	8.10	0.000
MWTF	50	9.410	1.03	0.15	40	6.61	0.74	0.11	2.17	0.000
HTF	49	9.39	0.94	0.13	40	6.70	0.74	0.11	0.04	0.000
<b>TRIQUETRAL</b>										
ML	43	18.88	1.31	0.19	32	16.91	1.00	0.17	1.73	0.000
MH	45	16.05	0.98	0.14	30	14.54	0.88	0.16	0.54	0.000
MW	45	14.27	1.18	0.17	32	12.61	0.86	0.15	1.46	0.000
MLLF	45	99.58	1.16	0.17	33	7.35	0.89	0.15	0.56	0.000
MWLF	45	8.56	1.08	0.16	33	6.31	0.77	0.13	2.86	0.000
MLPF	45	14.1	1.38	0.20	31	11.88	0.88	0.15	0.90	0.000
MWPF	44	11.09	1.23	0.18	32	8.26	0.86	0.15	2.15	0.000
MHHF	46	9.55	0.99	0.14	27	7.25	0.91	0.17	1.16	0.000
MWHF	46	8.94	0.85	0.12	25	6.67	0.74	0.15	0.20	0.000
<b>PISIFORM</b>										
MH	34	14.56	2.18	0.37	19	12.62	1.26	0.29	4.61	0.000
MW	33	9.85	1.10	0.19	19	8.51	0.98	0.22	0.16	0.000
HTF	31	8.06	0.92	0.16	20	6.47	0.77	0.17	0.40	0.000
WTF	32	9.72	1.32	0.23	20	7.50	0.64	0.14	7.04	0.000
<b>TRAPEZIUM</b>										
ML	52	24.06	1.71	0.23	25	20.93	1.40	0.28	0.47	0.000
MH	52	17.80	1.42	0.20	20	15.95	1.66	0.37	0.29	0.000
MLM(I)F	48	15.12	1.04	0.15	21	11.48	1.19	0.26	0.44	0.000
MWM(I)F	50	10.50	0.97	0.13	21	7.98	0.85	0.18	0.04	0.000
MLTF	55	13.07	1.31	0.17	28	10.44	1.07	0.20	0.89	0.000
MLTSF	55	18.49	1.45	0.19	28	15.23	1.00	0.18	6.26	0.000
WSF	55	8.99	0.85	0.11	28	6.94	0.71	0.14	0.25	0.000
<b>TRAPEZOID</b>										
MH	50	19.53	1.09	0.15	33	17.31	1.05	0.18	0.12	0.000
LDF	50	9.46	0.87	0.12	33	8.00	1.07	0.18	1.24	0.000
LPAS	50	16.66	1.31	0.18	31	14.58	1.10	0.19	1.11	0.000
WDF	50	11.55	0.96	0.13	33	9.88	0.69	0.12	2.91	0.000
MW	50	9.58	1.24	0.17	31	8.24	0.93	0.16	1.52	0.000
MLTF	48	15.14	1.17	0.17	31	13.24	0.72	0.12	5.57	0.000
MWTF	48	9.32	0.96	0.13	31	7.92	0.74	0.13	1.62	0.000



**Table 4.** Univariate stepwise discriminant functions with single measurement and demarking points for those variables that produced accuracy levels of 80% or above.

Variable	Measurement	Unstandardized Coefficient	Constant	Demarking Point (mm)	Accuracy %
LUNATE	ML	0.844	-13.771	p = -0.1135	83.5
LUNATE	MW	1.002	-16.543	p = -0.133	90.1
LUNATE	MWDH	1.021	-11.285	p = -0.1495	95.6
LUNATE	MWTF	1.093	-8.924	p = -0.17	96.7
LUNATE	HTF	1.161	-9.501	p = -0.158	97.8
SCAPHOID	ML	0.581	-14.775	p = -0.129	82
SCAPHOID	MW	0.958	-13.774	p = -0.12	85.4
SCAPHOID	MLRF	0.752	-12.683	p = -0.1	83.7
TRIQUETRAL	ML	0.841	-15.172	p = -0.121	80
TRIQUETRAL	MH	1.057	-16.331	p = -0.1585	80
TRIQUETRAL	MLLF	0.942	-8.339	p = -0.189	93.6
TRIQUETRAL	MWLF	1.034	-7.875	p = -0.1785	89.7
TRIQUETRAL	MHHF	0.828	-10.925	p = -0.169	89.5
TRIQUETRAL	MWHF	0.913	-8.995	p = -0.1975	90.8
TRIQUETRAL	MLPF	1.036	-9.018	p = -0.3105	90.4
TRIQUETRAL	MWPF	1.226	-9.985	p = -0.4125	91.5
CAPITATE	MH	0.771	-19.502	p = -0.081	88.3

**Table 4. (continued)**

CAPITATE	MIWH	1.020	-11.409	p = -0.028	81
CAPITATE	MLDB	0.750	-12.977	p = 0	81
CAPITATE	LT	0.934	-13.504	p = -0,031	80.4
HAMATE	MH	0.666	-14.900	p = -0.1045	84
HAMATE	HM(V)F	1.246	-12.514	p = -0.0185	81.4
HAMATE	HM(IV)F	1.431	-15.492	p = -0.2195	88
HAMATE	MWH	1.251	-15.956	p = -0.1545	81.6
PISIFORM	HTF	1.153	-8.578	p = -0.1965	88.2
PISIFORM	WTF	0.896	-7.951	p = -0.229	90.4
TRAPEZIUM	ML	0.617	-14.225	p = -0.3385	83.1
TRAPEZIUM	MLM(I)F	0.914	-12.814	p = -0.6525	92.8
TRAPEZIUM	MWM(I)F	1.066	-10.403	p = -0.6525	94.4
TRAPEZIUM	MLTF	0.806	-9.831	p = -0.345	91.6
TRAPEZIUM	MLTSF	0.758	-13.187	p = -0.4015	88
TRAPEZIUM	WSF	1.209	-10.037	p = -0.4025	89.2
TRAPEZOID	MH	0.933	-17.393	p = -0.212	85.5
TRAPEZOID	LPAS	0.809	-12.838	p = -0.198	80.2
TRAPEZOID	WDF	1.148	-12.501	p = -0.1965	85.5
TRAPEZOID	MLTF	0.975	-14.036	p = -0.199	84.8
TRAPEZOID	MWTF	1.133	-9.940	p = -0.17	82.3

**Table 5.** Multivariate stepwise discriminant function that produced over 80% classification accuracy.

Variable	Measurement	Unstandardized coefficient	Constant	Demarking Point (mm)	Group Centroid	Accuracy %
LUNATE	MWDH	0.332	-12.515	P = -0.191	M = 1.696 F = -2.078	98.9
	MWTF	0.459				
	HTF	0.625				
SCAPHOID	ML	0.468	-15.008	P = -0.3415	M = 0.95 F = -1.217	90.1
	MLST	0.202				
TRIQUETRAL	MWLF	0.376	-14.279	P = -0.55	M = 1.49 F = -2.59	94.1
	MWHF	0.519				
	MWPF	0.753				
CAPITATE	MAWH	0.553	-15.090	P = -0.0665	M = 0.83 F = -0.963	88.3
	LT	0.524				
HAMATE	HM(V)F	1.246	-12.514	P = -0.0185	M = 0.782 F = -0.819	90.7
PISIFORM	HTF	1.214	-9.002	P = -0.281	M = 0.778 F = -1.34	88.2
TRAPEZIUM	MLM(IF)	0.643	-14.156	P = -0.335	M = 1.086 F = -2.553	97.1
	WSF	0.615				
TRAPEZOID	LDF	0.486	-20.455	P = -0.3145	M = 1.147 F = -1.776	93.7
	WDF	0.775				
	MLTF	0.534				

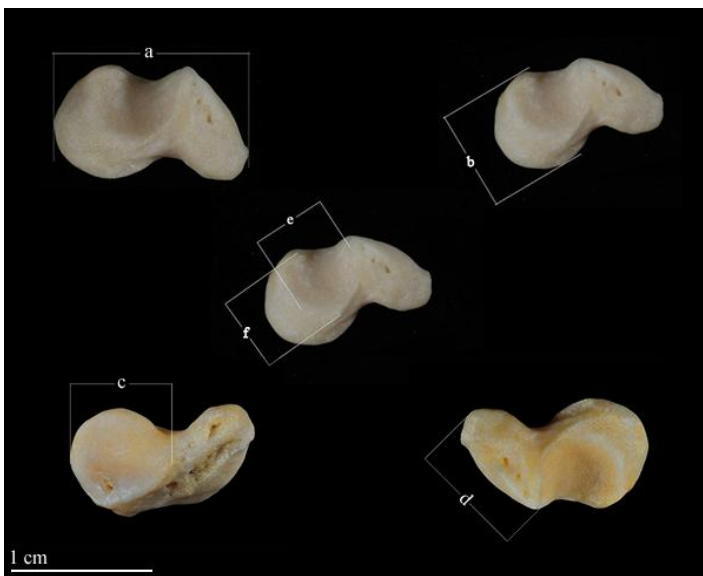
## **ANEXOS 2**

## **IMÁGENES**

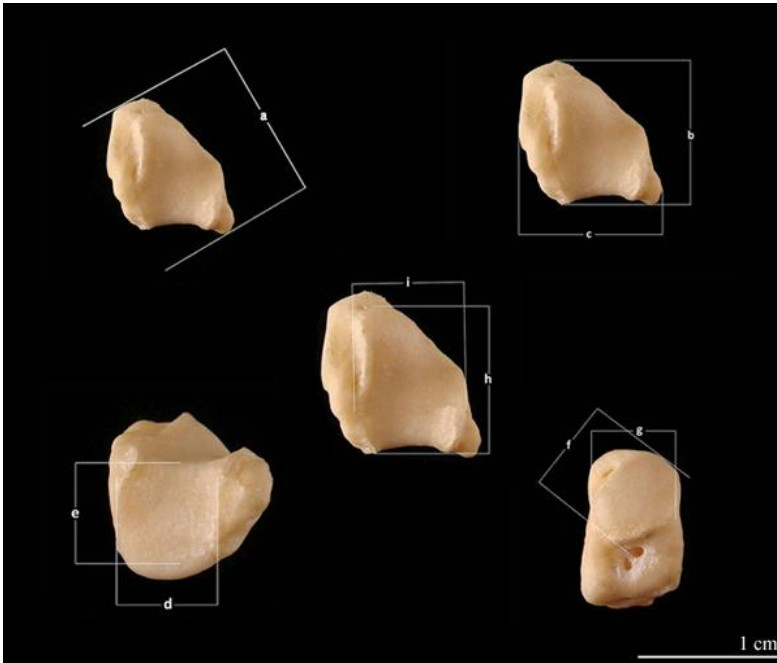
**Figure 1.** Lunate measurements



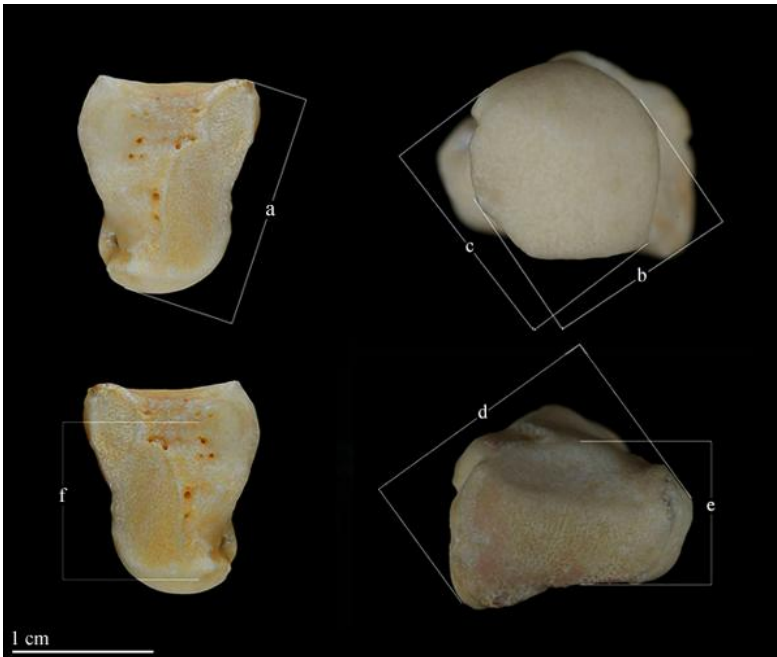
**Figure 2.** Scaphoid measurements



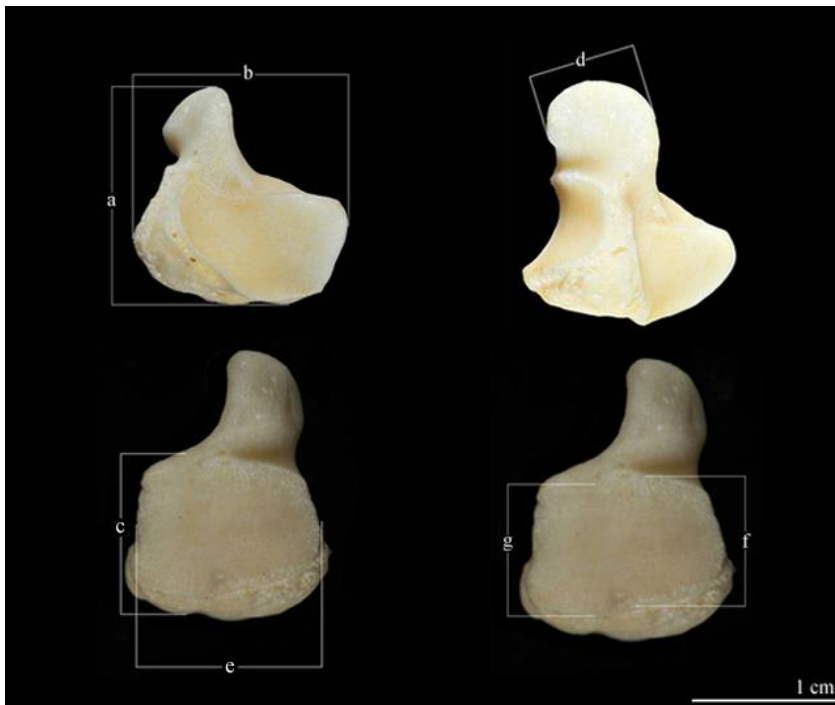
**Figure 3.** Triquetral measurements



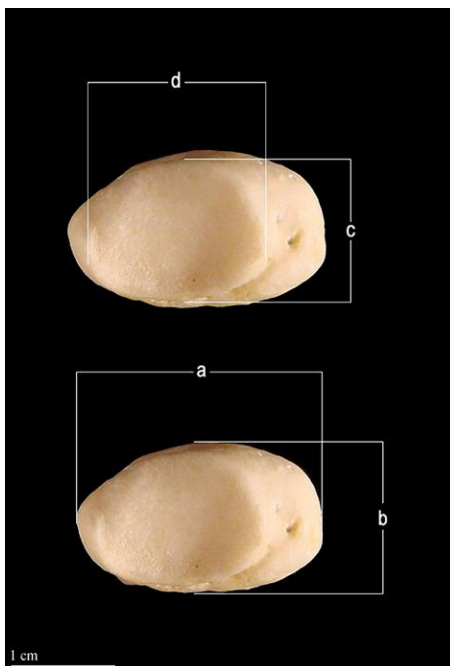
**Figure 4.** Capitate measurements



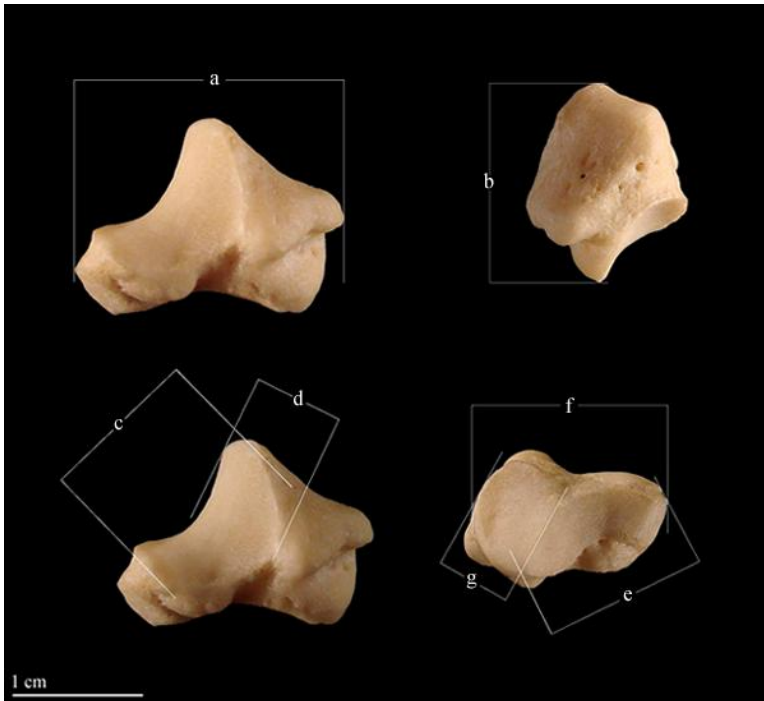
**Figure 5.** Hamate measurements



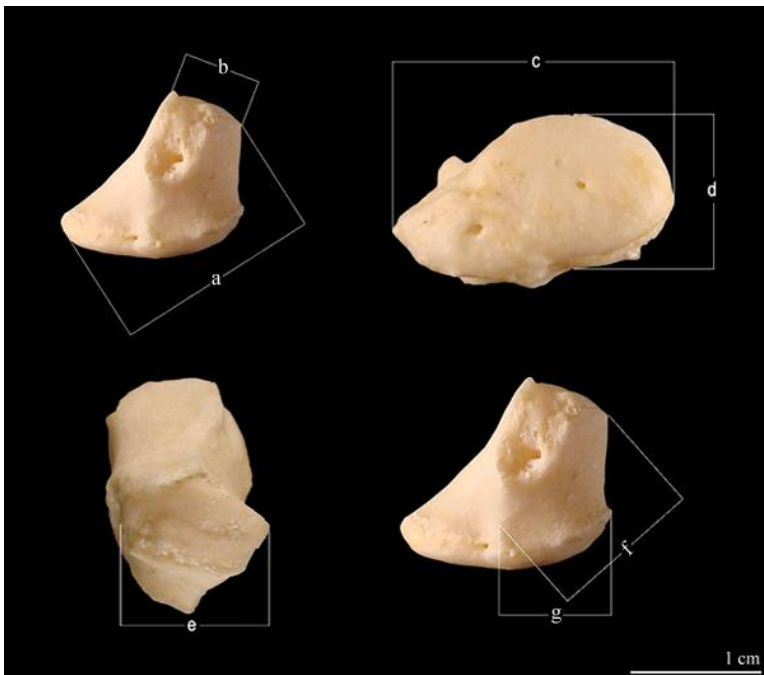
**Figure 6.** Pisiform measurements



**Figure 7.** Trapezium measurements



**Figure 8.** Trapezoid measurements









## **CAPÍTULO 7**



**SEX ASSESSMENT FROM CARPALS BONES: DISCRIMINANT FUNCTION ANALYSIS IN A CONTEMPORARY MEXICAN SAMPLE.**

**BASADO EN:**

**Mastrangelo P.<sup>1</sup>, De Luca S.<sup>1</sup>, Sánchez-Mejorada G.<sup>2</sup>** 2011. Sex assessment from carpal bones: discriminant function analysis in a contemporary Mexican sample. *Forensic Science International*; 209: 196e1-196e15.

1. Laboratory of Anthropology, Faculty of Medicine, University of Granada, Granada, Spain.
2. Laboratory of Physical Anthropology, Department of Anatomy, Faculty of Medicine, UNAM, Mexico City, Mexico.

**KEYWORDS:** FORENSIC ANTHROPOLOGY, SEX ASSESSMENT, CARPALS BONES, DISCRIMINANT FUNCTIONS, MEXICAN POPULATION.

## INTRODUCTION

Correct sex identification of the human skeleton is an important factor in both forensic practice and bio-archaeological and palaeodemographic research (Byers, 2002). In forensic context, the assessment of sex can substantially narrow the biological profile for unidentified remains. Indeed, in most cases, clarification of the events and later juridical decisions will depend on the precision and the reliability of identification procedures (Burns, 2007; Byers, 2002). In bio-archaeological studies, sex assessment considerably influences our interpretation of most biological and cultural factors in past populations, burial practices, palaeobiology and palaeodemography (Mays, 1998; Ubelaker *et al.*, 2002).

The success of assessing sex in skeletal remains depends on the completeness and expression of sexual dimorphism in the recovered structures (Martin and Saller, 1969; Steyn and Işcan, 1999). Although only two biological sexes exist in humans, it is a very complex task to diagnose the sex of a human skeleton from morphological features (Martin and Saller, 1969; Mall *et al.*, 2000; Murail and Bruzek, 1999). This is due, firstly, to the fact that sex-related differences between skeletons are only tertiary, and secondly to the fact that there is a large overlap between the sexes in the distribution of most features; so that in the middle of the overall range no sexual distinction can be made (Mays, 1998). In addition, both general robusticity/gracility and the sexual dimorphism depend on the particular regional population (Alemán, 1997; Alemán *et al.*, 1999; Allen *et al.*, 1987; Alonso, 1969; Ríos Frutos, 2002, 2003; Rösing *et al.*, 2007).

Most researchers agree that sex diagnosis of adult skeletons can be performed easily and with high accuracy (Ubelaker *et al.*, 2002;

Rösing *et al.*, 2007). However, the overall reliability depends on the method and on the skeletal data taken into account. If almost all the bones composing the skeleton are present, sex assessment is not difficult. In the presence of complete skeleton, sex can be assessed with nearly 100% accuracy. This estimation rate is 98% for pelvis and cranium, 95% with only pelvis or pelvis and long bones, and 80–90% with only long bones (Burns, 2007; Bone, 1963; Genovés, 1962). Nevertheless, fragmentary human remains compromised by different types of burial, or physical insults such as explosions, fires, and mutilations may hamper the use of traditional morphognostic sex assessment methods, such as the analysis of the skull and pelvis (Işcan *et al.*, 1994; Işcan, 2005; Singh *et al.*, 1974). It is therefore important to develop methods for fragmented and incomplete material.

New techniques based on discriminant function analysis and mathematical models of sexually dimorphic bone traits have recently been proposed to obviate this limitation (Alemán *et al.*, 1999; Murail and Bruzek, 1999; Alonso, 1969; Singh *et al.*, 1974; Calcagno, 1981; Holman and Bennet, 1991; Robling and Ubelaker, 1997). Walker (2008), in his study about sex estimation by visual assessment of cranial traits, noted that not only is collecting osteometric data time consuming, but also it often requires expensive, specialized anthropometric equipment. However, these metrical methods and statistical procedures using quantitative analysis are more objective and repeatable than the morphologic methods and can be performed even on fragmentary skeletal remains (Alemán, 1997; Alemán *et al.*, 1999; Dibennardo and Taylor, 1983; Gapert *et al.*, 2009; Gualdi-Russo, 2007). Although the great value of sexually dimorphic features of the skull, os coxae, mandible, etc., is unquestionable, the main advantage

of discriminant function analysis is that it reduces subjective judgment as well as the level of expertise and experience needed for the assessment of sex (Barrio *et al.*, 2006; Bennet, 1981; Bidmos and Dayal, 2003; Dittrick and Suchey, 1986). Unfortunately, technical application would be limited to the specific population from which the bone remains were obtained. This methodical limitation of the mathematical functions is related to the variability of a population with respect to body size. Traits that are sexually dimorphic in one population may be much less so in another (Rösing *et al.*, 2007; Steyn and Işcan, 1999). This spatial variation within and between populations makes it necessary to reevaluate the diagnostic value of sexually dimorphic traits each time a new population is studied (Alemán, 1997; Alemán *et al.*, 1999; Trancho *et al.*, 2006; Bass, 1987; Krogman, 1946).

In the past few years, numerous studies have addressed sex estimation from the hands and feet with varying results (Falsetti, 1995; Scheuer and Elkington, 1993; Smith, 1996, 1997; Troy Case and Ross, 2007; Wilbur, 1998). These studies have varied primarily in terms of the specific bones and populations used to generate either regression equations or discriminant functions. In the hands, most studies have focused on the metacarpals (Barrio *et al.*, 2006; Falsetti, 1995; Scheuer and Elkington, 1993; Lazenby, 1994, 2002; Plato *et al.*, 1980; Ruby *et al.*, 1988; Stojanowski, 1999). In the feet, studies have been published on the metatarsals (Rösing *et al.*, 2007; Robling and Ubelaker, 1997); tarsals (Bidmos and Dayal, 2003; Smith, 1997; Bidmos and Asala, 2004; Introna *et al.*, 1997; Steele, 1976), proximal phalanges, distal first phalanx (Scheuer and Elkington, 1993), and the talus plus calcaneus (Gualdi-Russo, 2007). Owing to the high incidence of

recovery of these compact bones in both forensic and archaeological contexts, Sulzmann *et al.* (2008) investigated and identified the potential of using carpals bones for sex assessment. They were the first researchers to devise a metrical method of assessing sex from the complete carpal bones. Mastrangelo *et al.* (2011), in order to determine the applicability of this technique to other populations, tested its accuracy in a 20<sup>th</sup> century Spanish sample from Granada (Spain), with known sex and age.

Studies on metric assessment of sexual dimorphism in Mexican skeletons are few (Genovés, 1962; Escorcia Hernández, 2007; Lagunas Rodríguez, 1975; López Alonso, 1969), while there has been an escalation in crime, an increasing number of unidentified cadavers and human remains and a need for forensic anthropological standards. Some of the most important investigations are based on populations of Central America, such as the contemporary indigenous Guatemalan in which measurements of the clavicle (Alonso, 1969), scapula (Ríos frutos, 2002) and humerus (Ríos Frutos, 2005) have been used. These recent studies suggest that not only the skeletal biology of Mexicans is different from others but many divergences exist among several human groups from Mexico. In addition, much of the research has been conducted in Europe and North America where many skeletal collections and archaeological populations reside. While standards from these studies have been applied to other populations, they may not provide the most reliable results.

The main aim of this study is therefore to develop new discriminant functions for assessing sex from measurements of carpal bones in a Mexican sample. For this purpose, a modern Mexican



skeletal collection, with known sex and age, was analyzed in order to establish population-specific discriminant functions.

## **MATERIALS AND METHODS**

### *Sample*

The skeletal remains of this study were selected from the identified osteological collection housed in the Laboratory of Physical Anthropology, Faculty of Medicine, UNAM (Universidad Nacional Autónoma de México, Mexico City). Following an agreement between the School of Medicine (UNAM), the Health Ministry and the Mexico City Government, the authors received permission to study the skeletons from the Director of the Anatomy Department who is officially responsible for the collection and has authorization from the Health Ministry.

In 1966-1968, Dr. Santiago Genovés began to collect human skeletons from cadavers used in the Medical School's Anatomy classes. These bodies were obtained from the institutional morgues. The cadavers predominantly consisted of those individuals whose bodies became property of the State when they were not claimed, or whose relatives signed over the remains to the State. The bodies were subsequently turned over to the Faculty of Medicine for cadaver research. When Dr. Genovés retired, another skeletal biologists, Dr. Reyes-Tellez and Dr. Alba, diligently continued collecting skeletons until their retirement in 1993. During the decade of 1993-2003, Dr. Martha Pimienta and her staff established a uniform protocol for collecting, cataloging, maceration and storage of the skeletons. At

present, Dr. Gabriela Sánchez-Mejorada and Dr. Patricia Herrera Sain-Leu, Professors at the Department of Anatomy, curate this collection.

The documentation of these subjects consists of morgue's records with the name of the individual, the sex, age and ethnic identity, date and cause of death. The skeletal catalog also indicated damaged or absent bones for each subject. Based on these exhaustive records, it can be affirmed that all the subjects were local people from Mexico City. The individuals were chosen with the intention of getting a representative sample. A total of 136 individuals (78 males and 58 females), aged between 25 and 85 years, was analyzed; they have not pathological or traumatic lesions affecting the carpals bones. Damaged specimens were also excluded. All human remains were completely skeletonized and the condition of the bones was excellent.

### *Measurements*

Following Martin and Saller (1969) and Sulzmann *et al.* (2008), between four and nine measurements, depending on the morphology of the eight carpal bones, were taken (Anexo 1, Table 1). As Sulzmann *et al.* (2008) noted, the measurements were designed to capture the general size of the bone (length, breadth, and width) as well as the size of facets that were most likely to survive, rather than to investigate variations in carpal shape.

These measurements are as illustrated in Figures 1-8 (Anexo 2). They were formulated not only to be easy to use and replicable, but also to include measurements that can be taken even if the carpal is damaged (2008). For each carpal bone a technical data with all the studied measurements was generated. All measurements were taken on bones from the right and left side, whenever possible. For the metric

analysis, only adults without evident pathological lesions such as fracture, osteoarthritis, or *perimortem* traumatic alterations were chosen. Carpal dimensions were measured with a sliding caliper Mitutoyo Digimatic w/Absolute Encoders - Series 500, according to standard measuring techniques and approximated to the nearest 0.1 mm. All measurements were performed by the first author (PM) with ample experience of this technique.

Being able to reliably replicate measurements is an essential component of any metric study. For that reason, tests for intra- and inter-observer error were performed.

Each measurement was taken a second time by PM after a period of two weeks. The difference between the two sets of measurements was used in order to calculate a percentage of intra-observer error. The paired-samples t-test was applied to estimate the significance. In addition, the absolute technical error of measurement (TEM) and the relative technical error of measurement (rTEM) were calculated to investigate systematic error in recording carpal bones measurements. The advantage of using TEM is that it is expressed in the unit of the measurement examined (mm) and could be described as the standard deviation between repeated measurements. The rTEM permits the calculation of the percentage error (Harris and Smith, 2009). The formulae used to calculate TEM and rTEM, respectively, were as follows:

$$\text{TEM} = \sqrt{\frac{\sum D^2}{2N}} \quad \text{rTEM} = \frac{\text{TEM}}{\overline{X_T}}$$

where  $D^2$  is the squared difference between the first and second measurements,  $N$  is the number of the carpal bones measured, and  $\overline{X_T}$  is the grand mean of the arithmetic means for the first and second measurements.

Lastly, in order to evaluate inter-observer error, a random subsample of 50 individuals was selected and re-examined after a period of 3 months by the first author (PM). This sample was also measured by the second author (SDL), who had not worked with this method before. The subsample was composed of 25 males and 25 females and the same procedure for all measurements was followed (Martin and Saller, 1969; Sulzmann *et al.*, 2008). At the completion of data collection, all measurements were entered into a computer database. Since the purpose of this study is to estimate rates of agreement between two observers, Cohen's kappa coefficient (Cohen, 1960) is an appropriate statistical test and was used to assess inter-observer reliability. A paired t-test is also an appropriate choice, as both observers recorded carpals measurements for the same individuals. Kappa values are scaled between 0–1, with 0 indicating the amount of agreement expected if scores were assigned randomly to specimens, and 1 perfect agreement.

### *Statistical analysis*

All statistical analyses were performed using the SPSS 15.0 software program (SPSS Inc., Chicago, IL)(VV.AA., 2005). The usefulness of discriminant functions largely depends on the normality of the data distribution and the equality of the covariance matrices. Normality of the sample was tested using non-parametric Kolmogorov-Smirnov test which is used to decide if a sample comes from a population with a specific distribution.

The sample was divided in two subgroups according to the sex of the individuals and the laterality. Descriptive statistics, including the maximum and minimum values, the mean and standard deviations, were obtained for each measurement of the study. It was made in order to detect errors in data recollecting and for characterizing the sample.

After having verified the normality in the sample distribution, a paired t-test for independent samples was used to establish the existence and direction of any side asymmetry of the carpal measurements and between the males and females mean values for each variable [42, 58]. For this study, statistical significance was accepted at a level of  $p \leq 0.05$ .

Following this, univariate and multivariate discriminant function analyses were conducted. Stepwise discriminant analysis, using the Mahalanobis' distance criterion for variable selection, was used to indicate the most powerful discriminating variables for distinguishing sex. The first stepwise discriminant functions were produced for all the measurements taken for each of the carpals. In addition, to maximize the technique's applicability in archaeological and forensic cases where the bones are incomplete or in poor condition, the functions were calculated for each variable separately. The functions whose discriminant power fell below 80% were excluded because they are of little utility.

In order to select the variables, the stepwise method was utilized. For the discriminant function procedures, the minimum partial F to enter and maximum partial F to remove were kept at the default values of 3.84 ( $p \leq 0.05$ ) and 2.71 ( $p \leq 0.10$ ), respectively. F statistic determines how much variation exists between the sexes and the significance level of the variance. The F to remove value tests the

significance of the decrease in discrimination should that variable be removed. These are the parameters of selection yielded by SPSS.

The selection process of the stepwise discriminant method is not necessarily the best possible model because the selection process does not take into account the relationships between variables that have not yet been selected. The reliability of each function generated from the stepwise and direct analyses was then assessed using the leave-one-out classification (jack-knife) method. The jack-knife procedure was applied in order to evaluate the sample specificity of the discriminant function analysis. This procedure classifies each individual of a sample by the functions derived for all specimens other than that specimen itself, and thus provides less biased classification estimates for the study sample (VV.AA., 2005). In this way, a more realistic estimate is gained of the ability of predictors to separate groups.

## **RESULTS**

### **Intra- and inter-observer agreement**

Paired t-tests revealed that intra-observer variation was low ( $P > 0.05$  in all cases). Table 2 showed that all the measurements used in this study were replicable. The average percent intra-observer error was 0.23, with no individual measurement exceeding 1%. As regards the TME and the rTME, they ranged from 0.00 to 0.57 and from 0% to 0.2151%, respectively, indicating that the errors of precision were small and unlikely to have influenced the results.

Inter-observer repeatability was examined by comparing each observer's set of measurements. The results of paired t-tests showed that the method can be reproduced by someone who has not used this

method before ( $P > 0.05$  in all cases). When the inter-observer reliability was analyzed by Cohen's kappa coefficient, the highest value was 0.833 (MW of the lunate; standard error = 0.13; 95% CI = 0.84-1.00), and the lowest was 0.711 (MLDB of the capitate; standard error = 0.25; 95% CI = 0.84-1.00), indicating very good agreement between the two observers. In general, values between 0.61 and 0.8 could be interpreted as good, values greater than 0.81 as very good agreement (Cohen, 1960; VV.AA., 2005). The low rate of personal disagreement among observers about classification showed, therefore, that the metric method entails a low level of inter-observer risk of error.

### **Descriptive statistics and discriminate function**

The Kolmogorov-Smirnov test indicated a normal distribution of the sample ( $P > 0.05$ ).

The sample was then analyzed for side asymmetry between left and right carpals using a paired t-test. Although bones of the right hand are slightly more robust than those of the left hand, the laterality analysis pointed to a lack of asymmetry in the series studied (Table 3). This suggests a reduced and not very significant effect of the theoretical functional laterality at least in this Mexican sample (Lazenby, 1994, 2002).

Descriptive statistics with means, standard deviations and univariate  $F$ -ratios are given in Table 4. As expected, all dimensions were statistically significantly larger in males than in females. These results demonstrate the presence of marked sexual dimorphism in the carpal bones of this Mexican sample, and thus metric analysis of these skeletal elements should provide an effective method for the estimation

of sex in this population group. Once this difference was established, a discriminant function was done.

Univariate discriminant function analysis produced one function and a demarking point for each variable. These functions can then be used on very fragmented carpal bones remains where few variables can be observed and included in the formulae. The percentage of correctly classified individuals in this Mexican sample is quite high, with great accuracy in both sexes. Taking into account only a variable for each carpal bone, classification accuracy ranged from 61.8% and 90.8%. The measurements with classification accuracy degrees of 80% or above are 23 of 51. The maximum width of the scaphoid was the most sexually dimorphic variable with an accuracy of 90.8%. Classification accuracies ranged between 81.3% and 92.3% in the multivariate stepwise discriminant analysis. The maximum width, the maximum length of radius facet and the maximum width of the capitate facet of the scaphoid showed an accuracy of 92.3%.

Table 5 provides unstandardized coefficients, constants, centroids (each centroid is the mean discriminant score for each sex), demarking points (average of the two centroids when sample sizes are not equal) and accuracy of each discriminant function score. The sex of an unknown specimen can be estimated from these formulae by multiplying the value of each variable with its corresponding unstandardized coefficient, summing them and then adding the constant. If the resulting discriminant score is greater than the given demarking point, the individual is considered male, whereas a lower score indicates a female. If, for example, a Mexican individual has a maximum width of the dorsal horn of the lunate (MWDH) of 12.21 mm, and a maximum width of the triquetral facet of the same bone



(M WTF) of 9.00 mm, the discriminant score (y) is calculated as follows (Table 6):

$$y = (12.21 \times 0.377) + (9.00 \times 0.64) + (- 17.253)$$

In this case, a y-value greater than the demarking point of - 0.3145 (Table 6) indicates a male, while a smaller value indicates a female. The result, - 6.88983, is below the demarking point, indicating a female individual with an accuracy degree of 91.4%. Obviously, when the dimension value is close to the demarking point, the probability of correctly classifying an individual is lower because it is in an area of overlap between the two groups (Krogman and Işcan, 1986). By contrast, a value further from the demarking point would be more reliable. For single variables (Table 5), sex can also be determined by simply comparing the recorded value of a specimen to the demarking point (average of the male and female means) provided in the table.

Table 7 summarizes the sex prediction accuracy rates for both the original data and the leave-one-out classification for the derived discriminant functions. The classification results for these two procedures are nearly identical, with a maximum decrease in overall accuracy of 1.4%. The functions derived for the scaphoid produced the highest accuracy in sex assessment. This was followed closely by the function derived for the lunate whereas the MH of the trapezoid predicted sex to a slightly lower extent.

## **DISCUSSION**

The estimation of sex is an important first step in developing a biological profile for the human skeletal remains as methods of

establishing stature and age-at-death are frequently sex dependent. The assessment of this demographic characteristic is more reliable if a complete skeleton is available for the analysis; however, in forensic and archaeological contexts, the human skeletal remains are frequently fragmented and incomplete. Because of this limitation, the diagnosis of sex must be therefore made with various methods applicable to several parts of the skeleton. It is very important to have a wide range of sex assessment methods, so that the maximum amount of information can be obtained, especially from incomplete skeletons.

The use of discriminant functions to sex unidentified skeletal remains is now a common practice. In fact, since the development of the discriminant function statistic by Fischer (1940), physical anthropologists have found it to be an effective quantitative sex assessment. Skeletal biologists have also demonstrated that each population group needs its own specific standards for osteologic assessment of demographic characteristics such as sex. Several factors, such as the differences in nutrition, disease, extreme division of labor, socioeconomic status and technology or population mobility, may alter sexual dimorphism as well (Burns, 2007; Rösing *et al.*, 2007). Each population group requires therefore its own specific standards for accurate assessment of sex (Alonso, 1969; Ríos Frutos, 2002; Rösing *et al.*, 2007; Introna *et al.*, 1997; Ríos Frutos, 2005; Krogman and Işcan, 1986).

The capacity to assess sex from a variety of different bones is of particular importance in Mexico where there is a particularly pressing need for more precise methods of identification from the skeleton. This is due to the increasing number of unidentified human remains that confront law enforcement agencies. In addition, little work has been

undertaken using discriminant function in Mexican population. To compensate for this paucity of information, assessing sex of carpal bones by discriminant function analysis was undertaken in an identified skeletal collection coming from the Laboratory of Physical Anthropology, Faculty of Medicine, UNAM (Universidad Nacional Autónoma de México, Mexico City).

Previous researchers (Sulzmann *et al.*, 2008; Mastrangelo *et al.*, 2011) have shown that anthropometric measurements of the carpal bones allow reasonably accurate sexing when these data are analyzed with discriminant functions. The results of this study indicate that carpals bones are useful bones for sex assessment in a Mexican identified population. This is thus the consequence of the differences in body size between both males and females.

The results of the laterality analysis point to the lack of a differential development between the right and the left sides. Mastrangelo *et al.* (2011), in their previous study of a Mediterranean Spanish sample, showed absence of asymmetry in both sexes. In their study about metacarpal sexual assessment in a Spanish sample from Madrid, Barrio *et al.* (2006) demonstrated that the laterality analysis only revealed a reduced number of asymmetrical differences, especially in the male series. Due to the greater physical right-handed activity, even before birth, it would seem logical to assume the existence of a preferential morphological development for this hand in humans. In their study of bilateral asymmetry in bone measurements of the hand, Plato *et al.* (1980) showed that as a rule the right hand measurements are always inherently larger than those of the left hand, regardless of hand dominance. Sulzmann *et al.* (2008) reported side asymmetry in both male and female samples. In the male sample, only the scaphoid

showed no side asymmetry. This study corroborated the general observations that right hand dominance is the norm for human populations, and that with greater functional loading on the dominant hand, larger bones are produced. However, the results achieved in this Mexican sample are not consistent with the expected behavior. The almost complete absence of asymmetry in the carpal bones of this sample allows considering the assumption of a physical activity in which the use of both hands prevents the development of asymmetrical differences. It seems legitimate to suppose that the usual activity of these subjects would have required regular use of both hands.

The discriminant function analyses confirmed the results of previous statistical comparison by sexes (Sulzmann *et al.*, 2008). Male carpal bones have larger dimensions than females ones, in particular if articular regions and maximum length are considered. The measurements with classification accuracy degrees of 80% or above are 23 of 51. Unlike the Sulzmann's study (2008), in which the pisiform showed the least sexual dimorphism and several measurements were excluded from the rest of the study because eight left measurements and 20 right ones were not significantly different, all dimensions are statistically significantly larger in males than in females. The scaphoid, lunate, trapezium and hamate are the most dimorphic variables with a classification accuracy of 92.3%, 92.2%, 89.7% and 91.1%, respectively. In the scaphoid, the following variables are the most dimorphic: MW, MLRF, MWCF (Table 6). Sulzmann *et al.* (2008) reported that the left hamate measurement (b) is the most sexually dimorphic with a classification accuracy of 84.7%. In their study, classification accuracies ranged from 73.2% to 87.8% for the left carpal variables and only left lunate measurement and triquetral measurement

were chosen by stepwise analysis, yielding 87.9% accuracy. Classification accuracies ranged from 71.7% to 88.6% for single right carpal variables and only triquetral measurement was chosen by stepwise, producing an accuracy of 79.5%. The lunate, in the previous study of Mastrangelo *et al.* (2008), showed a classification accuracy of 97.8%.

This is probably due to the fact that these bones play a very significant part in the biomechanics of the wrist (Bonjean *et al.*, 1981; Coburn *et al.*, 2007; Compson *et al.*, 1994; Dyankova, 2007; Feipel *et al.*, 1998; Gupta and Al-Moosawi, 2002; Le Minor and Rapp, 1956; Levinsohn, 1990). In fact, the contribution of the scapho-lunate and luno-triquetral joints to global wrist motion is very important. The segmental motion of the proximal carpal row was studied by Seradge *et al.* (1990) in 11 fresh-frozen cadaver specimens. The data was collected by means of radiography, goniometric measurement, and computer analysis. The proximal carpal row (the intercalated segment), although anatomically represented as a row, presented through its two inter-segmental joints a definite segmental behavior. Each inter-segmental joint of the proximal carpal row influenced global wrist motion in all directions but to a different degree for each plane of motion. The segmental joints within the intercalated segment collectively governed 40% of the wrist flexion, 33% of the extension, and 10% of the ulnar deviation. The scaphoid, through its scapho-lunate link, exerted a governing effect on total inter-segmental proximal carpal row contribution to the global wrist motion. These findings indicate that carpal bone motions are interdependent on each other, with the bones of the proximal carpal row having more individual rotation than those of the distal carpal row (Ruby *et al.*, 1988).

## CONCLUSION

The estimation of sex using discriminant function analysis is crucial in disasters and forensic cases, and other circumstances in which other anatomical regions, typically used to assess sex, are either not presented or not adequately preserved (Allen *et al.*, 1987; Holman and Bennet, 1981; Gualdi-Russo, 2007). Recent works (Sulzmann *et al.*, 2008; Mastrangelo *et al.*, 2011) have explored sexual dimorphism in the carpal bones as a valuable method for sex assessment of partial or fragmentary human remains (Kelley, 1979; Kemkes-Grottenthaler, 2005). The objective of the present investigation was, therefore, to develop osteometric standards for estimating sex from the carpal bones of the Mexican population.

The results of this study demonstrate that metric analysis of the human carpals is useful for estimating sex in Mexicans. All the eight carpals measured in this analysis proved to be sexually dimorphic to various degrees. Taking into account only a variable for each carpal bone, classification accuracy ranged from 61.8% and 90.8%. Classification accuracies ranged between 81.3% and 92.3% in the multivariate stepwise discriminant analysis. A stepwise discriminant function procedure, which selected maximum width, maximum length of radius facet, and maximum width of capitate facet of the scaphoid, provided an overall accuracy of 92.3%, with males and females nearly equally classified. Results from this study indicate that while the method provides good accuracies and a quick and easy manner of assessing sex, care should be taken when applying it to populations of different origin (Alemán, 1997; Alemán *et al.*, 1999; Barrio *et al.*, 2006). The classification accuracies for the carpal variables obtained in the present study match well the results provided in the literature for

other populations. For example, Sulzmann *et al.* (2008) applied multivariate linear discriminate analysis to 100 individuals of known sex from the Christ Church, Spitalfields Collection, curated at the Natural History Museum (London). Univariate measurements produce accuracy levels that range from 64.6 to 84.7%. Stepwise discriminant function analysis, devised separately for left and right sides, provides an accuracy range of 71.7 to 88.6%. More recently, Mastrangelo *et al.* (2011) obtained similar results discriminating sex among a 20<sup>th</sup> century Spanish sample using carpal measurements. In that study, all dimensions were statistically significantly larger in males than in females and the lunate was the most dimorphic variable with a classification accuracy of 97.8%.

In summary, the present study demonstrated that the carpal bones of this contemporary Mexican population are highly sexually dimorphic. This method can also reveal, according to body preservation, its usefulness in both bio-archaeological and forensic anthropological settings, suggesting the use of these discriminant functions also for palaeodemographic studies. Central to palaeodemography is the generation and interpretation of skeletal sex and age distributions, as this information offers key insights into the demographic composition of a particular population and possible differential mortality based on sex and age. Reconstruction of mortality patterns is essential for understanding of the conditions in which human populations lived in historic ecosystems (Wittwer-Backofen *et al.*, 2008). In archaeological contexts, it is relatively common to find carpal bones in good states of preservation. Osteometric analyses of these bones provide, therefore, a high-quality addition to the store of sex

discrimination methods at the disposal of forensic anthropologists and bio-archaeologists working in Mexico.

Future research should aim at acquiring even larger sample sizes from other populations in order to verify new discriminant functions of the carpal bones and at testing the technique in many archaeological samples for which the influence of taphonomic factors and pathologies, such as arthritis and traumatic lesions, may be much more significant (Martin and Saller, 1969; Mays, 1998; Rösing *et al.*, 2007; Walker, 2008; Šlaus and Tomičić, 2005; Saunders and Yang, 1999; Murphy, 2002).



# **ANEXOS 1**

## **TABLAS**

**Table 1.** Variables used in this study.

<b>Carpal Bone</b>	<b>Variable</b>	<b>Denomination</b>
LUNATE	ML	Maximum length
	MW	Maximum width
	MWDH	Maximum width of the dorsal horn
	MWTF	Maximum width of triquetral facet
	HTF	Height of triquetral facet
SCAPHOID	ML	Maximum length
	MW	Maximum width
	MLRF	Maximum length of radius facet
	MLST	Maximum length of scaphoid tubercle
	MLCF	Maximum length of capitate facet
	MWCF	Maximum width of capitate facet
TRIQUETRAL	ML	Maximum length
	MH	Maximum height
	MW	Maximum width
	MLLF	Maximum width
	MWLF	Maximum width of lunate facet
	MLPF	Maximum length of pisiform facet
	MWPF	Maximum width of pisiform facet
	MHHF	Maximum height of hamate facet
MWHF	Maximum width of hamate facet	
CAPITATE	MH	Maximum height
	MIWH	Minimum width of head
	MAWH	Maximum width of head
	MLDB	Maximum length of distal base
	MWDB	Maximum width of distal base
	LT	Length of tuberosity
HAMATE	MH	Maximum height
	MW	Maximum width
	HB	Height of the body
	MWH	Maximum width of the hamulus
	MWDF	Maximum width of the distal facets
	HM(V)F	Height of metacarpal V facet
	HM(IV)F	Height of metacarpal IV facet

**Table 1. (continued)**

PISIFORM	MH	Maximum height
	MW	Maximum width
	HTF	Height of triquetral facet
	WTF	Width of triquetral facet
TRAPEZIUM	ML	Maximum length
	MH	Maximum Height
	MLM(I)F	Maximum length of metacarpal I facet
	MWM(I)F	Maximum width of metacarpal I facet
	MLTF	Maximum length of trapezoid facet
	MLTSF	Maximum length of trapezoid and scaphoid facets
	WSF	Width of scaphoid facet
TRAPEZOID	MH	Maximum height
	LDF	Length of dorsal surface
	LPAS	Length of palmar surface
	WDF	Width of the dorsal surface
	MW	Mid width
	MLTF	Maximum length of trapezium facet
	MWTF	Maximum width of trapezium facet

**Table 2.** Intra-observer error results.

<b>Carpal Bone</b>	<b>Number</b>	<b>Variable</b>	<b>Denomination</b>	<b>Percent Error *</b>	<b>Absolute Range (mm)</b>
LUNATE	116	ML	Maximum length	0.15	0.00-0.27
	117	MW	Maximum width	0.15	0.00-0.29
	121	MWDH	Maximum width of the dorsal horn	0.11	0.00-0.27
	118	MWTF	Maximum width of the triquetral facet	0.18	0.00-0.29
	117	HTF	Height of the triquetral facet	0.23	0.00-0.33
SCAPHOID	123	ML	Maximum length	0.41	0.00-0.53
	119	MW	Maximum width	0.52	0.00-0.71
	126	MLRF	Maximum length of the radius facet	0.16	0.00-0.34
	123	MLST	Maximum length of the scaphoid tubercle	0.27	0.00-0.53
	125	MLCF	Maximum length of the capitate facet	0.33	0.00-0.45
	125	MWCF	Maximum width of the capitate facet	0.13	0.00-0.21
TRIQUETRAL	113	ML	Maximum length	0.16	0.00-0.22

	116	MH	Maximum height	0.19	0.00-0.35
	116	MW	Maximum width	0.25	0.00-0.38
	119	MLLF	Maximum length of the lunate facet	0.20	0.00-0.36
	119	MWLF	Maximum width of the lunate facet	0.40	0.00-0.65
	110	MLPF	Maximum length of the pisiform facet	0.13	0.00-0.36
	113	MWPF	Maximum width of the pisiform facet	0.42	0.00-0.57
	106	MHHF	Maximum height of the hamate facet	0.25	0.00-0.53
	106	MWHF	Maximum width of the hamate facet	0.09	0.00-0.13
CAPITATE	127	MH	Maximum height	0.18	0.00-0.22
	132	MIWH	Minimum width of the head	0.20	0.00-0.33
	132	MAWH	Maximum width of the head	0.30	0.00-0.46
	119	MLDB	Maximum length of the distal base	0.25	0.00-0.32
	123	MWDB	Maximum width of the distal base	0.27	0.00-0.44
	131	LT	Length of tuberosity	0.11	0.00-0.14

**Table 2. (continued)**

HAMATE	123	MH	Maximum height	0.16	0.00-0.41
	114	MW	Maximum width	0.20	0.00-0.28
	117	HB	Height of the body	0.12	0.00-0.31
	110	MWH	Maximum width of the hamulus	0.14	0.00-0.20
	101	MWDF	Maximum width of the distal facets	0.10	0.00-0.23
	111	HM(V)F	Height of metacarpal V facet	0.10	0.00-0.15
	125	HM(IV)F	Height of metacarpal IV facet	0.13	0.00-0.37
PISIFORM	100	MH	Maximum height	0.14	0.00-0.31
	100	MW	Maximum width	0.25	0.00-0.44
	95	HTF	Height of the triquetral facet	0.21	0.00-0.27
	94	WTF	Width of the triquetral facet	0.15	0.00-0.28

\* Average percent error: 0.23

**Table 2. (continued)**

TRAPEZIUM	108	ML	Maximum length	0.18	0.00-0.25
	106	MH	Maximum Height	0.51	0.00-0.69
	103	MLM(1F)	Maximum length of metacarpal I facet	0.43	0.00-0.55
	104	MWM(1F)	Maximum width of metacarpal I facet	0.52	0.00-0.74
	115	MLTF	Maximum length of the trapezoid facet	0.48	0.00-0.73
	115	MLTSF	Maximum length of trapezoid and scaphoid facets	0.36	0.00-0.55
	117	WSF	Width of the scaphoid facet	0.22	0.00-0.39
TRAPEZOID	114	MH	Maximum height	0.14	0.00-0.35
	112	LDF	Length of the dorsal surface	0.10	0.00-0.19
	114	LPS	Length of the palmar surface	0.12	0.00-0.26
	115	WDF	Width of the dorsal surface	0.19	0.00-0.33
	107	MW	Mid width	0.12	0.00-0.22
	115	MLTF	Maximum length of the trapezium facet	0.12	0.00-0.25

**Table 3.** Descriptive statistics and independent t-test for left and right side samples, including significance levels.

Measurements	Left				Right				F	Sig.
	N	Means	SD	Error	N	Means	SD	Error		
<b>SCAPHOID</b>										
ML	123	25.99	2.57	0.23	123	25.74	2.50	0.23	0.02	0.445
MW	119	14.18	1.53	0.14	123	14.16	1.62	0.15	1.18	0.919
MLRF	126	16.83	1.90	0.17	129	16.76	1.79	0.16	0.02	0.771
MLST	123	14.43	1.80	0.16	121	14.49	1.94	0.18	0.41	0.806
MLCF	125	14.19	1.30	0.12	128	14.56	1.29	0.11	0.02	0.123
MWCF	125	10.47	1.20	0.11	126	10.35	1.16	0.10	0.01	0.411
<b>CAPITATE</b>										
MH	127	24.83	2.07	0.18	129	24.93	2.09	0.18	0.04	0.72
MIWH	132	10.56	0.95	0.08	131	10.71	0.94	0.08	0.00	0.192
MAWH	132	13.77	1.24	0.11	132	13.80	1.35	0.12	0.48	0.845
MLDB	119	17.25	1.68	0.15	119	17.37	1.67	0.15	0.07	0.576
MWDB	123	10.83	1.09	0.10	127	10.95	1.15	0.10	0.14	0.392
LT	131	14.18	1.36	0.12	131	14.21	1.40	0.12	0.00	0.876
<b>HAMATE</b>										
MH	123	21.18	1.87	0.17	126	21.43	1.94	0.17	1.07	0.306
MW	114	19.73	2.14	0.20	114	19.85	2.15	0.20	0.09	0.687
HB	117	9.72	1.39	0.13	121	9.77	1.39	0.13	0.02	0.778



**Table 3. (continued)**

MWH	110	14.04	1.49	0.14	120	14.30	1.53	0.14	0.01	0.189
MWDF	101	10.32	1.05	0.10	103	10.33	1.08	0.11	0.02	0.965
HM(V)F	111	10.35	1.15	0.11	107	10.36	1.12	0.11	0.25	0.936
HM(IV)F	125	12.55	1.16	0.10	129	12.67	1.19	0.10	0.04	0.43
<b>LUNATE</b>										
ML	116	15.63	1.68	0.16	120	15.62	1.71	0.16	0.02	0.951
MW	117	16.71	1.69	0.16	120	16.75	1.65	0.15	0.03	0.845
MWDH	121	9.93	1.30	0.12	125	9.67	1.16	0.10	1.31	0.106
MWTF	118	7.54	0.94	0.09	123	7.39	0.95	0.09	0.00	0.234
HTF	117	8.57	1.16	0.11	125	8.47	1.09	0.10	0.47	0.457
<b>TRIQUETRAL</b>										
ML	113	18.19	1.72	0.16	120	18.18	1.74	0.16	0.37	0.975
MH	116	15.07	1.54	0.14	119	14.95	1.47	0.14	0.19	0.554
MW	116	13.21	1.48	0.14	119	13.28	1.41	0.13	0.67	0.72
MLLF	119	8.42	0.92	0.08	123	8.48	0.94	0.08	0.05	0.61
MWLF	119	7.43	0.97	0.09	124	7.33	0.87	0.08	0.17	0.375
MLPF	110	12.73	1.43	0.14	120	12.79	1.36	0.12	0.28	0.757
MWPF	113	10.44	1.13	0.11	122	10.55	1.10	0.10	0.02	0.479
MHHF	106	8.49	1.05	0.10	115	8.04	1.09	0.10	0.17	0.222
MWHF	106	7.05	0.87	0.08	115	7.09	0.95	0.09	0.89	0.756

**Table 3. (continued)**

<b>PISIFORM</b>										
MH	100	13.21	1.44	0.14	111	13.19	1.42	0.13	0.06	0.927
MW	100	8.43	1.01	0.10	111	8.34	0.89	0.08	1.60	0.476
HTF	95	7.19	0.83	0.09	109	7.09	0.83	0.08	0.10	0.408
WTF	94	8.58	1.23	0.13	107	8.57	1.16	0.11	0.11	0.964
<b>TRAPEZIUM</b>										
ML	108	21.95	1.97	0.19	116	22.24	1.93	0.18	0.13	0.273
MH	106	15.91	1.52	0.15	113	15.97	1.68	0.16	0.36	0.783
MLM(IF)	103	13.70	1.32	0.13	108	13.85	1.37	0.13	0.13	0.41
MWM(IF)	104	9.44	0.93	0.09	110	9.66	1.01	0.10	0.56	0.095
MLTF	115	9.88	0.99	0.09	120	10.35	1.01	0.09	0.00	0.111
MLTSF	115	16.39	1.48	0.14	120	16.09	1.44	0.13	0.20	0.109
WSF	117	8.06	0.93	0.09	123	8.13	1.22	0.11	1.24	0.664
<b>TRAPEZOID</b>										
MH	114	17.42	1.52	0.14	126	17.47	1.81	0.16	0.82	0.807
LDF	112	7.87	1.10	0.10	122	7.99	1.11	0.10	0.36	0.428
LPS	114	14.45	1.35	0.13	123	14.35	1.42	0.13	0.50	0.583
WDF	115	9.75	1.12	0.10	124	9.52	1.15	0.10	0.12	0.115
MW	107	9.17	1.27	0.12	116	9.14	1.33	0.12	0.05	0.867
MLTF	115	14.06	1.36	0.13	123	14.26	1.29	0.12	0.52	0.244

**Table 3. (continued)**

MWTF	114	8.67	1.00	0.09	124	8.57	0.98	0.09	0.02	0.455
------	-----	------	------	------	-----	------	------	------	------	-------

**Table 4.** Descriptive statistics and independent t-test for male and female sample, including significance levels.

Measurements	Males				Females				F	Sig.
	N	Means	SD	Error	N	Means	SD	Error		
<b>SCAPHOID</b>										
ML	149	27.23	2.08	0.17	97	23.76	1.52	0.15	9.17	.000
MW	145	15.15	1.05	0.09	97	12.69	0.96	0.10	1.70	.000
MLRF	149	17.97	1.28	0.10	106	15.14	1.08	0.10	6.61	.000
MLST	146	15.33	1.74	0.14	98	13.15	1.14	0.12	14.04	.000
MLCF	149	15.05	1.08	0.09	104	13.41	0.95	0.09	2.14	.000
MWCF	150	11.14	0.87	0.07	101	9.33	0.63	0.06	10.46	.000
<b>CAPITATE</b>										
MH	148	26.01	1.78	0.15	108	23.34	1.33	0.13	12.01	.000
MIWH	153	11.11	0.81	0.07	110	9.96	0.69	0.07	1.11	.000
MAWH	154	14.35	1.15	0.09	110	13.00	1.06	0.10	0.28	.000
MLDB	140	18.17	1.51	0.13	98	16.09	1.00	0.10	3.89	.000
MWDB	144	11.42	0.91	0.08	106	10.16	0.96	0.09	0.03	.000
LT	152	14.84	1.30	0.11	110	13.31	0.91	0.09	8.15	.000
<b>HAMATE</b>										
MH	147	22.37	1.46	0.12	102	19.76	1.33	0.13	2.02	.000
MW	135	20.66	2.22	0.19	93	18.53	1.20	0.12	10.87	.000
HB	144	10.37	1.25	0.10	94	8.78	0.97	0.10	8.45	.000

**Table 4. (continued)**

MWH	136	15.00	1.25	0.11	94	12.99	0.98	0.10	9.91	.000
MWDF	122	10.94	0.78	0.07	82	9.40	0.68	0.08	1.36	.000
HM(V)F	130	10.96	0.89	0.08	88	9.47	0.83	0.09	0.21	.000
HM(IV)F	149	13.29	0.93	0.08	105	11.65	0.72	0.07	5.88	.000
<b>LUNATE</b>										
ML	141	16.45	1.50	0.13	95	14.39	1.13	0.12	4.88	.000
MW	144	17.64	1.37	0.11	93	15.33	0.96	0.10	5.55	.000
MWDH	146	10.35	1.12	0.09	100	8.98	0.92	0.09	4.52	.000
MWTF	144	8.02	0.72	0.06	97	6.64	0.57	0.06	4.83	.000
HTF	145	9.17	0.90	0.07	97	7.54	0.57	0.06	6.15	.000
<b>TRIQUETRAL</b>										
ML	140	18.92	1.73	0.15	93	17.09	0.97	0.10	17.27	.000
MH	142	15.64	1.46	0.12	93	14.05	0.95	0.10	13.07	.000
MW	141	13.79	1.43	0.12	94	12.43	1.00	0.10	6.31	.000
MLLF	145	8.97	0.73	0.06	97	7.67	0.59	0.06	4.58	.000
MWLF	145	7.89	0.76	0.06	98	6.62	0.55	0.06	2.72	.000
MLPF	140	13.41	1.29	0.11	90	11.75	0.84	0.09	15.92	.000
MWPF	140	11.09	0.87	0.07	95	9.63	0.82	0.08	0.91	.000
MHHF	132	8.76	0.90	0.08	89	7.51	0.90	0.10	0.07	.000
MWHF	131	7.51	0.77	0.07	90	6.44	0.71	0.08	0.60	.000

**Table 4. (continued)**

<b>PISIFORM</b>										
MH	129	13.88	1.22	0.11	82	12.12	1.00	0.11	4.73	.000
MW	129	8.74	0.90	0.08	82	7.83	0.74	0.08	2.51	.000
HTF	124	7.47	0.82	0.07	80	6.62	0.55	0.06	9.46	.000
WTF	122	9.16	1.00	0.09	79	7.67	0.83	0.09	1.97	.000
<b>TRAPEZIUM</b>										
ML	137	23.11	1.60	0.14	87	20.51	1.27	0.14	4.13	.000
MH	132	16.59	1.45	0.13	87	14.94	1.28	0.14	2.08	.000
MLM(IF)	129	14.55	1.03	0.09	82	12.56	0.74	0.08	10.84	.000
MWM(IF)	132	10.07	0.74	0.06	82	8.72	0.70	0.08	0.03	.000
MLTF	143	10.46	1.01	0.08	92	9.59	0.80	0.08	5.27	.000
MLTSF	144	16.87	1.29	0.11	91	15.23	1.14	0.12	0.53	.000
WSF	147	8.56	1.02	0.08	93	7.36	0.71	0.07	1.28	.000
<b>TRAPEZOID</b>										
MH	144	18.21	1.55	0.13	96	16.29	1.10	0.11	3.07	.000
LDF	138	8.32	1.02	0.09	96	7.37	0.96	0.10	0.38	.000
LPS	142	15.03	1.23	0.10	95	13.45	1.01	0.10	4.17	.000
WDF	143	10.06	1.10	0.09	96	8.99	0.87	0.09	3.88	.000
MW	134	9.58	1.25	0.11	89	8.52	1.12	0.12	.00	.000
MLTF	140	14.89	1.05	0.09	98	13.11	0.92	0.09	2.53	.000

**Table 4. (continued)**

MWTF	139	9.12	0.79	0.07	99	7.92	0.79	0.08	0.05	.000
------	-----	------	------	------	----	------	------	------	------	------

**Table 5.** Univariate stepwise discriminant functions with single measurement and demarking points for those variables that produced accuracy levels of 80% or above.

Variable	Measurement	Unstandardized Coefficient	Constant	Demarking Point (mm)	Accuracy %
LUNATE	MW	0.815	-13.644	-0.2025	81.1
LUNATE	MWTF	1.51	-11.271	-0.203	82.7
LUNATE	HTF	1.273	-10.842	-0.2025	89.4
SCAPHOID	ML	0.532	-13.77	-0.1955	81.8
SCAPHOID	MW	0.986	-13.966	-0.241	90.8
SCAPHOID	MLRF	0.833	-13.989	-0.1995	90.0
SCAPHOID	MLCF	0.973	-13.989	-0.1415	80.3
SCAPHOID	MWCF	1.285	-13.377	-0.227	88.6
TRIQUETRAL	MLLF	1.477	-12.479	-0.19	81.7
TRIQUETRAL	MWLF	1.469	-10.844	-0.1805	82.9
TRIQUETRAL	MWHF	1.178	-12.361	-0.1645	80.3
CAPITATE	MH	0.622	-15.473	-0.13	81.2
CAPITATE	MLDB	0.755	-13.063	-0.1385	86.0
HAMATE	MH	0.71	-15.129	-0.1675	84.3
HAMATE	MWH	0.871	-12.345	-0.1595	82.8
HAMATE	MWDF	1.345	-13.887	-0.2035	80.4
HAMATE	HM(V)F	1.151	-11.921	-0.166	84.1



**Table 5. (continued)**

PISIFORM	WTF	1.067	-9.151	-0.1705	83.6
TRAPEZIUM	ML	0.676	-14.943	-0.197	82.7
TRAPEZIUM	MLM(I)F	1.073	-14.788	-0.238	85.3
TRAPEZIUM	MWM(I)F	1.384	-13.222	-0.2183	84.0
TRAPEZOID	MH	0.722	-12.589	-0.1385	80.0
TRAPEZOID	MLTF	0.975	-14.036	-0.157	80.8

**Table 6.** Multivariate stepwise discriminant function that produced over 80% classification accuracy.

Variable	Measurement	Unstandardized Coefficient	Constant	Demarking Point (mm)	Group Centroid	Accuracy %
LUNATE	MW	0.377	-17.253	-0.3145	M = 1.121 F = -1.75	92.2
	MWTF	0.64				
	HTF	0.721				
SCAPHOID	MW	0.332	-16.928	-0.3905	M = 1.091 F = -1.872	92.3
	MLRF	0.386				
	MWCF	0.54				
TRIQUETRAL	MW	-0.274	-15.353	-0.2835	M = 1.008 F = -1.575	88.6
	MLLF	0.747				
	MWLF	0.963				
	MWHF	0.524				
CAPITATE	MH	0.295	-18.116	-0.173	M = 0.864 F = -1.21	85.6
	MLDB	0.404				
	MWDB	0.348				
HAMATE	MWDF	0.33	-16.962	-0.2615	M = 0.947 F = -1.47	91.1
	HM(V)F	0.68				
	MWH	0.415				
PISIFORM	MH	0.446	-11.686	-0.1875	M = 0.705 F = -1.08	81.3
	HTF	0.678				

**Table 6. (continued)**

TRAPEZIUM	MLM(1F)	0.788	-16.443	-0.277	M = 0.923 F = -1.477	89.7
	MWM(1F)	0.582				
TRAPEZOID	MH	0.244	-17.115	-0.2265	M = 0.837 F = -1.29	84.7
	WDF	0.224				
	MLTF	0.425				
	MWTF	0.538				

**Table 7.** Male-female classification accuracy rates of the derived discriminant functions and cross-validated samples<sup>a</sup>.

Bone	Function	Male		Female		Total Correct	
		N	%	N	%	N	%
LUNATE	<b>MW</b>						
	Original	66/78	78.8	45/58	85.6	111	81.1
	Cross-Validated	66/78	78.8	45/58	85.6	111	81.1
	<b>MWTF</b>						
	Original	66/78	80.3	43/58	86.0	109	82.7
	Cross-Validated	66/78	80.3	43/58	86.0	109	82.7
	<b>HTF</b>						
	Original	67/78	86.5	43/58	93.5	110	89.4
	Cross-Validated	67/78	85.0	43/58	93.5	110	88.5
	<b>STEPWISE</b>						
	Original	65/78	90.8	44/58	94.3	109	92.2
	Cross-Validated	65/78	90.8	44/58	94.3	109	92.2
SCAPHOID	<b>ML</b>						
	Original	69/78	70.8	47/58	97.9	116	81.8
	Cross-Validated	69/78	70.1	47/58	97.9	116	81.4
	<b>MW</b>						
	Original	67/78	87.2	48/58	95.8	115	90.8
	Cross-Validated	67/78	87.2	48/58	94.7	115	90.4

**Table 7. (continued)**

	<b>MLRF</b>						
	Original	69/78	87.6	52/58	93.3	121	90.0
	Cross-Validated	69/78	87.6	52/58	93.3	121	90.0
	<b>MLCF</b>						
	Original	69/78	79.6	51/58	81.2	120	80.3
	Cross-Validated	69/78	79.6	51/58	81.2	120	80.3
	<b>MWCF</b>						
	Original	69/78	84.8	49/58	94.9	118	88.6
	Cross-Validated	69/78	84.1	49/58	94.9	118	88.1
	<b>STEPWISE</b>						
	Original	65/78	90.0	45/58	95.6	110	92.3
	Cross-Validated	65/78	90.0	45/58	94.4	110	91.8

**Table 7. (continued)**

<b>TRIQUETRAL</b>	<b>MLLF</b>						
	Original	68/78	78.7	47/58	86.2	115	81.7
	Cross-Validated	68/78	78.7	47/58	86.2	115	81.7
	<b>MWLF</b>						
	Original	67/78	81.2	48/58	85.3	115	82.9
	Cross-Validated	67/78	81.2	48/58	85.3	115	82.9
	<b>MWPF</b>						
	Original	66/78	77.9	46/58	83.7	112	80.3
	Cross-Validated	66/78	77.9	46/58	83.7	112	80.3
	<b>STEPWISE</b>						
	Original	63/78	86.5	43/58	91.8	106	88.6
	Cross-Validated	63/78	84.9	43/58	91.8	106	87.7
<b>CAPITATE</b>	<b>MH</b>						
	Original	68/78	77.2	52/58	86.4	120	81.2
	Cross-Validated	68/78	77.2	52/58	86.4	120	81.2
	<b>MLDB</b>						
	Original	64/78	83.6	47/58	89.4	111	86.0
	Cross-Validated	64/78	83.6	47/58	89.4	111	86.0
	<b>STEPWISE</b>						
	Original	62/78	83.1	46/58	89.0	108	85.6
	Cross-Validated	62/78	82.3	46/58	87.9	108	84.7

**Table 7. (continued)**

<b>HAMATE</b>	<b>MH</b>						
	Original	69/78	80.3	49/58	89.8	118	84.3
	Cross-Validated	69/78	80.3	49/58	89.8	118	84.3
	<b>MWH</b>						
	Original	69/78	81.0	51/58	85.1	120	82.8
	Cross-Validated	69/78	81.2	51/58	85.1	120	82.8
	<b>MWDF</b>						
	Original	62/78	76.6	45/58	85.6	107	80.4
	Cross-Validated	62/78	76.6	45/58	85.6	107	80.4
	<b>HM(V)F</b>						
	Original	56/78	82.0	39/58	87.2	95	84.1
	Cross-Validated	56/78	82.0	39/58	87.0	95	84.1
	<b>STEPWISE</b>						
	Original	53/78	87.6	37/58	95.9	90	91.1
Cross-Validated	53/78	86.7	37/58	93.2	90	89.4	
<b>PISIFORM</b>	<b>WTF</b>						
	Original	57/78	84.2	38/58	82.7	95	83.6
	Cross-Validated	57/78	84.2	38/58	81.3	95	83.1
	<b>STEPWISE</b>						
	Original	58/78	75.9	39/58	89.6	97	81.3
Cross-Validated	58/78	75.9	39/58	87.0	97	80.3	

**Table 7. (continued)**

<b>TRAPEZIUM</b>	<b>ML</b>						
	Original	64/78	82.0	40/58	83.8	104	82.7
	Cross-Validated	64/78	82.0	40/58	83.8	104	82.7
	<b>MLM(1F)</b>						
	Original	60/78	81.7	39/58	90.9	99	85.3
	Cross-Validated	60/78	81.7	39/58	90.9	99	85.3
	<b>MWM(1F)</b>						
	Original	62/78	82.9	39/58	85.7	101	84.0
	Cross-Validated	62/78	82.9	39/58	85.7	101	84.0
	<b>STEPWISE</b>						
	Original	60/78	86.6	38/58	94.7	98	89.7
	Cross-Validated	60/78	85.7	38/58	94.7	98	89.2



**Table 7. (continued)**

<b>TRAPEZOID</b>	<b>MH</b>						
	Original	66/78	77.9	47/58	81.9	113	80.0
	Cross-Validated	66/78	77.9	47/58	81.9	113	80.8
	<b>MLTF</b>						
	Original	64/78	78.9	48/58	83.3	112	80.8
	Cross-Validated	64/78	78.9	48/58	83.3	112	80.8
	<b>STEPWISE</b>						
	Original	63/78	84.0	46/58	85.7	109	84.7
	Cross-Validated	63/78	82.4	46/58	84.6	109	83.3

<sup>a</sup> In cross-validation, each case is classified by the functions derived from all cases other than that case.

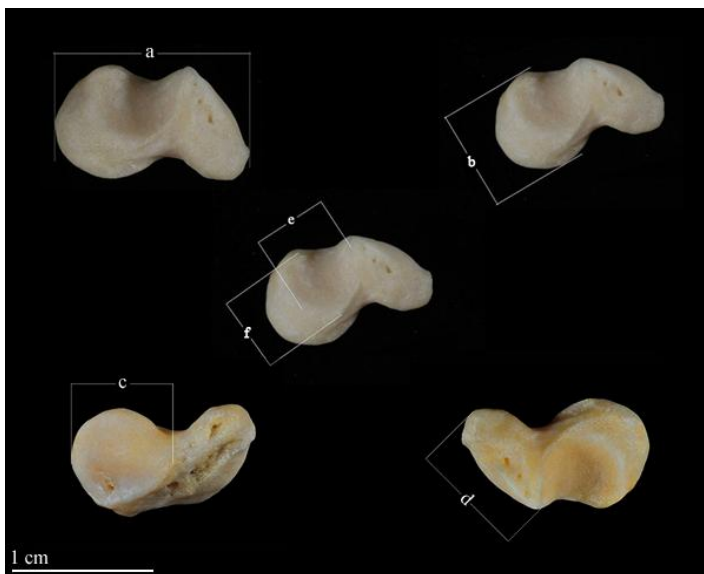
## **ANEXOS 2**

## **IMÁGENES**

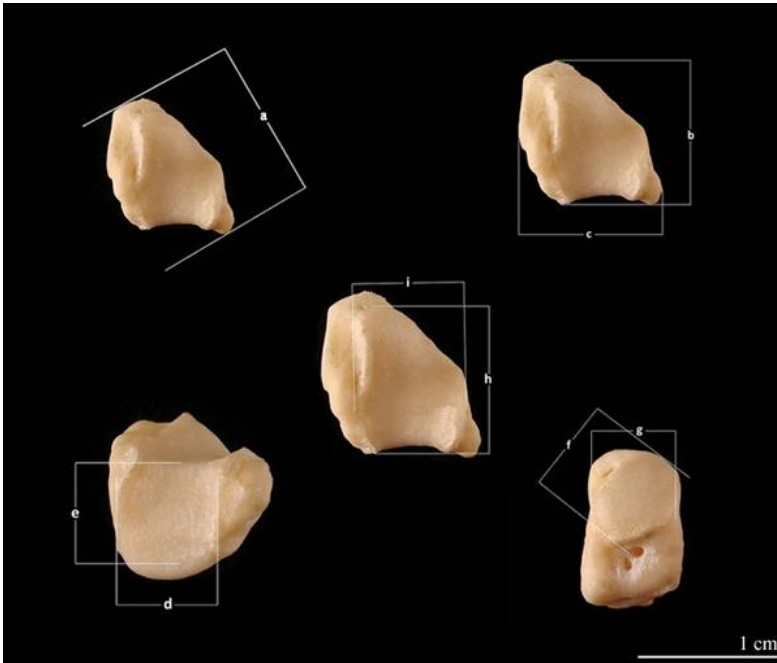
**Figure 1.** Lunate measurements



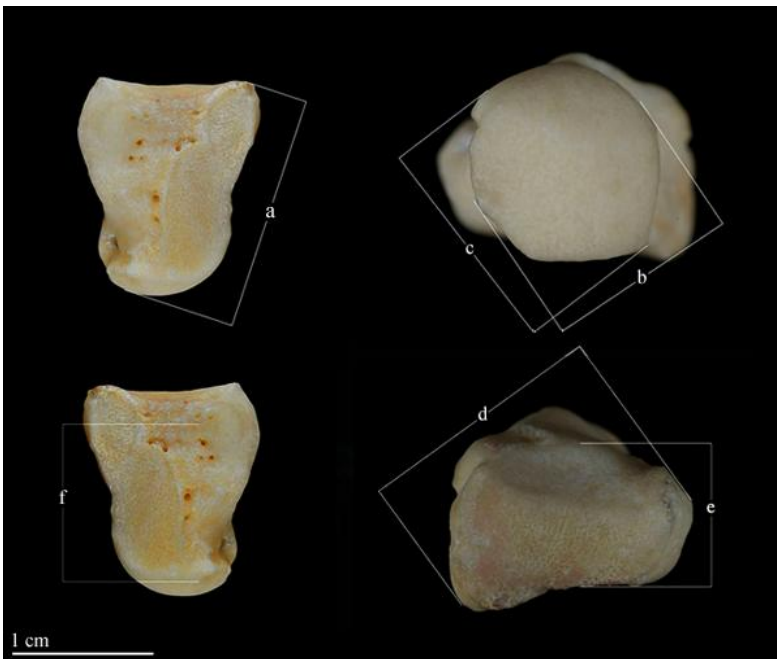
**Figure 2.** Scaphoid measurements



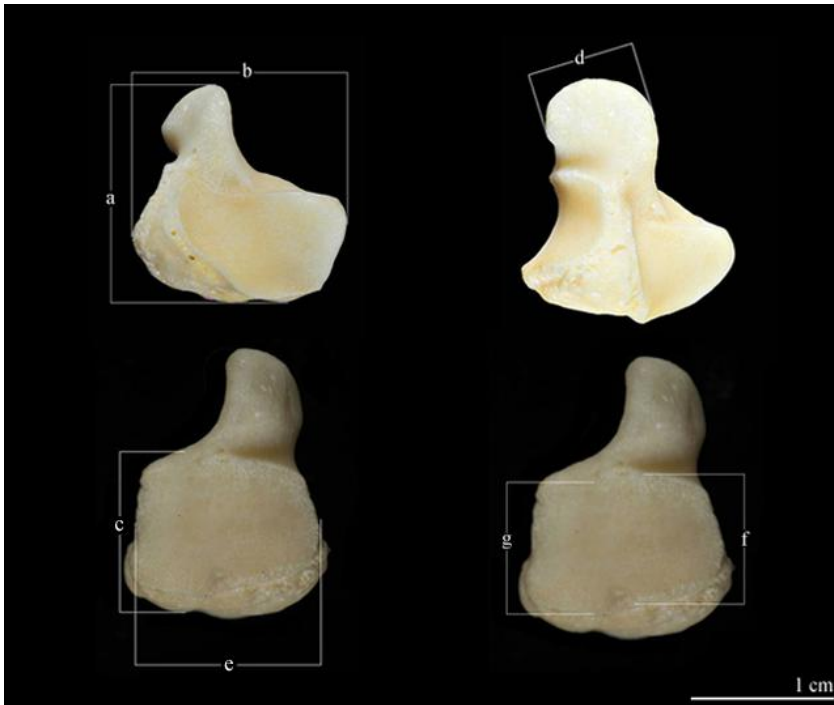
**Figure 3.** Triquetral measurements



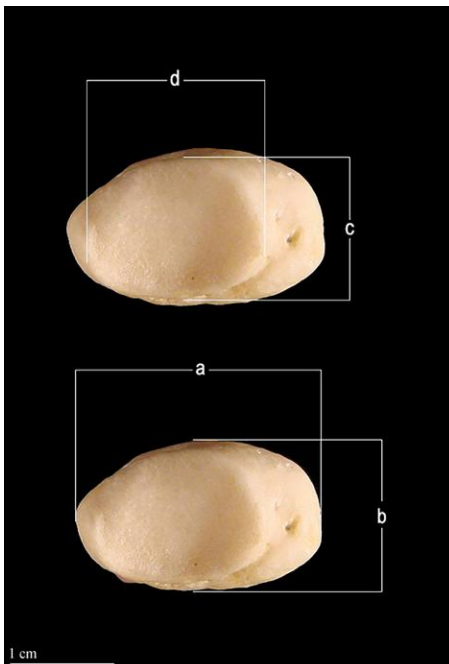
**Figure 4.** Capitate measurements



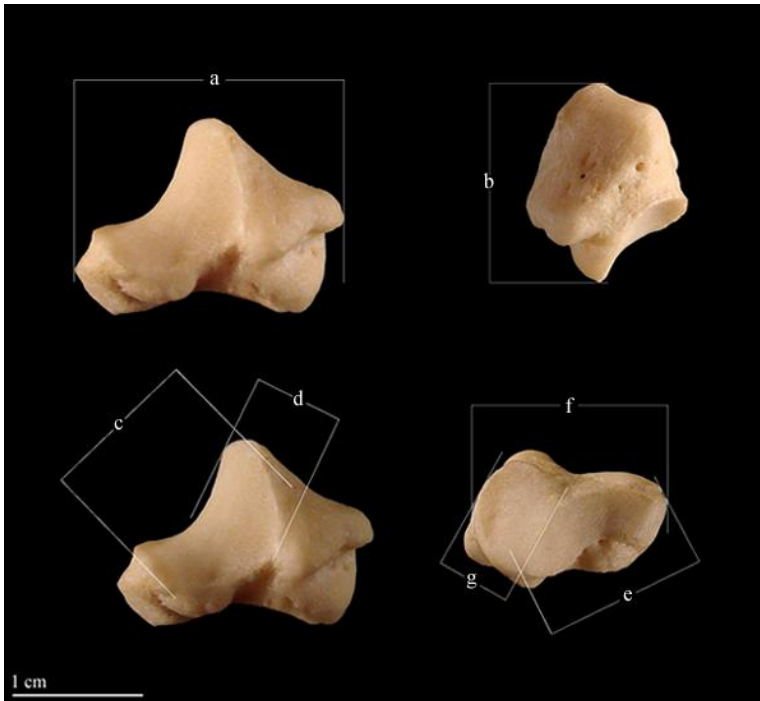
**Figure 5.** Hamate measurements



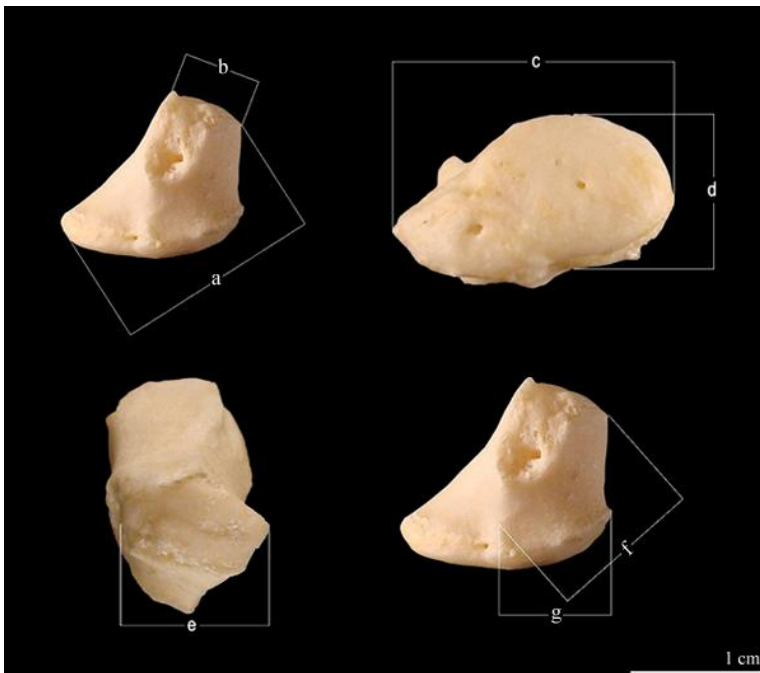
**Figure 6.** Pisiform measurements



**Figure 7.** Trapezium measurements



**Figure 8.** Trapezoid measurements





---

## **RESUMEN**





## RESUMEN

### Chapter 3.

Estimation of age at death is an unavoidable step in the process of human identification, both in forensic practice and in the anthropological and palaeopathological study of skeletal remains. In several cases, in which medical or demographic records are completely lacking, a reliable estimation of the age at death becomes very important. Skeletal remains from archaeological contexts suffer from several biasing factors such as post-mortem changes, taphonomy and various burial practices depending on age, sex and social status of the deceased persons. Currently, anthropological methods of age assessment reveal several possibilities of inaccuracy. Of the various parts of the body used in age estimation, teeth are the least affected by any taphonomic process. Although there are many dental methods for estimation of age at death, some of them are very complex and/or destructive and are not normally used in anthropology. However, study of the apposition of secondary dentine by examining peri-apical X-rays of canines is beginning to supply very interesting results (Cameriere *et al.*, 2006, 2007 a,b, 2009).

The aim of this work was to test Cameriere's method on a large sample of historical subjects from several cemeteries in Spain and Italy. The Spanish sample belongs to the medieval cemetery of La Torrecilla (Arenas del Rey, Granada) and is housed in the Laboratory of Anthropology, Faculty of Medicine, University of Granada. The Italian samples come from the medieval cemeteries of Comacchio (Ferrara) and Castel S. Pietro (Bologna).

In order to test the reliability of Cameriere's method, age estimations of canines were compared with the mean ranges of age of the most commonly applied anthropological methods such as tooth wear (Brothwell, 1979), changes in the pubic symphysis (Suchey and Katz, 1998; Todd, 1921) or the metamorphosis of the auricular surface of the ilium (Lovejoy *et al.*, 1985). Tests on our middle Ages cemeteries produced satisfactory results, indicating that Cameriere's method is a reliable tool in assessing age at death in skeletal remains of archaeological context.

#### **Chapter 4.**

Accurate age estimation has always been a problem for forensic scientists and apposition of secondary dentine is often used as an indicator of age. Cameriere *et al.* studied the pulp/tooth area ratio by peri-apical X-ray images of the canines, in order to observe the apposition of secondary dentine. The present study examines the application of this technique in a Mexican identified sample coming from the Department of Physical Anthropology of the INAH, at Mexico City. The main aim of this work is to test the reliability of this method in a skeletal sample of a specific population, different from the samples used for its development. The obtained regression model explained 96.2% of total variance ( $R^2 = 0.962$ ) with a standard error of estimate of 1.909 and a standard deviation of 1.947. These results demonstrate great reliability and that the age/secondary dentine relationship is not variable in this specific population.

## **Chapter 5.**

The aim of this study was to compare the accuracy of three methods for age estimation in children. These were the measurements of open apices in tooth roots (T), the ratio between the total area of carpal bones and epiphyses of the ulna and radius (HW) and the combined method (THW). The sample consisted of 288 Caucasian Italian children (152 boys and 136 girls) aged between 5 and 15 years. Accuracy was determined as the difference between estimated age and chronological age and absolute accuracy was assessed by analysing individuals' orthopantomograms and hand-wrist radiographs. Absolute accuracies were 0.41 year for girls and 0.54 year for boys with the THW method; for the HW method, 1.00 year for girls and 0.92 year for boys and for the T method, 0.62 year for girls and 0.71 year for boys. THW is the most accurate technique for age estimation in these children.

## **Chapter 6.**

Sex assessment is one of the first essential steps in human identification, in both medico-legal cases and bio-archeological contexts. Fragmentary human remains compromised by different types of inhumation or physical insults may frustrate the use of the traditional sex estimation methods, such as the analysis of the skull and pelvis. Currently, the application of discriminant functions to sex unidentified skeletal remains is steadily increasing. However, several studies have demonstrated that, due to variation in size and patterns of sexual dimorphism, discriminant function equations are population-specific. In this study, in order to improve sex assessment from skeletal remains

and to establish population-specific discriminant functions, the diagnostic values of the carpal bones were considered. A sample of 100 individuals (50 males and 50 females) of known sex and age was analyzed. They belong to a 20<sup>th</sup> century identified collection from the Municipal Cemetery of “San José”, Granada (Spain) and housed in the Laboratory of Anthropology, Faculty of Medicine, University of Granada (Spain). The age of the individuals ranged between 22 and 85 years. Between four and nine measurements of each carpal bone were performed. Discriminant function statistics showed sex assessment accuracy as high as 97.8%. The results suggest that carpal bones can be used for assessing sex in both forensic and bio-archaeological identification procedures.

### **Chapter 7.**

Sex assessment is one of the first essential steps in human identification, in both medico-legal cases and bio-archaeological contexts. Fragmentary human remains compromised by different types of burial or physical insults may frustrate the use of the traditional sex estimation methods, such as the analysis of the skull and pelvis. Currently, the application of discriminant functions to sex unidentified skeletal remains is steadily increasing. However, several studies have demonstrated that, due to variation in size and patterns of sexual dimorphism, discriminant functions are population-specific. In this study, in order to improve sex assessment from skeletal remains and to establish population-specific discriminant functions, the diagnostic values of the carpal bones were considered. A sample of 136 individuals (78 males, 58 females) of known sex and age was analyzed. They belong to a contemporary identified collection from the

Laboratory of Physical Anthropology, Faculty of Medicine, UNAM (Universidad Nacional Autónoma de México, Mexico City). The age of the individuals ranged between 25 and 85 years. Between four and nine measurements of each carpal bone were taken. Independent t-tests confirm that all carpals are sexually dimorphic. Univariate measurements produce accuracy levels that range from 61.8% to 90.8%. Classification accuracies ranged between 81.3% and 92.3% in the multivariate stepwise discriminant analysis. In addition, intra- and inter-observer error tests were performed. These indicated that replication of measurements was satisfactory for the same observer over time and between observers. These results suggest that carpal bones can be used for assessing sex in both forensic and bio-archaeological identification procedures and that bone dimensions are population specific.





## **DISCUSIÓN**





## 8. DISCUSIÓN

### 8.1 Estimación de la edad

La estimación de la edad sigue siendo el “talón de Aquiles” de la Antropología Física y Forense (Cunha *et al.*, 2009). De hecho, uno de los problemas más candentes es la falta de acuerdo, entre los investigadores y especialistas, sobre la mejor metodología para la estimación de la edad. En realidad, no existe el mejor método en absoluto sino que cada uno se puede considerar adecuado según la situación en que se esté aplicando (Schmeling *et al.*, 2007, 2008). En estos últimos años, uno de los objetivos más importantes de algunas sociedades forenses internacionales, como el FASE (Forensic Anthropology Society of Europe), un subgrupo de lo IALM (International Academy of Legal Medicine), ha sido promover actividades y reuniones con el fin de abordar el asunto y buscar soluciones adecuadas (Baccino, 2005). Mediante la formación de personal forense y la publicación de protocolos de actuación, se ha intentado ofrecer nuevas herramientas para llevar a cabo el proceso de identificación humana (Cunha *et al.*, 2009).

La estimación de la edad es esencial tanto en cadáveres y restos humanos recientes y antiguos como también en vivos. En el primer caso, el objetivo es describir un perfil biológico *postmortem* fiable y comparable con los datos *antemortem* disponibles de la persona desaparecida. Con respecto a los individuos vivos, en cambio, la prioridad es resolver situaciones importantes desde el punto de vista legal o civil: adopción, imputabilidad o explotación sexual en el caso de menores, y edad de jubilación, o casos similares de identificación de personas sin documentos de identidad, cuando se trata de individuos

adultos. De todos modos, para facilitar las tareas de las autoridades judiciales, es imprescindible proporcionar un dato fiable de la edad del individuo, con el error de estimación y el grado de precisión de la metodología adoptada. A diferencia del contexto arqueológico, donde los objetivos y el material analizado son diferentes (efectos tafonómicos, estado de conservación heterogéneo, etc.), en ámbito forense, el papel del juez y el tiempo a disposición siguen jugando un papel determinante.

El núcleo del problema sigue siendo el mismo: tanto en Arqueología como en Antropología Forense, el único dato que se puede conseguir es la edad biológica del individuo analizado que nunca coincidirá con el dato de la edad cronológica del mismo. Además, cuanto más viejo es el individuo, más significativo será el error de estimación y menos fiable el método elegido. No hay que olvidar tampoco los problemas estadísticos añadidos, como por ejemplo el origen de la muestra que se ha utilizado para desarrollar la técnica. En muchas ocasiones, los métodos desarrollados para una población no se pueden aplicar en otros grupos humanos de distintas zonas geográficas o a restos de individuos hallados en contextos muy antiguos.

En las últimas décadas, se han desarrollado numerosos métodos para la estimación de la edad, tantos en adultos como en subadultos (Cunha *et al.*, 2009). Muchos de ellos están basados en el análisis óseo y dental y han ido proporcionando resultados diferentes conforme al contexto de aplicación. Sin embargo, es evidente que para que una técnica sea fiable y aplicable en varios contextos, es necesario que cumpla los siguientes requisitos: 1) debe de ser conocida por la comunidad internacional a través de la publicación en el sistema de revisión por pares (peer-reviewed journals); 2) debe de proporcionar

información clara acerca de la precisión y del error de estimación; 3) debe de ser lo suficientemente precisa como para poder ser aplicada en contextos forenses; 4) en casos de individuos vivos debe de cumplir normas éticas y legales de actuación (Cunha *et al.*, 2009). No obstante, Cunha *et al.* (2009) hacen hincapié en el hecho que, muy a menudo, el mejor método no es aquel con el error menos amplio sino aquella técnica cuya fiabilidad y reproducibilidad hayan sido testadas en numerosas y distintas muestras, que sea adecuada para un contexto forense específico, y que, sobre todo, sea fácil de aplicar, rápida, económica y no destructiva.

## **8.2 Estimación de la edad dental en adultos**

En gran parte de los casos forenses, en los que hay que realizar una identificación, el objetivo principal es la reconstrucción de un perfil biológico adecuado, para realizar una identificación positiva mediante la comparación de la información disponible *postmortem* con los datos conocidos *antemortem* de los individuos estudiados. En estas situaciones, la estimación de la edad de muerte se convierte en un factor muy importante por razones económicas, financieras, administrativas, y psicológicas (Baccino y Schmidt, 2006). La mayoría de las técnicas utilizadas se basa en el examen de aquellas estructuras óseas y dentales más frecuentemente sujetas a envejecimiento (Cunha *et al.*, 2009). A este propósito, el método elegido y el error proporcionado son muy relevantes a la hora de estimar correctamente la edad. Por ejemplo, si la técnica brinda un rango de edad de entre 30 y 45 años, y el individuo en cuestión tiene 47, el método supondrá la exclusión de esa persona del grupo de probables identificados. Con lo cual, es necesaria la estandarización de los métodos de estimación

conforme a los casos analizados, según se trate de cadáveres esqueletizados, en avanzado estado de descomposición, o carbonizados.

En cambio, en los individuos vivos, la situación se complica bastante más. En los últimos años, debido sobre todo a la llegada de personas procedentes de Estados fronterizos, se ha hecho más común la exigencia, para fines legales, de estimar la edad de estos individuos cuya identidad es a menudo desconocida. Por ejemplo, uno de los temas forenses más trascendentes es la estimación de la edad pensionable. En el 1889, el Primer Ministro Alemán Bismarck inauguró la primera ley que garantizaba una pensión para los trabajadores públicos. En el 1934, en EE.UU., el Sistema de Seguridad Social, promovido por F.D. Roosevelt, ofrecía unos beneficios económicos a los retirados y desempleados del país. Hoy en día, todos los países desarrollados poseen un sistema de pensión que establece la edad de jubilación de la mayoría de las personas y garantiza ayudas económicas mensuales a los retirados (Cameriere y Ferrante, 2010). Los parámetros pueden variar según el país, pero la norma común es la edad pensionable, es decir, una persona, para que pueda percibir un beneficio económico, debe de tener una determinada edad (Cameriere y Ferrante, 2010; Cattaneo *et al.*, 2008).

Cuando se trata de personas sin documentación o con un certificado de nacimiento incorrecto, es aún más complicado estimar la edad para fines legales como la edad pensionable. De hecho, todos los métodos conocidos se pueden aplicar exclusivamente en cadáveres porque se basan en el estudio de estructuras óseas y dentales y son destructivos. Por lo tanto, por motivos éticos, no es posible utilizarlos para estimar la edad de personas vivas. Además, por las mismas razones, nuevos métodos desarrollados en estos últimos años, tales

como la racemización del ácido aspártico, suponen una destrucción de los tejidos dentales, haciéndolo éticamente inservibles para estos usos. Es por eso fundamental la aplicación de técnicas no-invasivas, rápidas y baratas para garantizar la integridad de la muestra, la celeridad de los estudios en respuesta a las exigencias de los juzgados, y la facilidad de uso para todos los especialistas forenses. Por lo tanto, a la hora de elegir el método, hay que considerar varios factores, tales como el tipo de diente, la posibilidad de modificar o destruir los restos dentales, el tipo de equipo con el que se cuenta, las informaciones disponibles acerca del individuo, el nivel de preparación de los investigadores y, finalmente, los requisitos de precisión del método (Cattaneo, 2007).

### **8.2.1 La técnica**

En los trabajos presentados sobre el análisis de la dentina secundaria mediante radiografía peri-apical del canino, se ha demostrado, ante todo, que la técnica es económica porque no es necesario recurrir a equipos costosos o muy grandes. Además, el uso de un aparato portátil podría garantizar rapidez y sencillez en cualquier contexto forense y arqueológico. De hecho, la batería recargable 14.4 V nichel-cadmio representa seguramente un avance y una gran ventaja en el desarrollo de las tareas de análisis: con una sola recarga es posible efectuar entre 100 y 700 radiografías. Sin embargo, hay que destacar otra característica muy importante de este aparato: la presencia de un disco-escudo de retrodispersión que reduce las radiaciones hasta un 50%. En un estudio realizado por Goren *et al.* (2008), se ha llevado a cabo un test para comprobar la cantidad de radiaciones emitidas por el aparato portátil Nomad<sup>TM</sup> (Aribex, Orem, UT), utilizado actualmente en muchos contextos forenses (Turner *et al.*, 2005). Las pruebas realizadas

demonstraron que se trata de una herramienta muy segura tanto para el personal forense como para los mismo sujetos. Además las dosis de radiación detectadas están por debajo de los niveles recomendados (Masih *et al.*, 2006).

El método de Cameriere *et al.* (2007 a,b) no supone ningún corte histológico del diente ni su destrucción para tomar muestras. La metodología no es difícil de aprender y tanto la técnica radiológica como el uso del programa de procesado de imágenes (Adobe® Photoshop®) son tan sencillos que no es necesaria una preparación previa para llevar a cabo su aplicación (Cameriere *et al.*, 2007 a,b).

Con respecto a la técnica radiológica, se ha utilizado tanto la radiología digital directa como la convencional, mediante revelado. Los resultados han sido muy interesantes en ambos casos. En las muestras arqueológicas, el software de digitalización directa ha permitido seguramente agilizar el estudio, sin pasar por la etapa de revelado de la imagen que representa un proceso largo y costoso. Sin embargo, en el caso de la muestra de la cárcel mexicana de Lecumberri (Ciudad de México, D.F.), a pesar de las mayores molestias a la hora de revelar las placas radiográficas, los resultados han sido más que satisfactorios. Por lo general, en ámbito forense, las ventajas de la técnica digital son muchas pese a que la comunidad odontológica tome sus precauciones respecto a su utilización como prueba clínica en la investigación experimental y como documento legal.

El mayor beneficio de la radiografía digital se encuentra en que se evita el proceso de revelado. Mientras que en el proceso convencional de revelado y fijación se requiere imprimir un negativo o una placa radiográfica, lo que puede variar entre minutos, en el caso de las radiografías, hasta horas o días, en el caso de las imágenes

fotográficas, las imágenes digitales se obtienen en fracciones de segundos. Esto puede significar una diferencia entre la obtención o no de una buena imagen. Muchas veces se toma una diapositiva de un diente o una imagen patológica antes de proceder a tratarla clínicamente y luego al revelarla nos damos cuenta de que la imagen no salió como lo queríamos, ya sea por luminosidad, enfoque o cualquier otra razón imputable ocasionalmente al proceso de revelado. En la radiología digital el resultado puede ser analizado de inmediato, editado, ampliado: puede aumentarse o disminuirse el contraste y la luminosidad para obtener la mejor imagen posible del objeto en estudio y preservarla de manera electrónica o impresa (Marti-Bonmati, 2002).

De hecho, una de las principales ventajas de la utilización de sistemas radiográficos digitales consiste en la posibilidad de manipular la imagen mediante la aplicación de determinados algoritmos de procesado, contribuyendo por tanto, de una manera positiva a la valoración de ciertos aspectos diagnósticos. Así, se utilizan técnicas de Procesado Digital de Imagen (PDI), tales como "pseudocolor", ecualización del histograma, transformaciones no lineales en la escala de grises y filtros espaciales, para incrementar la habilidad del observador al apreciar información que puede no ser obvia debido al estrecho rango dinámico de información resultante de la imagen radiológica. Las principales ventajas de la técnica digital son las siguientes: reducción del tiempo de exposición (disminuyendo la cantidad de radiación recibida por el individuo); facilidad para la obtención de las imágenes y capacidad para manipulación de las mismas; posibilidad de realizar medidas por medio de software adecuados; reducción de tiempo entre la exposición y la obtención de la imagen (no requieren procesamiento con sustancias químicas);



almacenamiento de la documentación por tiempo indeterminado (Brian y Williamson, 2007).

Por otro lado, los sensores de radiografía digital directa poseen las siguientes desventajas: son menos sensibles y de menor calidad, pero al ser fáciles de fabricar son más baratos; son muy sensibles al ruido de imagen, tienen poca sensibilidad; el área activa de estos sensores es más pequeña (Farman y Farman, 2005; Martins *et al.*, 2003). Hay que mencionar también que la facilidad con la que las imágenes digitales y digitalizadas pueden ser modificadas, despierta el temor de que puedan ser alteradas para actos ilícitos. Esta desconfianza podría crear una sombra de dudas sobre el uso de las radiografías digitales como documento válido en el respaldo de un trabajo experimental o como pruebas de aspecto legal en conflictos de tipo judicial (Beda *et al.*, 2005).

### **8.2.2 El canino**

El canino representa el diente más apto por los siguientes motivos: se conserva con más frecuencia, bien en restos antiguos o actuales, porque posee una raíz muy grande y resistente que le permite permanecer más tiempo en su alveolo; tiene la cavidad pulpar más voluminosa que la de los otros dientes unirradiculares; es el diente más presente en los individuos seniles; se desgasta muy poco y no sufre con intensidad los ataques de la caries, debido a la morfología de las cúspides de la corona (Cameriere *et al.*, 2007 a,b). Como se ha podido comprobar, se descartaron aquellos caninos afectados por patologías muy severas (caries, infecciones periapicales, cálculo dental) o sarro, y por un desgaste muy marcado de la corona. De hecho una lesión cariosa de gran tamaño o un desgaste severo que afecte la dentina o la cavidad

pulpar, impedirían tomar las medidas adecuadas de la corona y de la pulpa del diente. De hecho, la dentina, a diferencia del esmalte, es un tejido vital y dinámico, circunstancias que le permiten modificar su microestructura y composición como respuesta a procesos fisiológicos (edad, atricción), o patológicos, tales como la erosión, la abrasión, o la caries (Ceballos García, 2004). Ante estas agresiones, el complejo dentino-pulpar reacciona con respuestas muy diferentes. Los procesos que condicionan ciertas patologías dentarias como atricción, abrasión y erosión, y la caries entre otros, son los responsables de una serie de cambios dentinarios que dificultan o disminuyen la permeabilidad dentinaria. Por cualquiera de estos procesos, el odontoblasto tiende a retroceder, originando una formación conocida como dentina reparativa o terciaria que en imágenes radiográficas no se podría distinguir de la dentina secundaria fisiológica.

### **8.2.3 La cámara pulpar y la dentina secundaria**

En estos últimos años, se han analizado algunos cambios histológicos y fisiológicos de los tejidos del organismo, que ocurren con el envejecimiento, como indicadores para la estimación de la edad biológica. Los tejidos dentarios no escapan a la influencia de estos cambios, que se presentan tanto en su estructura interna como externa. Entre los cambios externos se encuentran la retracción gingival, la reabsorción radicular, el cambio de color, la aposición de cemento y la caries. Por su parte, los cambios en la composición química, la pérdida de agua de la dentina, la aposición de dentina secundaria, la transparencia radicular y la racemización de aminoácidos son cambios regresivos que se presentan en la parte interna de la estructura dentaria (Bang, 1989).

La aposición de dentina secundaria se produce mediante un proceso fisiológico conocido: la pulpa vital sigue depositando dentina en las paredes de la cámara pulpar durante toda la vida del individuo, de tal forma que el volumen que ocupa disminuye hasta que, en edades avanzadas, puede quedar reducida a un pequeño espacio de tejido en el canal radicular. Los depósitos principales de dentina secundaria se encuentran en toda la periferia de la cámara pulpar y alcanzan mayor espesor en su suelo, techo y paredes (Gómez de Ferraris y Campos Muñoz, 2002).

Los resultados de estos estudios demuestran que existe una relación inversa entre la aposición de dentina secundaria, expresada de manera indirecta a través del análisis métrico de la cámara pulpar y del conducto radicular, y la edad de los individuos de las muestras estudiadas. Estudios realizados en otros dientes, mediante técnicas de visiografía digital y tomografía computarizada, han demostrado esta relación también en otros dientes como el incisivo y el premolar (Aboshi *et al.*, 2000, 2010; Someda *et al.*, 2009; Vandervoort *et al.*, 2004). Murray *et al.* (2002) demostraron que la dentina secundaria se deposita en los distintos dientes con un ritmo diferente conforme a la edad del individuo. Además, se ha comprobado que existe una mayor variabilidad en la estimación de la edad, en las etapas madura y senil, a raíz de los cambios hormonales debidos a la menopausia. En las mujeres menopáusicas y osteoporóticas pueden aparecer cambios degenerativos en el periodonto y en las inserciones del ligamento periodontal. Sin embargo, la pulpa queda protegida de los fenómenos generales de desmineralización que afectan al hueso alveolar, con pérdida de densidad ósea (Elders *et al.*, 1992; Ship *et al.*, 1991; Von Wowern *et al.*, 1994). Tsurumachi *et al.* (2008) estudiaron 32 dientes

unirradiculares sin lesiones cariosas de individuos de edad comprendida entre 9 y 62 años. El principal objetivo era observar, mediante Microscopía Electrónica de Barrido (SEM), los cambios morfológicos de la dentina en las paredes de la cámara pulpar según las distintas edades. Se pudo comprobar la presencia de varias estructuras de calcificación (calcosferitas) que, según se tratase de individuos jóvenes o ancianos, cambiaban su estructura y disposición. En futuros estudios, mediante el análisis de muestras más completas, se podrán averiguar los patrones de deposición de la dentina en todos los dientes unirradiculares y en todos los grupos de edad. Para llevar a cabo el mismo análisis en dientes plurirradiculares, será preciso recurrir a equipos de Tomografía Computarizada para estudiar el volumen del diente y los cambios de los tejidos acorde a la edad del individuo.

#### **8.2.4 El canal radicular de los dientes antiguos**

Los cambios *postmortem* son procesos complejos que varían mucho de individuo a individuo y dependen de condiciones ambientales tales como la temperatura, la humedad relativa, la exposición al sol y la acidez del terreno. Varios estudios de Antropología Forense han contribuido a que comprendamos cómo se desarrolla el proceso de descomposición y esqueletización y en qué medida puede verse acelerado o retardado por distintos factores (Krogman e Işcan, 1986). Cuando la temperatura y la humedad son muy elevadas, se produce una proliferación de gusanos y larvas de insectos que aceleran el proceso de descomposición del cadáver. En cambio, cuando se producen temperaturas de frío extremo o de aridez extrema, los fluidos corporales desaparecen por evaporación, dando

lugar a una momificación natural de los tejidos blandos e inhibiendo la actividad de animales y bacterias (Bass, 1987).

En contextos arqueológicos, la conservación de los restos óseos y dentales depende de numerosos factores, físicos, químicos y biológicos. Estos pueden variar de cementerio a cementerio e incluso entre dientes del mismo individuo (Sponheimer y Lee-Thorp, 1999). La preservación de los restos no está directamente relacionada con el tiempo de enterramiento sino que sólo se puede considerar parcialmente dependiente del tiempo transcurrido desde que tuviera lugar el enterramiento (Wang y Cerling, 1994). La edad, el sexo y las características físicas de un individuo pueden influenciar directamente los procesos diagenéticos durante el enterramiento.

¿Cómo reaccionan los tejidos dentales de esqueletos antiguos en suelos cuyas características químicas se desconocen? ¿La dentina y la pulpa pueden resultar afectadas por los procesos diagenéticos normales? ¿Qué puede condicionar la conservación de huesos y dientes, enterrados durante siglos o milenios en suelos de distinta acidez y composición química? ¿Pueden los métodos de estimación de la edad dental ser eficaces también en restos antiguos? Las proteínas, como el colágeno, desaparecen más lentamente que las sustancias grasas de hueso y dientes e incluso, en ciertas condiciones como cuando el suelo está congelado o si no hay aire y bacterias, pueden permanecer durante decenas de millares de años.

En los escasos estudios llevados a cabo sobre este tema, se ha comprobado, por ejemplo, que los métodos basados en el análisis de la transparencia radicular no funcionan en dientes antiguos, debido a la frecuente presencia, en la raíz del diente, de depósitos minerales (dentina calcárea) que impiden la valoración de este fenómeno

(Megyesi *et al.*, 2006; Kvaal y During, 1999; Sengupta *et al.*, 1999). Chandler y MacGregor Fyfe (1997) estudiaron 43 cráneos procedentes de un yacimiento de hace 4000 años de Tailandia Central, para analizar radiográficamente los cambios ocurridos en la cámara pulpar de los dientes. Mediante Microscopía Electrónica de Barrido (SEM), fue posible observar la presencia de calcificaciones en la pulpa, desarrolladas *postmortem* y debidas a los depósitos de conchas abundantes en las sepulturas. En relación a otros métodos, tanto la racemización del ácido aspártico (Griffin *et al.*, 2009) como el cotejo de los anillos de cemento radicular (Roksandic *et al.*, 2009) han mostrado un error de estimación más alto en muestras procedentes de yacimientos arqueológicos de distintas épocas, sobre todo neolíticos, mesolíticos y medievales.

Mediante la aplicación del método de Cameriere *et al.* (2006c, 2007a) en dos muestras de época medieval, se quiso, de alguna forma, poner a prueba su efectividad. Las muestras no son muy antiguas pero se trata de restos enterrados en suelos cuya acidez hubiera podido afectar la integridad de la cámara pulpar. Se realizaron las radiografías peri-apicales de cada canino para comprobar la presencia de “dentina calcárea” (Sengupta *et al.*, 1999). Sin embargo, en las radiografías examinadas, al observar precisamente la cavidad pulpar, no se detectó ninguna traza de minerales o calcificaciones que obstruyeran el canal de la raíz del diente.

Este aspecto tendrá que ser valorado atentamente en futuras investigaciones de restos óseos de yacimientos arqueológicos. Morse *et al.* (1993) estudiaron las medidas del canal radicular en las radiografías peri-apicales de los incisivos mandibulares de 500 individuos pertenecientes a distintos grupos de edad. Se demostró una correlación

estadísticamente significativa entre la edad y el tamaño de la cámara pulpar. Luna (2006), más recientemente, analizó mediante radiografías peri-apicales 132 incisivos, caninos y premolares sin patologías, procedentes del cementerio argentino de Chenque I (La Pampa, 1030-370 A.P.). Los resultados obtenidos confirmaron la validez de la metodología, la buena correlación entre edad cronológica y edad dental estimada, y la ausencia de cualquier alteraciones tafonómicas importantes en los dientes de estos individuos.

### **8.2.5 La variable sexo**

Los resultados de las dos muestras analizadas demuestran que el sexo no tiene influencia alguna en la estimación de la edad de estos individuos, cuando se aplicó el método de Cameriere *et al.* (2006, 2007). Ello termina de corroborar los estudios previos (Cameriere *et al.*, 2006, 2007 a,b, 2009) donde se estableció que el dimorfismo sexual no hace que varíe el comportamiento de los parámetros relacionados con la edad cronológica. Esto supone una ventaja con respecto a otros métodos morfológicos en los que el dimorfismo sexual desempeña un papel determinante. De hecho, los cambios en la sínfisis púbica, en la faceta auricular del ilion, en el extremo esternal de la cuarta costilla y en las cabezas de húmero y fémur son dependientes del sexo del individuo (Suchey y Katz, 1998).

Con respecto a otros métodos de estimación de la edad dental, se ha podido comprobar que es oportuno considerar la variable sexo para obtener resultados más fiables. Por ejemplo, cuando Prince y Ubelaker (2002) aplicaron la técnica de Lamendin *et al.* (1992) demostraron que el sexo es importante para conseguir resultados más precisos. A pesar de eso, González-Colmenares *et al.* (2007) no

encontraron dimorfismo sexual para las variables utilizadas en la estimación de la edad. Sin embargo, los mismos investigadores se percataron de los mejores resultados en la muestra española aplicando diferentes fórmulas para cada sexo. Otras técnicas, como la valoración de los anillos de cemento radicular, han demostrado un error más alto en los grupos de mujeres debido probablemente a la mayor cantidad de hormonas durante algunos momentos de la vida (menarquía, embarazo, nacimiento y menopausia) que podrían alterar la síntesis del cemento y su mineralización en la dentina (Kagerer y Grupe, 2001; Wittwer-Backofen *et al.*, 2009).

### **8.3 La edad de los subadultos en el ámbito forense**

La estimación de la edad en individuos vivos se realiza cada vez con mayor frecuencia en relación con hechos criminales (Prieto, 2004). Si existen dudas respecto a la edad de un sospechoso de un delito, se hace necesaria la estimación forense de la edad, a fin de verificar si la persona en cuestión ha alcanzado la edad de responsabilidad penal y, por tanto, si es necesaria la aplicación de la legislación penal de los adultos. En estos casos el reconocimiento se plantea con respecto a dos edades con repercusión legal: los dieciocho años que el Código Penal español (L.O. 10/1995) marca como límite para la responsabilidad criminal; y los 14 años, considerados en la Ley Orgánica 5/2000, de 12 de enero, reguladora de la responsabilidad penal de los menores (Prieto, 2004). La Ley de Enjuiciamiento Criminal (LECr), en su artículo 375, establece que: "En los casos en los que no se pueda acreditar la edad del procesado mediante inscripción de nacimiento ni partida bautismal, se suplirá el documento por informe que acerca de la edad del procesado diesen los médicos forenses o los nombrados por el Juez".



Otra de las situaciones que plantea la necesidad de efectuar un diagnóstico forense de la edad es la de los inmigrantes menores no acompañados. Las disposiciones de la legislación española, que conceden el disfrute de beneficios en materia de salud y educación, residencia temporal en España y opción a un permiso de trabajo, están vinculados a la edad. La Ley Orgánica 4/2000, sobre derechos y libertades de los extranjeros en España y su integración social, y el Reglamento que la desarrolla (R.D. 864/2001) establecen que (Art. 32): "En los supuestos en que los Cuerpos y Fuerzas de Seguridad localicen a una persona indocumentada, respecto a quien no pueda ser establecido con exactitud si es mayor o menor de edad, lo pondrán en conocimiento de los Juzgados de Menores para la estimación de la identidad, edad y comprobación de las circunstancias personales y familiares" a fin de resolver sobre su retorno a su lugar de origen o permanencia en España (L.O. 4/2000 de 11 de enero). Así mismo, se establece en el Art. 62.1 que: "Se pondrá el hecho en conocimiento inmediato del Ministerio Fiscal, que dispondrá la estimación de su edad, para lo que colaborarán las instituciones sanitarias oportunas que, con carácter prioritario y urgente, realizarán las pruebas necesarias".

A partir de estos elementos, resulta obligatoria la adopción de criterios científicos que permitan resolver la pericia médica de la forma más correcta. A este propósito, es preciso destacar, en primer lugar, la discrepancia de criterios entre el concepto de edad para la Administración, que demanda un diagnóstico en términos de edad cronológica, algo que sólo será posible si se dispone de documentación acreditativa fiable, y para la Medicina, que tan sólo puede aportar diagnósticos en términos de edad biológica o de desarrollo físico (Prieto, 2004). El diagnóstico médico no debe plantearse, por tanto,

sino como una prueba complementaria más en la estimación de la edad, expresando de manera clara los límites para cada una de las técnicas utilizadas, y valorando la armonía o discrepancia del conjunto de elementos de juicio (Bañón, 2003).

Los criterios seguidos en el ámbito internacional, sobre la aplicación con carácter oficial de estas técnicas, son dispares. Por un lado, en Europa, el Grupo Alemán de Estudio para la Determinación Forense de la Edad (Arbeitsgemeinschaft für Forensische Alterdiagnostik der Deutschen Gesellschaft für Rechtsmedizin) propone el examen combinado de la maduración física, ósea y dental, estos dos últimos mediante el uso de la exploración radiológica (German interdisciplinary working group for age diagnostics, 2001). Por otra parte, coincidiendo con este fenómeno, diversos países han revisado sus métodos de estimación, y en algunos casos, han elaborado protocolos de actuación basados en rigurosos fundamentos científicos que pueden servir de guía en la actuación de los profesionales de las disciplinas forenses.

### **8.3.1 El método combinado para la estimación de la edad**

Las dificultades que supone el diagnóstico de la edad, y las potenciales fuentes de evaluación, hacen necesaria la elaboración de protocolos comunes de actuación, basados en las evidencias científicas, que unifiquen los criterios a seguir (Prieto, 2004). Actualmente, para la estimación de la edad en individuos infantiles y juveniles, se utilizan principalmente la mineralización y la erupción dental (Demirjian *et al.*, 1973; Ubelaker, 1989; Veschi y Facchini, 2002), la sinostosis de los centros secundarios de osificación como los huesos del carpo de la mano (Roche *et al.*, 1988; Scheuer y Black, 2000), y las curvas de

crecimiento. Según Cunha *et al.* (2009), la comparación de métodos dentales y óseos es a menudo de gran importancia, para averiguar la presencia de posibles discrepancias y diferencias entre los sexos, debidas a cierto retraso en el desarrollo de los chicos con respecto a las chicas. Según Schmeling *et al.* (2007), estos métodos deberían de utilizarse en combinación para conseguir una precisión mayor y para detectar eventuales desórdenes en el crecimiento del individuo.

El 7 de octubre de 2010, el “Grupo de Trabajo sobre Determinación Forense de la Edad de los Menores Extranjeros no acompañados” se reunió en una jornada organizada por la Defensora del Pueblo (e.f.), en Madrid, para evaluar el estado actual de la estimación forense de la edad en menores no acompañados en España, ante la necesidad de armonizar la actividad médico-legal en esta materia. Se elaboró, tras esta reunión, un documento de consenso de buenas prácticas en esta materia, refrendado por una serie de conclusiones aprobadas por todos los asistentes (Garamendi *et al.*, 2010; Bustos *et al.*, 2011). Una de aquellas conclusiones fue la siguiente: “La estimación de la edad en menores no acompañados por medio de la estimación de la madurez ósea y la mineralización dental es un método sujeto a grandes márgenes de error. Sin embargo, en ausencia de otros elementos probatorios documentales, y utilizada adecuadamente, es la metodología más fiable de que se pueda disponer”. No obstante, en estos últimos años, además de los métodos cualitativos convencionales, se ha ido investigando la posibilidad de reducir el error de estimación mediante el uso de métodos cuantitativos basados en la Odontimetría y Antropometría, es decir, en las medidas de los dientes y de los huesos de los individuos en desarrollo (Liversidge, 1994; Liversidge *et al.*, 2003; Maber *et al.*, 2006; Tisé *et*

*al.*, 2010). Cameriere *et al.* (2006, 2007) han desarrollado métodos cuantitativos para los dientes, para los huesos del carpo, y las epífisis de radio y cúbito. Una combinación de estas dos técnicas (Cameriere *et al.*, 2006, 2008), con el fin de desarrollar una nueva fórmula de regresión, ha sido aplicada en una muestra italiana de individuos de edad comprendida entre 5 y 15 años, para comprobar su precisión y reproducibilidad. Los resultados obtenidos demuestran, por un lado, la gran precisión de la técnica y, por otra parte, la ventaja de utilizar una combinación del método de estimación de la edad dental con otro de estimación de la edad ósea. En todos estos estudios, el objetivo es reducir el margen de error evidenciado sobre todo en los individuos más mayores, alrededor de los 14 años, en los que se produce una subestimación de la edad; y el grado de subjetividad de las observaciones de los huesos del carpo en un atlas. Hoy en día, dentro del “Modelo legal de responsabilidad”, los 14 años representan una edad clave en algunos países europeos que, como Italia, España, Alemania o Austria, han establecido este límite como edad mínima de responsabilidad penal (Vásquez González, 2007; Prieto, 2004).

La edad mínima de responsabilidad penal se refiere a la edad antes de la cual se presume que las personas no tienen la madurez necesaria para exigírsele responsabilidad por infracciones a la ley. Ello significa que si una persona menor de edad tiene una edad por debajo de la mínima, no infringe la ley penal y no puede ser considerado penalmente responsable. El artículo 40 de la Convención sobre los Derechos del Niño (CDN) estipula que los Estados Partes establezcan una edad mínima.

Este nuevo modelo legal, basado en la OG-10 (Observación General sobre derechos de los adolescentes en la justicia penal juvenil),

promovida por la CDN, se va a caracterizar por el reforzamiento de la posición legal del menor, produciéndose un acercamiento a la justicia penal de los adultos, en lo que a reconocimiento de derechos y garantías se refiere, así como por la afirmación de una mayor responsabilidad del joven en relación con el hecho realizado. En este modelo se trata de conjugar lo educativo y lo judicial, aplicando un modelo garantista y unas medidas de contenido eminentemente educativo. Esta situación se debe, sin duda, a la enorme influencia que sobre la legislación penal de los países europeos han ejercido los textos internacionales, elaborados a finales del siglo XX por las Naciones Unidas y por el Consejo de Europa, al reconocer a los menores los mismos derechos que a los adultos, y demandar una protección especial de la infancia basada en una asistencia particularizada y una protección judicial específica (Serrano, 2005).

### 8.3.2 Aplicaciones del método

Los resultados de la aplicación del método de Cameriere *et al.* (2008), presentados en esta tesis, hacen hincapié no sólo en la trascendencia de estos dos métodos como indicadores de la edad sino también, cuando las circunstancias lo permiten, en la importancia de un uso combinado de los dos, con el fin de mejorar la fiabilidad de las estimas de la edad en infantes y adolescentes.

Si por un lado es fundamental la precisión del dato obtenido, por el otro, se ha de considerar la otra cara de la moneda, el contexto jurídico de aplicación de esta metodología (Garamendi *et al.*, 2010). De hecho, cuestión importante es también observar el diferente régimen legal entre aquellos países que, como España o Portugal, se han decantado por un **criterio biológico** o cronológico, mediante el cual se

establecen unos límites de edad fijos para delimitar la mayoría de edad penal o la responsabilidad penal juvenil; y aquellos otros, como Alemania, Italia o Francia, que han preferido seguir un **criterio mixto o bio-psicológico**, en el que los menores para tener responsabilidad penal, además de tener una determinada edad, han de mostrar un grado de madurez acorde, que les otorgue capacidad para comprender el carácter ilícito de su conducta (Serrano, 2005).

En relación a España, actualmente existe una disparidad de procedimientos diagnósticos para la estimación de la edad (Garamendi *et al.*, 2010). Los distintos organismos médicos implicados (principalmente Institutos de Medicina Legal, aunque también servicios médicos hospitalarios, cátedras y departamentos universitarios de medicina legal) han recibido en los últimos años un número creciente de solicitudes de exámenes para estimar la edad de presuntos menores. Sin embargo, actualmente, en este país existe una situación de disparidad inter-territorial sobre la mejor manera de abordar esta cuestión (Garamendi *et al.*, 2010; Prieto, 2004). Por este mismo motivo, con el objetivo de una normalización de las técnicas utilizadas, sería deseable el desarrollo de un protocolo de actuación uniforme, estandarizado, es decir, de extensión nacional y elaborado desde organismos consultivos. Este protocolo garantizaría la igualdad de derechos de los menores indocumentados en todo el territorio nacional y aseguraría una correcta fiabilidad científica de las estimaciones de edad planteadas (Garamendi *et al.*, 2003, 2010).

En la actualidad, para los fines de estimación de la edad de jóvenes y adolescentes, sólo algunos métodos tienen una base científica aceptable con fines médico-legales, basada en su precisión relativa y en la amplitud de estudios científicos sobre poblaciones diversas que la

sustenten. De entre ellos, además, es necesario seleccionar solamente los que cumplan con las condiciones éticas exigibles a todo examen médico destinado a un supuesto menor de edad en el contexto forense. Los estudios de población aplicables como trabajos de referencia, para la interpretación de los resultados de los medios diagnósticos indicados, deberán cumplir los siguientes requisitos (Garamendi *et al.*, 2003, 2010):

- Adecuado tamaño de la muestra de población, considerando el número de grupos de edad y los segmentos de población estudiados.
- Edad cronológica comprobada de los sujetos.
- Distribución uniforme de la edad.
- Evaluación separada por sexos.
- Especificación de la fecha del examen realizado.
- Definición clara de los parámetros estudiados.
- Descripción precisa del método.
- Especificación de los datos de población en relación con su origen étnico o geográfico, estatus socio-económico y estado de salud.
- Datos sobre tamaño de la muestra, media aritmética e intervalo de variación para cada parámetro estudiado.

De todas formas, la estimación debe indicar de forma clara la probabilidad de que el sujeto tenga una edad cronológica que se halle por encima o por debajo de los límites significativos para la legislación penal española y la relativa a la protección de los menores (Prieto y Abenza, 1998). El método de Cameriere *et al.* (2006), con su gran precisión, tal y como se ha demostrado en este trabajo, podría

representar una herramienta de gran valor a incluir en el conjunto de técnicas con adecuados fundamentos científicos. Su utilidad en la estimación de la minoría de edad puede significar un avance importante en la correcta valoración de la imputabilidad de un individuo y, por ende, en la normalización de una metodología diagnóstica segura y respetuosa de la dignidad humana (Prieto, 2004).

Con respecto al problema de los menores indocumentados, dado que en España e Italia, como en la mayoría de los países fronterizos del área mediterránea, estos inmigrantes son, en proporciones diversas, de origen marroquí, magrebí, latinoamericano y de la Europa del Este, se propone analizar los patrones de maduración dental y ósea de dichas poblaciones mediante esta técnica. Las características socioeconómicas de cada población serían, para algunos autores, los factores más significativos en cuanto a su capacidad para influir en las variaciones en el ritmo de maduración de la edad ósea durante la fase pre-puberal (Fleshman, 2000). Con respecto a los huesos del carpo, por ejemplo, no se ha estudiado sistemáticamente a los habitantes de los países musulmanes de Oriente Próximo y del Norte de África y las poblaciones de estos países emigradas a países desarrollados y no se puede afirmar si su ritmo de maduración ósea siga o no la evolución marcada en otras poblaciones (Souguir *et al.*, 2002). Los únicos estudios disponibles de la maduración ósea y dental son los de Koc *et al.* (2001), Büken *et al.* (2007), y Garamendi *et al.* (2005).

De hecho, los países del sur de Europa (España, Italia y Grecia) llevan ya más de dos décadas de inmigración ilegal procedente de, y más recientemente a través de, los países vecinos más pobres del Norte de África y los Balcanes (APDHA, 2006; Baldwin-Edwards, 2002). En Italia, por ejemplo, los datos de 2004 muestran una proporción



creciente de egipcios (60%) y un 28 por ciento aproximadamente de sub-saharianos.

Por otra parte se destaca la especial ubicación geográfica de España que se ha convertido junto con Italia en la frontera sur de Europa y zona de acogida y tránsito de la inmigración procedente de África, en donde los índices de pobreza son la causa principal de la emigración. Por áreas geográficas de procedencia, la inmigración más significativa es la iberoamericana con 986.178 residentes legales (36,01%) seguida de África con 649.251 (23,70%), los países del este de Europa con 335.830 (12,26%) y Asia con 177.423 (6,48%). Los principales países de origen son: Marruecos (493.114), Ecuador (357.065), Colombia (204.348), Rumania (192.134), China (85.745), Argentina (82.412), Perú (82.533), Bulgaria (56.329), República Dominicana (50.765), Bolivia (50.738), Argelia (35.437) y Venezuela (35.372). Especialmente significativo ha sido el crecimiento en 2005 de los rumanos, del 130%, aproximándose a la población colombiana, aunque el mayor incremento (342%) ha sido el de Bolivia. En los dos centros de recepción temporal de Ceuta y Melilla, a finales de 2005, estaban retenidas unas dos mil personas. Un 61 por ciento de ellas procedían de países subsaharianos, y entre ellas los grupos más numerosos eran de Malí (23%) y Camerún (7%), aunque también había grupos más pequeños de otros países de la región como Guinea Bissau, Guinea y Ghana. El 18 por ciento de las personas retenidas venían de la India, y un 17 por ciento de Argelia. (European Commission, 2005; Reyneri, 2002).

Es necesario, por ende, el desarrollo de estudios que nos permitan valorar la forma en que la maduración dentaria y ósea tienen lugar en dichas poblaciones y contar con datos más fiables. Estos

estudios se podrán realizar a partir de registros de inmigrantes documentados que requieran asistencia médica o dental, o directamente en su país de origen.

#### **8.4 Estimación del sexo mediante funciones discriminantes**

Una necesidad cada vez más frecuente en la práctica forense es, sin duda, la identificación de restos óseos y, como parte imprescindible de esta, la asignación del sexo a los mismos. Uno de los métodos de mayor confianza para dicha estimación es el método multifactorial (Meindl y Russell, 1997), es decir, el uso de la mayoría de indicadores, tanto morfológicos como métricos a nuestro alcance, para intentar reducir el rango de error. Sin embargo, uno de los problemas más evidentes es que no siempre encontramos esqueletos bien preservados o completos, de ahí la necesidad de buscar la manera de conocer esta variable a partir del análisis de la información disponible.

Una de las mejores soluciones es el empleo de funciones discriminantes, sobre todo cuando se trata de restos aislados, cuando se han perdido la unidad y la relación anatómica del esqueleto, y los huesos morfológicamente más indicativos del sexo, tales como el cráneo y la cadera (Ubelaker, 2002).

El análisis discriminante permite establecer el diagnóstico del sexo a través de funciones matemáticas basadas en las leyes de probabilidad (Fischer, 1940). Las principales ventajas de este método son las siguientes: objetividad, fácil de aprender y reproducir, reducción del error intra- e inter-observador, y una cantidad menor de casos indeterminados comparado con los métodos morfológicos. Entre sus inconvenientes hay que recordar la dificultad en aplicar estos métodos en restos muy fragmentados (Krogman e Işcan, 1986). Sin

embargo, la mayor desventaja radica en que los resultados de las funciones discriminantes sólo se pueden aplicar en poblaciones de un área o país determinado, y su extrapolación a otro contexto podría dar lugar a resultados no válidos (Alemán, 1997; Bone, 1993). De hecho, las fórmulas son acertadas solamente cuando se aplican para estimar el sexo de individuos que presentan un grado de dimorfismo sexual igual o similar al de la población base con la que fueron establecidas. Este problema puede subsanarse cuando se cuenta con una serie amplia en la que se pueda estimar si las diferencias existentes en el grado de variabilidad de las dos poblaciones son significativas o no (Alemán *et al.*, 1999). Sin embargo, cuando se intenta identificar a un solo individuo no existe esta posibilidad, por lo que es aconsejable que sea un especialista en la materia quien decida cuales son las tablas que muestran los patrones más afines a los que presenta el individuo.

Por lo tanto, en los trabajos presentados en esta tesis, ha sido inevitable realizar dos estudios métricos distintos, para dos poblaciones, una española y la otra mexicana, con el fin de determinar los parámetros de dimorfismo sexual de estos grupos y proporcionar una herramienta actualizada a los especialistas forenses de estos dos países (Del río Muñoz *et al.*, 2001).

#### **8.4.1 Los huesos del carpo**

Entre los estudios métricos pioneros, a nivel internacional, caben destacar los de Hanihara (1959), con cráneos Japoneses y los de Giles y Elliot (1963), y Giles (1970), con cráneos de una serie americana de distintos grupos raciales. El interés por el análisis métrico de los huesos, para estimar el sexo de un individuo, empieza en España en los años noventa del siglo pasado con los estudios de los Doctores

Gonzalo Trancho y Beatriz Robledo, de la Universidad Complutense de Madrid. Estos investigadores se plantearon estudiar el dimorfismo del hueso coxal en la población de Wamba (Toledo), una serie medieval castellana que era utilizada en las clases de prácticas de Antropología desde hacía más de treinta años (Robledo y Trancho 1991, 1994; Robledo 1993). Poco después, estos estudios se ampliaron a otra estructura ósea de esa misma colección, la tibia, (López-Bueis, 1995) e incluso algo más tarde al resto de los huesos largos (López-Bueis, 1998). Hasta 1995, año en el que presentaron en Zaragoza, en un congreso de la SEAB (Sociedad Española de Antropología Biológica), las primeras funciones discriminantes para diagnosticar el sexo de coxal, fémur y tibia, no existían en España fórmulas discriminantes basadas en series españolas de sexo y edad conocidos (Robledo *et al.*, 1996; López-Bueis *et al.*, 1996; Trancho *et al.*, 1996, 1997a). Eso obligaba a forenses, antropólogos y arqueólogos a utilizar fórmulas estimadas a partir de dimensiones corporales de poblaciones extranjeras (generalmente norteamericanas o centroeuropeas) con el consiguiente error metodológico en la asignación sexual. A finales de 1996, continuando con estas investigaciones sobre la serie de la UCM (Universidad Complutense de Madrid), se desarrollaron modelos matemáticos para otros tres huesos: cúbito, radio y peroné (López-Bueis *et al.*, 1997; Robledo *et al.*, 1997; Trancho *et al.*, 1997b).

En el mismo año, la Doctora Inmaculada Alemán, del Laboratorio de Antropología de la Universidad de Granada, terminaba su tesis de doctorado sobre dimorfismo sexual mediante funciones discriminantes en todos los huesos largos, escápula, metacarpianos, tarso, y metatarsianos de una población mediterránea de sexo y edad conocidos (Alemán, 1997). Se desarrollaron 130 fórmulas para

diagnosticar el sexo en restos fragmentados con una fiabilidad de más del 80%. Para ese estudio, se analizó una muestra de individuos identificados, procedentes del Cementerio Municipal de Granada y depositados en el Laboratorio de Antropología de la Facultad de Medicina de la Universidad de Granada. A partir de los años noventa, otros autores se plantearon la problemática de que en España se utilizaban ecuaciones de determinación sexual que no se correspondían con las características biológicas de la población española. Por lo tanto, aquellos que dispusieran de una colección identificada, de sexo y edad conocidos, pudieron empezar a desarrollar fórmulas discriminantes válidas para la gran mayoría de los huesos humanos (Alemán *et al.*, 1999).

A raíz de esta necesidad, en el 2008 se empezó a trabajar con los huesos del carpo de la colección identificada de Granada. Se seleccionaron estos huesos por dos motivos fundamentales: 1) en contextos arqueológicos y forenses, los huesos del carpo, seguramente más que los metacarpianos y las falanges de la mano, suelen mostrar un estado de conservación excelente. Su tamaño reducido, y la gran resistencia a los procesos tafonómicos, hacen de ellos unos “supervivientes privilegiados”; 2) la diferencia, en el tamaño de la muñeca, entre hombres y mujeres (Sulzmann *et al.*, 2008).

Los resultados obtenidos en estos dos estudios, llevados a cabo en una muestra española y otra mexicana, ambas de sexo y edad conocidos, demuestran que el carpo representa un elemento altamente discriminante con respecto al sexo.

En el segundo trabajo, en la muestra de la Facultad de Medicina de la UNAM (Universidad Nacional Autónoma de México), además del error intra-observador se decidió realizar también un test para

evaluar el error inter-observador, con el fin de averiguar la reproducibilidad de las medidas por otro observador, con menos experiencia en el manejo de la técnica. De hecho, considerando que el empleo de bases de datos generadas por distintos investigadores es una práctica extendida dentro de los análisis de relaciones biológicas (González-José *et al.*, 2001; Hanihara e Ishida, 2001), era necesario elaborar estrategias orientadas a evaluar e incrementar la precisión entre las observaciones, sobre todo cuando han sido realizadas por uno o más observadores. Por lo tanto, los objetivos del trabajo no fueron sólo los de desarrollar fórmulas discriminantes adecuadas para la población de estudio, sino también otros tan esenciales como los que se presentan a continuación: 1) evaluar el error intra- e inter-observador en el registro de medidas y la influencia que podía tener la experiencia de los observadores sobre cada tipo de error; 2) analizar el efecto que tuvo el error inter-observador en el análisis de relaciones biológicas entre sexo y morfometría (Caíno *et al.*, 2002).

Uno de los problemas metodológicos más importantes, con los que se encuentran los investigadores interesados en estudios de este tipo, es la amplitud del error de medición. Independientemente del diseño de la investigación, la validez de ella puede verse gravemente afectada si se utilizan mediciones poco fiables. Las investigaciones de tipo antropométrico se basan en el análisis de variables de naturaleza continua y discreta del esqueleto humano. Estas presentan diferentes fuentes de variación que incluyen la variabilidad propia del objeto de estudio, así como aquella introducida por el sujeto, por la definición de los rasgos y por los instrumentos empleados. Como cualquier otra técnica, el error de medición alcanzado por un observador depende en gran parte de la práctica que tenga con la técnica (Bernal *et al.*, 2004).

La variabilidad inter-observador puede valorarse a través de estudios de concordancia, los cuales tienen como objetivo estimar hasta qué punto dos observadores coinciden en su medición, para así poder identificar las causas de las discrepancias e intentar corregirlas. La manera estadística de abordar este problema depende de la naturaleza de los datos. Cuando estos son de tipo categórico, el test más frecuentemente empleado es el índice kappa (Cohen, 1960). El fin último de un estudio de concordancia no es solo comprobar si existe o no variabilidad, sino, además, identificar las causas de las discrepancias halladas para intentar corregirlas.

En este caso, no hubo discrepancia y los resultados obtenidos mostraron un error inter-observador muy reducido, indicando que la técnica es reproducible por otros observadores, siempre teniendo en cuenta la variación propia del instrumento o procedimiento y la variación del observador. La primera de ellas tiene que ver con la calidad y calibrado del instrumental de medida y diagnóstico, por ejemplo, el nivel de calidad y mantenimiento de un calibre digital. La variación del observador o examinador está relacionada con su entrenamiento, formación y capacidad, y también se llama error del observador. A menor variación de éste, mayor precisión se conseguirá a la hora de medir el hueso y, por tanto, más válido será el resultado (Streiner y Norman, 1989).

En el segundo trabajo, sobre población mexicana, además del error inter-observador para cuantificar el acuerdo entre observadores, se nos recomendó llevar a cabo una prueba o método de remuestreo, conocido como jackknife (navaja de jack) (Berger y Rao, 2006). De hecho, el último paso de cualquier análisis multivariante es la validación del modelo desarrollado, con el fin de garantizar cierto

grado de generalidad al modelo obtenido. Esto puede conseguirse mediante diversos procedimientos, como la validación cruzada, el jackknife o las técnicas de bootstrapping (lanzamiento), dependiendo del tamaño de la muestra que se estudie. Cuando la muestra total es pequeña (menos de 200 individuos), como en este caso, puede usarse el “jackknife”. En este método, se excluye un caso y se calculan las funciones de clasificación con el resto. Entonces, se clasifica la observación excluida. Este procedimiento se aplica en cada una de las observaciones. Sin embargo, el error obtenido mediante este método de valoración cruzada puede aumentar a partir de un número elevado de variables (Manly, 2007).

La hipótesis de estudio fue que al trabajar con estimadores típico de los parámetros poblacionales como la media, mediana, varianza, primer estadístico y último estadístico de orden, y tratándose de una muestra de menos de 200 individuos, se lograría reducir el sesgo de estimación mediante el método de valoración cruzada de jackknife (Pérez, 2000). Por lo tanto, la obtención de la función de clasificación (función lineal de las variables independientes obtenidas), y la predicción de los resultados, se consiguieron mediante este método de clasificación.

El resultado fue una clasificación con menor sesgo y, sobre todo, con resultados más ajustados a la realidad. Otro resultado de gran importancia fue demostrar que la confección de fórmulas con una gran cantidad de variables no garantiza una mejor fiabilidad. De hecho, la combinación de más de cuatro puede disminuir la precisión de las funciones desarrolladas en nuestros estudios. Además, en la práctica forense, un gran número de variables imposibilitaría, en muchos casos, el estudio de restos fragmentarios. Por lo general, podemos decir que el



procedimiento discriminante con variables continuas demuestra mejor validez y fiabilidad que la observación pura de aspectos morfológicos, considerados de modo categórico.



## **CONCLUSIONES**



### CONCLUSIONES

Los métodos y técnicas para estimación del sexo y edad en restos humanos se han mejorado en el último decenio de manera significativa, gracias a su aplicación a la Antropología Forense. Por eso se buscan nuevas aportaciones que incidan en la precisión para obtener datos cada vez más fiables, la rapidez en los análisis y la facilidad de manejo. Es de gran importancia que la estimación de la edad sea realizada por profesionales con formación específica. Los informes emitidos deberán ser sometidos a controles de calidad para que tengan la necesaria validez forense. Las técnicas de estudio mediante radiología son rápidas, fiables, reproducibles y no destructivas. Son métodos de elección para la Antropología Física y Forense.

Se confirma aquí que la estimación de la edad por el análisis de la dentina secundaria ofrece muchas ventajas. La relación entre el área de pulpa y el área total del canino muestra una gran fiabilidad para establecer la edad de muerte, tanto en poblaciones antiguas como en sujetos actuales. No existen diferencias de sexo en el tamaño de la cámara pulpar, lo cual supone una ventaja respecto a otras regiones anatómicas en las que el sexo influye en gran medida. La fórmula que relaciona la edad cronológica con la edad estimada resulta muy homogénea en todos los grupos de edad de adultos. No se detectaron alteraciones diagenéticas del complejo dentino-pulpar en las muestras antiguas estudiadas, como la ausencia de dentina de tipo calcáreo en los caninos.

Con el método combinado de Camerière *et al.* (2008), aplicado en vivos y en restos esqueléticos, se ha obtenido un error de estimación de menos de 1 año. Este método, sencillo de aplicar y muy fiable,

puede representar un avance importante para la estimación de la edad en menores indocumentados.

Se ha demostrado la validez de los huesos del carpo como discriminantes del sexo en dos poblaciones de sexo y edad conocidos, de España y México. Los resultados de nuestros trabajos indican claramente que se pueden utilizar sus dimensiones para estimar el sexo con un nivel de fiabilidad muy alto mediante las correspondientes fórmulas discriminantes. Estas fórmulas discriminantes son útiles, tanto en ámbito forense como en contextos arqueológicos. En ambos, estos huesos muestran un alto valor diagnóstico, sobre todo en el caso de una conservación deficiente de los demás huesos. Además, a raíz del análisis del error inter-observador y de la estimación de jackknife, se puede afirmar que se trata de una metodología sencilla y fácilmente reproducible. En futuros estudios se explorará la importancia de los huesos del carpo como indicadores diagnósticos del sexo mediante otras técnicas cuantitativas, como la morfometría geométrica.

---

## **ΕΠΪΛΟΓΟ**



Hemos llegado al final con más curiosidad y ganas de trabajar. ¡Qué raro es todo! Los objetivos planteados al comienzo de esta andadura se han cumplido a raja tabla. Tras alcanzar la meta, fresco como una rosa, miro para atrás, con la esperanza de que estas modestas aportaciones a la Antropología Forense se consideren como es debido, ya que los resultados obtenidos son interesantes y estadísticamente fiables.

Mientras escribo este epílogo, estamos intentando llevar a cabo más proyectos de estimación de la edad, sobre todo en individuos subadultos, debido a la transcendencia de la temática a nivel internacional: un nuevo trabajo sobre la aplicación del método de Cameriere *et al.* (2006), en una muestra de individuos mexicanos de edad comprendida entre 5 y 15 años, representa de momento la última contribución al proceso de estandarización de esta metodología. Se están llevando a cabo nuevos trabajos para individuos tibetanos y africanos, con el objetivo de que los especialistas del ámbito forense podamos disponer de nuevos datos sobre poblaciones hasta ahora desconocidas desde el punto de vista de la maduración ósea y dental.

Con respecto a la estimación de la edad en adultos, creo que nuevos estudios podrán realizarse con muestras más grandes procedentes de otros países, que incluyan no sólo el canino sino también los demás dientes unirradiculares. Sería interesante poder desarrollar fórmulas de regresión que sean aplicables con buena fiabilidad en los rangos de edad más altos, es decir, aquellos individuos de más de 60 años que siempre están provocando discusiones muy concurridas y que, a duras penas, se les consigue asignar una edad fiable. De momento, además del canino, se han podido estudiar los premolares inferiores y los resultados obtenidos, muy esperanzadores,



se han publicado en la revista “Forensic Science International”. A la expectativa de los resultados de un estudio de todos los dientes unirradiculares realizado en una muestra portuguesa, es imprescindible ahora que otros observadores que no dominen la técnica apliquen e interpreten el método en otros contextos, tanto forenses como arqueológicos. Esto es esencial para poder comprobar su validez más allá de la experiencia de los investigadores que han desarrollado el método.

La estimación del sexo mediante funciones discriminantes ha representado para mí un agradable desvío de mi camino habitual y me ha permitido conocer un nuevo mundo, el del análisis multivariante, hasta hace veinte años prácticamente desconocido en España. Sus aplicaciones y sus resultados constituyen un logro importante, ya que se trata de una metodología seguramente de gran validez y con perspectivas de estudio muy amplias. En el futuro, gracias también a técnicas más avanzadas, se podrán desarrollar nuevas fórmulas discriminantes para comprobar su fiabilidad en poblaciones poco estudiadas desde el punto de vista métrico.



## **BIBLIOGRAFÍA**



**AA.VV.** 2005. *Manuale dell'utente del modulo Spss base 15.5* Copyright.

**Aboshi H., Takahashi T., Tamura M., Komuro T.** 2000. *Age estimation based on the morphometric analysis of dental root pulp using ortho cubic super high resolution CT (Ortho-CT)*. In: Willems G. (Ed.), *Forensic Odontology*, Leuven University Press, p. 199.

**Aboshi H., Takahashi T., Komuro T.** 2010. Age estimation using microfocus X-ray computed tomography of lower premolars. *Forensic Science International*; doi:10.1016/j.forsciint.2010.03.024.

**ACNUR** 1997. *Menores No Acompañados*. Directrices para tratar su solicitud de asilo.

**Adams B.J., Byrd J.E.** 2002. Inter-observer Variation of Selected Postcranial Skeletal Measurements. *Journal of Forensic Sciences*; 47(6): 1193-1202.

**Adler P., Adler-Hradecky C.** 1962. Eruption times of the upper and lower third molars. *Acta Genetica* 12: 366–376.

**Allan J.H.** 1959. Investigations into the mineralization pattern of human dental enamel. *Journal of Dental Research*; 38: 1096.

**Allen J.C., Bruce M.F., Maclaughlin S.M.** 1987. Sex determination from the radius in humans. *Human Evolution*; 2: 273-378.

**Alonso S.L.** 1969. *Funciones discriminantes en la determinación sexual de huesos largos*. Antropología Matemática, México.

**Anderson D.L., Thompson G.W., Popovich R.** 1977. Age of attainment of mineralization stages of the permanent dentition. *Journal of Forensic Sciences*; 21(1): 191-200.

**Antoine D** (2001) *Evaluating the periodicity of incremental structures in dental enamel as a means of studying growth in children from past human populations*. Ph.D. Thesis, University College of London, University of London, London.

**Antoine D., Hillson S., Dean C.** 2009. The developmental clock of dental enamel: a test for the periodicity of prism cross striations in modern humans and an evaluation of the most likely sources of error in histological studies of this kind. *Journal of Anatomy*; 214: 45-55.

**APDHA.** 2006. *Derechos humanos en la Frontera Sur 2006. Informe sobre la inmigración clandestina durante el año 2005*. Sevilla: Asociación pro Derechos Humanos de Andalucía. Disponible en: [www.apdha.org](http://www.apdha.org).

**Aykroyd R.G., Lucy D., Pollard A.M., Solheim T.** 1997. Technical note: Regression analysis in adult age estimation. *American Journal of Physical Anthropology*; 104: 259-265.

**Baccino, E., Tavernier, J. C., Lamendin, H., Frammery, D., Nossintchouk, R., Humbert, J. F.** 1991. Recherche d'une méthode multifactorielle simple pour la détermination de l'âge des cadavres adultes [en Français]. *Journal Medecine Legale Droit Medical*; 34: 27-33.

**Baccino, E., Zerilli, A.** 1997. The two-step strategy or the right way to combine a dental (Lamendin) and an anthropological (Suchey-Brooks

System) method for age determination. Proceedings of American Academy of Forensic Sciences; 3: 150.

**Baccino E., Ubelaker D.H., Hayek L.A., Zerilli A.** 1999. Evaluation of seven methods of estimating age at death from mature human skeletal remains. *Journal of Forensic Science*; 44(5): 931-936.

**Baccino E., Schmitt A.** 2006. *Determination of adult age at death in the forensic context.* in: A. Schmitt, E. Cunha, J. Pinheiro (Eds.), *Forensic Anthropology and Medicine*, Humana Press, New York, pp. 259, 280.

**Baccino E.** 2005. Forensic Anthropology Society of Europe (FASE): a subsection of IALM. *International Journal of Legal Medicine*; 119 (2005) N1.

**Bada J.L., Kvenvolden K.A., Peterson E.** 1973. Racemization of aminoacid in bones. *Nature*; 245: 308-310.

**Bagherpour A., Imanimoghaddam M., Bagherpour MR., Einolghozati M.** 2010. Dental age assessment among Iranian children aged 6–13 years using the Demirjian method. *Forensic Science International*; 197(1–3): 121.e1–121.e4.

**Baldwin-Edwards M.** 2002. Semi-reluctant Hosts: Southern Europe's Ambivalent Response to Immigration. *Studi Emigrazione*; 39(145): 27-48.

**Baker G., Jones H.P., Wardrop I.D.** 1959. Causes of wear in sheep's teeth. *Nature*; 182: 1583-1584.

**Bang G., Ramm E.** 1970. Determination of age in humans from root dentin transparency. *Acta Odontologica Scandinava*; 28: 3-35.

**Bang G.** 1989. *Age changes in teeth: developmental and regressive*. En: Iscan M.Y. (editor). *Age markers in the human skeleton*. Springfield: Charles C. Thomas; pp. 211-235.

**Barbería E. De Nova J.** 2003. *Maduración dental y determinación de la edad*. Comunidad de Madrid. Dirección General de Justicia. Segundo Curso de Actualización en Medicina Forense. La Determinación de la Edad en Detenidos Jóvenes Indocumentados. Problemática Actual y Protocolo de Valoración Médico-Forense. Pp. 311-39.

**Barrio P.A., Trancho G.J., Sánchez J.A.** 2006. Metacarpal sexual determination in a Spanish population. *Journal of Forensic Sciences*; 51(5): 990-995.

**Bañón R.** 2003. *La determinación de la edad en detenidos jóvenes indocumentados. Problemática médico forense*. Comunidad de Madrid. Dirección General de Justicia. Segundo Curso de Actualización en Medicina Forense. La Determinación de la Edad en Detenidos Jóvenes Indocumentados. Problemática Actual y Protocolo de Valoración Médico-Forense. Pp. 351-71.

**Barrio P.B., Trancho G.J., Sánchez J.A.** 2006. Metacarpal sexual determination in a Spanish population. *Journal of Forensic Sciences*; 51(5): 990-995.

**Bass W.M.** 1987. *Human osteology. A laboratory and field manual*. Archaeological Society, Missouri.

- Bautista Martínez J., Pijoan Aguadé C.M.** 1998. Craneometría de reos. Colección procedente de la penitenciaría del Distrito Federal. Serie Antropología Física. INAH, Mexico City.
- Beda E., Castilho J., Moraes L., Medici Filho E.** 2005. Aspecto legal da radiografía digital. *Revista de APCD-SJCampos*; 6(1).
- Beeching B.** 1983. *Radiología dental*. Ed. Doyma, Barcelona.
- Bell L.S., Skinner M.F., Jones S.J.** 1996. The speed of post mortem change to the human skeleton and its taphonomic significance. *Forensic Science International*; 82: 129-140.
- Berger Y.G., Rao J.N.K.** 2006. Adjusted jack-knife for imputation under unequal probability sampling without replacement. *Journal of the Royal Statistical Society*; 68(3), pp. 531-5479.
- Berkovitz B.K., Holland G.R., Moxham B.J.** 2002. *Oral anatomy, histology*. Mosby Edit. International.
- Bernal V., Gonzalez P.N., Pérez I., Del Papa M.** 2004. Evaluación del error intra-observador en bioarqueología. *Intersecciones en Antropología*; 5: 129-140.
- Bertoldi F.** 2009. Gli Inumati. In Gelichi S. (ed.) *L'Isola del Vescovo. Gli scavi archeologici intorno alla Cattedrale di Comacchio*. Pp. 54-74.
- Beynon A.D., Dean M.C.** 1991. Hominid dental development. *Nature*; 351: 196.



**Bidmos M.A., Dayal M.R.** 2003. Sex determination from the talus of South African Whites by discriminant function analysis. *American Journal of Forensic Medicine and Pathology*; 4: 323- 328.

**Bidmos M.A., Asala S.A.** 2004. Sexual dimorphism of the calcaneus of South African Blacks. *Journal of Forensic Sciences*; 49: 446–450.

**Blankenship J.A., Mincer H.H., Anderson K.M., Woods M.A., Burton E.L.** 2007. Third molar development in the estimation of chronologic age in American blacks as compared with whites. *Journal of Forensic Sciences*; 52: 428–433.

**Bodecker C. F.** 1925. A consideration of some of the changes in the teeth from young to old age. *Dental Cosmos*; 67:543-549.

**Bone K.E.** 2005. Bias in skeleton sexing. *American Journal of Physical Anthropology*; 16: 69.

**Bonjean P., Honton J.L., Linarte R., Vignes J.** 1981. Anatomical bases for the dynamic exploration of the wrist joint. *Anatomy Clinic*; 3: 73-85.

**Braga J., Heuze Y., Chabadel O., Sonan N.K., Gueramy A.** 2005. Non-adult dental age assessment: correspondence analysis and linear regression versus Bayesian predictions. *International Journal of Legal Medicine*; 119: 260–274.

**Brian J.N., Williamson G.F.** 2007. Digital radiography in dentistry: a survey of Indiana dentists. *Dentomaxillofacial Radiology*; 36: 18-23.

**Brothwell D.R.** 1989. The relationships of tooth wear to ageing. In: Iscan M.Y. (ed.) *Age Markers in the Human Skeleton*. Springfield, IL, Thomas. Pp. 303–316.

**Buckberry J.L., Chamberlain A.T.** 2002. Age estimation from the auricular surface of the ilium: a revised method. *American Journal of Physical Anthropology*; 119: 231–239.

**Bueno M., Sarría A., Bueno M.** 1996. Estudio de la maduración ósea en niños obesos aragoneses de ambos sexos. *Anales Españoles de Pediatría*; 45: 29-32.

**Bustos F.A., Grupo de Trabajo sobre Determinación Forense de la Edad de los Menores Extranjeros no acompañados.** 2011. Conclusiones de la Jornada de Trabajo sobre Determinación Forense de la Edad de los Menores Extranjeros no acompañados. Documento de Consenso de Buenas Prácticas entre los Institutos de Medicina Legal de España. *Revista Española de Medicina Legal*; 37(1): 5-6.

**Büken B., Safak A.A., Yazici B., Büken E., Mayda A.S.** 2007. Is the assessment of bone age by the Greulich-Pyle method reliable at forensic age estimation for Turkish children? *Forensic Science International*; DOI:10.1016/j.forsciint.2007.02.023.

**Büken B., Erzenegin O.U., Büken E., Safak A.A., Yazici B., Erkol Z.** 2009. Comparison of the three age estimation methods: Which is more reliable for Turkish children? *Forensic Science International*; 183: 103–117.

**Burdi A.R.** 1992. *Desarrollo de la dentición y la oclusión*. Moyers R.E., Panamericana.

**Burns K.R.** 2007. Forensic anthropology training manual. Pearson, New Jersey.

**Byers S.N.** 2002. *Introduction to forensic anthropology*. Pearson, Boston.

**Caíno S., Adamo P., Kelmansky D., Lejarraga H.** 2002. Impacto del entrenamiento sobre el error de mediciones antropométricas. *Archivo Argentino de Pediatría*; 100(2).

**Calcagno J.M.** 1981. On the applicability of sexing human skeletal material by discriminant function analysis. *Homo* 10: 189-198.

**Cameriere R., Ferrante L., Cingolani M.** 2004. Variations in pulp/tooth area ratio as an indicator of age: a preliminary study. *Journal of Forensic Science*; 49: 317-9.

**Cameriere R., Ferrante L., Cingolani M.** 2006a. Age estimation in children by measurement of open apices in teeth. *International Journal of Legal Medicine*; 120(1): 49–52.

**Cameriere R., Ferrante L., Mirtella D., Cingolani M.** 2006b. Carpals and epiphyses of radius and ulna as age indicators. *International Journal of Legal Medicine*; 120: 143–146.

**Cameriere R., Brogi G., Ferrante L., Mirtella D., Vultaggio C., Cingolani M., Fornaciari G.** 2006c. Reliability in age determination by pulp/tooth ratio in upper canines in skeletal remains. *Journal of Forensic Science*; 51: 861-4.

**Cameriere R., Ferrante L., Belcastro M.G., Bonfiglioli B., Rastelli E., Cingolani M.** 2007a. Age estimation by pulp/tooth ratio in canines by peri-apical X-rays. *Journal of Forensic Science*; 52(1): 166-70.

**Cameriere R., Ferrante L., Belcastro M.G., Bonfiglioli B., Rastelli E., Cingolani M.** 2007b. Age Estimation by Pulp/Tooth Ratio in Canines by Mesial and Vestibular Peri-Apical X-Rays. *Journal of Forensic Science*; 52(5): 1151-1155.

**Cameriere R., De Angelis D., Ferrante L., Scarpino F., Cingolani M.** 2007c. Age estimation in children by measurement of open apices in teeth: a European formula. *International Journal of Legal Medicine*; 121(6): 449-453.

**Cameriere R., Flores-Mir C., Mauricio F., Ferrante L.** 2007d. Effects of nutrition on timing of mineralization in teeth in a Peruvian sample by the Cameriere and Demirjian methods. *Annals of Human Biology*; 34(5): 547-556.

**Cameriere R., Ferrante L., Ermenč B., Mirtella D., Štrus K.** 2007e. Age estimation using carpals: study of a Slovenian sample to test Cameriere's method. *Forensic Science International*; 174(2): 178-181.

**Cameriere R.** 2008a. AgEstimation Project: Cameriere's methods for age estimation. Eum Edizioni, Università di Macerata, Macerata (Italy).

**Cameriere R., Ferrante L., De Angelis D., Scarpino F., Galli F.** 2008b. The comparison between measurement of open apices of third molars and Demirjian stages to test chronological age of over 18 year olds in living subjects. *International Journal of Legal Medicine*; 122: 493-497.

**Cameriere R., Ferrante L.** 2008c. Age estimation in children by measurement of carpals and epiphyses of radius and ulna and open apices in teeth: a pilot study. *Forensic Science International*; 174: 60-63.

**Cameriere R., Cunha E., Sassaroli E., Nuzzolese E., Ferrante L.** 2009. Age estimation by pulp/tooth area ratio in canines: Study of a Portuguese sample to test Cameriere's method. *Forensic Science International*; 193: 128e1-128e6.

**Cameriere R., Ferrante L.** 2010. Canine pulp ratios in estimating pensionable age in subjects with questionable documents of identification. *Forensic Science International*; doi:10.1016/j.forsciint.2010.07.025

**Cate T., Thomson G., Dickinson J., Hunter H.** 1977. The estimation of age of skeletal remains from the colour of roots of teeth. *Canadian Dental Association Journal*; 2: 83-86.

**Cattaneo C., Grandi M.** 2004. *Antropologia e odontologia forense. Guida allo studio dei resti umani. Testo atlante.* Monduzzi Editore, Milano.

**Cattaneo C., Ritz-Timme S., Gabriel P., Gibelli D., Giudici E., Poppa P., Nohrden D., Assmann S., Schmitt R., Grandi M.** 2007. The difficult issue of age assessment on pedopornographic material. *Forensic Science International*; 165: 185–193.

**Cattaneo C.** 2007. Forensic anthropology: development of a classical discipline in the new millennium. *Forensic Science International*; 165: 185-193.

**Cattaneo C., Ritz-Timme S., Gabriel P., Gibelli D., Giudici E., Poppa P., Nohrden D., Assmann S., Schmitt R., Grandi M.** 2009. The difficult issue of age assessment on pedo-pornographic material. *Forensic Science International*; 183: e21-e24.

**Ceballos García L.** 2004. Adhesión a dentina afectada por caries y dentina esclerótica. *Avances en Odontoestomatología*; 20(2): 71-78.

**Chandler N.P., MacGregor Fyfe D.** 1997. Root canals of buried teeth: radiographic changes due to crystal growth. *International Journal of Osteoarchaeology*; 7: 11-17.

**Chen J.W., Guo J., Zhou J., Liu R.K., Chen T.T., Zou S.J.** 2010. Assessment of dental maturity of Western Chinese children using Demirjian's method. *Forensic Science International*; 197(1-3): 119.e111-119.e114.

**Chertkow S., Fatti P.** 1979. The relationship between tooth mineralization and early evidence of the ulnar sesamoid. *Angle Orthodontics*; 49: 282-288.

**Chimenos Küstner E.** 2005. *Radiología en Medicina Bucal*. Ed. Massón, Barcelona.

**Christensen G.J., Kraus B.S.** 1965. Initial calcification of the human permanent first molar. *Journal of Dental Research*; 44: 1338-1342.

**Coburn J.C., Upal M.A., Crisco J.J.** 2007. Coordinate systems for the carpal bones of the wrist. *Journal of Biomechanics*; 40: 203-209.

**Cohen J.** 1960. A coefficient of agreement for normal scales. *Educational and Psychological Measurements*; 20: 37-46.

**Compson J.P., Waterman J.K., Heatley F.W.** 1994. The radiological anatomy of the scaphoid. Part 1: Osteology. *Journal of Hand Surgery-British and European Volume*; 19: 183-187.

**Coutinho S., Buschang P.H., Miranda F.** 1993. Relationship between mandibular canine calcification stages and skeletal maturity. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*; 104: 262–268.

**Cowal L.S., Pastor R.F.** 2008. Dimensional variation in the proximal ulna: evaluation of a metric method for sex assessment. *American Journal of Physical Anthropology*; 135: 469-478.

**Cunha E., Baccino E., Martrille L., Ramsthaler F., Prieto J., Schuliar Y., Lynnerup N., Cattaneo C.** 2009. The problem of ageing human remains and living individuals: A review. *Forensic Science International*; 193: 1-13.

**Dahl B., Carlsson G.E., Ekfeldt A.** 1993. Occlusal wear of teeth and restorative materials. A review of classification, etiology, mechanism of wear, and some aspects of restorative procedures. *Acta odontológica Scandinava*; 51: 299-311.

**De Luca S., Alemán I., Bertoldi F., Ferrante L., Mastrangelo P., Cingolani M., Cameriere R.** 2010. Age estimation by pulp/tooth ratio in canines by peri-apical X-rays: reliability in age determination of Spanish and Italian Medieval skeletal remains. *Journal of Archaeological Science*; 37: 3048-3058.

**De Luca S., Bautista J., Alemán I., Cameriere R.** 2011. Age-at-death estimation by pulp/tooth area ratio in canines: study of a 20th century

Mexican sample of prisoners to test Cameriere's method. *Journal of Forensic Sciences*; DOI: 10.1111/j.1556-4029.2011.01784.x.

**Del Río Muñoz P.A., Sánchez Sánchez J.A., Prieto Carrero J.L.** 2001. Estimación del sexo en la mandíbula mediante funciones discriminantes. *Cuadernos de Medicina Legal*; 26: 21-28.

**Dedouit F., Bindel S., Gainza D., Blanc A., Joffre F., Roug D., Telmon N.** 2008. Application of the Iscan method to two- and three-dimensional imaging of the sternal end of the right fourth rib. *Journal of Forensic Sciences*; 53(2): 288-295.

**Demirjian A., Goldstein H. y Tanner J.M.** 1973 A new system of dental age assessment. *Human Biology*; 42: 211-227.

**Demirjian A.** 1976. New systems for dental maturity based on seven and four teeth. *Annals for Human Biology*, 3(5): 211-411.

**Diaz G., Maccioni P., Zedda P., Cabitza F., Cortis IM.** 1993. Dental development in Sardinian children. *Journal of Craniofacial Genetics and Developmental Biology*; 13: 109–116.

**Dibennardo R., Taylor J.V.** 1983. Multiple discriminant function analysis of the sex and race in the postcranial skeleton, *American Journal of Physical Anthropology*; 61: 305-314.

**DiGangi E., Bethard J.D., Kimmerle E.H., Konigsberg L.W.** 2009 A new method for estimating age-at-death from the first rib. *American Journal of Physical Anthropology*; 138: 164–176.



**Dittrick J., Suchey J.M.** 1986. Sex determination of prehistoric central California skeletal remains using discriminant analysis of the femur and humerus. *American Journal of Physical Anthropology*; 70: 3–9.

**Drake R.L., Vogl W., Mitchell A.W.M.** 2005. *Gray, Anatomía para estudiantes*. Elsevier España S.A., Madrid.

**Dreizen S., Snodgrasse R.M., Webb-Peploe H., Parker G.S., Spies T.D.** 1957. Bilateral Symmetry of Skeletal Maturation in the Human Hand and Wrist. *Archives of Pediatrics and Adolescent Medicine*; 93(2): 122-127.

**Drusini A.G., Toso O., Ranzato C.** 1997. The coronal pulp cavity index: a biomarker for age determination in human adults. *American Journal of Physical Anthropology*; 103: 353-363.

**Dundaroz M.R., Sarici S.U., Denli M., Aydin H.I., Kocaoglu M., Ozisik T.** 2001. Bone age in children with nocturnal enuresis. *International Urology and Nefrology*; 32(3): 389-391.

**Düinkel F.** 1997. Jugendstrafrecht in Europa – Entwicklungstendenzen und Perspektiven. In: Düinkel F, van Kalmthout A, Schüler-Springorum H, editors. *Entwicklungstendenzen und Reformstrategien des Jugendstrafrechts im europäischen Vergleich*. Bonn: Forum Verlag Godesberg, 565-650.

**Dyankova S.** 2007. Anthropometric characteristics of wrists joint surfaces depending on lunate types. *Surgical and Radiologic Anatomy*; 29: 551-559.

**El-Bakary A.A., Hammad S.M., Mohammed F.** 2010. Dental age estimation in Egyptian children, comparison between two methods. *Journal of Forensic and Legal Medicine*; 17(7): 363-367.

**Elders P.J.M., Habets L.L.M.H., Netelembos J.C., Van Der Linden L.W.J., Van Der Stelt P.F.** 1992. The relation between periodontitis and systemic bone mass in women between 46 and 55 years of age. *Journal of Clinical Periodontology*; 19: 492-496.

**Escorcia Hernández L.** 2007. Determinación del sexo a través de funciones discriminantes de la rótula en esqueletos humanos contemporáneos provenientes de Caltimacán, Tasquillo, Hidalgo (México). *Estudios de Antropología Biológica*, 135-145.

**European Commission.** 2005. *Visit to Ceuta and Melilla – Mission Report. Technical mission to Morocco on illegal immigration.* Bruselas, 19 Octubre 2005, MEMO/05/380.

**Falsetti A.B.** 1995. Sex assessment from metacarpals of the human hand. *Journal of Forensic Sciences*; 40: 774-776.

**Farman A.G., Farman T.T.** 2005. A comparison of 18 different X-ray detectors currently used in dentistry. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*; 99: 485-489.

**Feipel V., Rinnen D., Rooze M.** 1998. Postero-anterior radiography of the wrist normal database of carpal measurements. *Surgical and Radiologic Anatomy*; 20: 221-226.

**Ferembach D., Schwidetzky J., Stloukal M.** 1980. Recommendations for age and sex diagnosis of skeletons. *Journal of Human Evolution*; 9: 517-549.

**Fischer R.A.** 1940. The precision of discriminant function. *Annals of Eugenics*; 10: 422–429.

**Flecker H.** 1932. Roentgenographic observations of the time of appearance of the epiphyses and their fusion with the diaphyses. *Journal of Anatomy*; 67: 118–164.

**Fleshman K.** 2000. Bone age determination in a pediatric population as an indicator of nutritional status. *Tropical Doctor*; 30: 16-18.

**Foti B, Adalian P., Signoli M., Ardagna Y, Dutour O., Leonetti G.** 2001. Limits of the Lamendin method in age determination. *Forensic Science International*; 122: 101-106.

**Freyschmidt J., Brossmann J., Wiens J., Stenberg A.** 2001. *Borderlands of normal and early pathological findings in skeletal radiography*. 5<sup>th</sup> edition, Georg Thieme Verlag, Berlin.

**Galera V., Ubelaker D.H., Hayek L.C.** 1998. Comparison of macroscopic cranial methods of age estimation applied to skeletons from the Terry collection. *Journal of Forensic Sciences*; 43: 933–939.

**Galić I., Vodanović M., Cameriere R., Nakaš E., Galić E., Selimović E., Brkić H.** 2010. Accuracy of Cameriere, Haavikko, and Willems radiographic methods on age estimation on Bosnian–Herzegovian children age groups 6–13. *International Journal of Legal Medicine*; DOI 10.1007/s00414-010-0515-8.

**Galić I., Nakaš E., Prohić S., Selimović E., Obradović B., Petrovečki M.** 2010. Dental age estimation among children aged 5–14 years using the Demirjian method in Bosnia-Herzegovina. *Acta Stomatologica Croata*; 44(1): 17–25.

**Gapert R., Black S., Last J.** 2009. Sex determination from the occipital condyle: discriminant function analysis in an eighteenth and nineteenth century British sample. *American Journal of Physical Anthropology*; 138: 384-394.

**Garamendi P.M., Landa M.I.** 2003. Estimación de la edad forense entorno a 18 años. Revisión bibliográfica. *Cuadernos de Medicina Forense*; 31: 13-24.

**Garamendi P.M., Landa M.I.** 2003. Estimación forense de la edad en torno a 18 años. Revisión bibliográfica. *Cuadernos de Medicina Forense*; 31: 13-24.

**Garamendi P.M., Landa M.I., Ballesteros J., Solano M.A.** 2003. Estimación forense de la edad en torno a los 18 años. Estudio en una población de inmigrantes indocumentados de origen marroquí. *Cuadernos De Medicina Forense*; 31: 25-35.

**Garamendi P.M., Landa M.I., Ballesteros J., Solano M.A.** 2005. Reliability of the methods applied to assess age minority in living subjects around 18 years old. A survey on a Moroccan origin population. *Forensic Science International*; 154: 3–12.

**Garamendi P.M., Landa M.I., Ballesteros J., Solano M.A.** 2005. Reliability of the methods applied to assess age minority in living

subjects around 18 years old. A survey on a Moroccan origin population. *Forensic Science International*; 154: 3-12.

**Garamendi P.M., Bañón R., Pujol A., Aguado F., Landa M.I., Prieto J.L., Serrulla F.** 2010. Recomendaciones sobre métodos de estimación forense de la edad de los menores extranjeros no acompañados. *Revista Española de Medicina Legal*; 37(1): 22-29.

**Garn S.M., Lewis A.B., Polachek D.L.** 1959. Variability of tooth formation. *Journal of Dental Research*; 38: 135-48.

**Garn S.M., Rohmann C.G., Silverman F.N.** 1967. Radiographic standards for postnatal ossification and tooth calcification. *Medical Radiography and Photography*; 43: 45-66.

**Geist J.R., Katz J.O.** 2002. Radiation dose reduction techniques in North American dental schools. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, Endodontology*; 93: 495-505.

**Genovés S.** 1962. *Introducción al diagnóstico de la edad y del sexo en restos óseos prehistóricos*. UNAM, IIH, México, pp. 140.

**German interdisciplinary working group for age diagnostics.** 2001. Recommendations on Age Diagnostics of Living Persons in Criminal Proceedings. NEWSLETTER. German Association Of Forensic Odonto-Stomatology (AKFOS); 8(2).

**Gil-Chavarría I., García García R., Reyes Gasga J.** 2007. Bioestructura de la unión entre esmalte y dentina en dientes humanos. *Acta microscópica*; 16(2): 232-233.

**Giles E., Elliot O.** 1963. Sex determination by discriminant function analysis of crania. *American Journal of Physical Anthropology*; 21: 53-68.

**Giles E.** 1970. Sexing crania by discriminant function analysis. *Proceedings of the 8th International Congress of Anthropological and Ethnological Science*; A: 259-261.

**Gleiser I, Hunt E.E.** 1955. The permanent mandibular first molar: Its calcification, eruption, and decay. *American Journal of Physical Anthropology*; 13: 253–283.

**Goaz P., White S.C.** 1994. *Oral radiology, principles and interpretation*. St. Louis, Mosby.

**Gómez De Ferraris M.<sup>a</sup>E., Campos Muñoz A.** 2002. *Histología y embriología bucodental*. Editorial Medica Panamericana, España, 458 páginas.

**González P., Bernal V., Barrientos G.** 2005. Estimación del dimorfismo sexual en el esqueleto pélvico y mandibular de individuos subadultos: comparación de técnicas visuales y de morfometría geométrica. *Werken*; 6: 49-61.

**González Colmenares G.** 2007. *Determinación de la edad en adultos mediante un método dental. Aplicación y análisis*. Tesis doctoral, Universidad de Granada (España).

**González-Colmenares M.C., Botella López G., Moreno-Rueda, Cardenete J.R.** 2007. Age estimation by a dental method: A Comparison of Lamendin's and Prince & Ubelaker's Technique. *Journal of Forensic Sciences*; 52: 1156-1160.

**González-José R., Dahinten S., Hernández M.** 2001. The settlement of Patagonia: a matrix correlation study. *Human Biology*; 73: 233-248.

**Goren A.D., Bonvento M., Biernacki J., Colosi D.C.** 2008. Radiation exposure with the NOMADTM portable X-ray system. *Dentomaxillofacial Radiology*; 37: 109-112.

**Greulich W.W., Pyle S.I.** 1959. *Radiographic atlas of skeletal development of the hand and wrist*. Stanford University Press, Stanford.

**Griffin R.C., Chamberlain A.T., Hotz G., Penkman K.E.H., Collins M.J.** 2009. Age estimation of archaeological remains using amino acid racemization in dental enamel: a comparison of morphological, biochemical, and known ages-at-death. *American Journal of Physical Anthropology*; 140: 244-252.

**Gualdi-Russo E.** 2007. Sex determination from the talus and calcaneus measurements. *Forensic Science International*; 171: 151-156.

**Gupta A., Al-Moosawi N.M.** 2002. Lunate morphology. *Journal of Biomechanics*; 35: 1451-1457.

**Gustafson G.** 1950. Age determination on teeth. *JADA*; 41: 45-54.

**Haavikko K.** 1970. The formation and the alveolar and clinical eruption of the permanent teeth. An orthopantomographic study. *Suomen Hammaslaak Toim*; 66(3): 103-170.

**Haavikko K.** 1974. Tooth formation age estimated on a few selected teeth. A simple method for clinical use. *Proceedings of the Finnish Dental Society*; 70(1): 15-19.

**Hägg U., Taranger J.** 1980. Skeletal stages of the hand and wrist as indicators of the pubertal growth spurt. *Acta Odontologica Scandinavica*; 38: 187–200.

**Haglund W.D.; Sorg M.H.** 2002. *Advances in forensic taphonomy. Method, theory and archaeological perspectives*. Boca Raton: CRC Press.

**Haiter-Neto F., Kurita M.L., Menezes A.V., Casanova M.S.** 2006. Skeletal age assessment: a comparison of three methods. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*; 130: 435e15–435e20.

**Hanihara K.** 1959. Sex diagnosis of Japanese skulls and scapulae by means of discriminant functions. *Journal of Anthropological Society of Nippon*; 67: 21-27.

**Harris E.F., McKee J.H.** 1990. Tooth mineralization standards for blacks and whites from the middle southern United States. *Journal of Forensic Sciences*; 35: 859–872.

**Helfman P.D., Bada J.L.** 1975. *Aspartic acid racemization in tooth enamel from living humans*. Ponencia presentada en National Academy of Sciences of the United States of America.

**Heyerdahl S., Kase B.F., Stake G.** 1994. Skeletal maturation during thyroxin treatment in children with congenital hypothyroidism. *Acta Paediatrica*; 183: 618–622.



**Holman D.J., Bennet K.A.** 1991. Determination of sex from arm bone measurements. *American Journal of Physical Anthropology*; 84: 421-426.

**Hooton E.** 1947. *Up from the ape*. New York: MacMillan, 1947.

**Hoppa R.D., Vaupel J.W.** 2002. *Paleodemography: age distributions from skeletal samples*. (Cambridge studies in biological and evolutionary anthropology 31). Cambridge: Cambridge University Press.

**Human Rights Watch.** 2002. Discrecionalidad sin límites: la aplicación arbitraria de la ley española de inmigración.

**Humphrey L.T., Scheuer L.** 2006. Age of closure of the foramen of Huschke: an osteological study. *International Journal of Osteoarchaeology*; 16: 47-60.

**Igarashi Y., Uesu K., Wakebe T., Kanazawa E.** 2005. New method for estimation of adult skeletal age at death from the morphology of the auricular surface of the ilium. *American Journal of Physical Anthropology*; 128: 324–339.

**Introna F., Di Vella G., Campobasso C.P., Dragone M.** 1997. Sex determination by discriminant analysis of calcanei measurements. *Journal of Forensic Sciences*; 42: 723–726.

**Işcan M.Y., Yoshino M., Kato S.** 1994. Sex determination from the tibia. *Journal of Forensic Sciences*; 39: 785–792.

**Işcan M.Y.** 2001. Global forensic anthropology in the 21st century. *Forensic Science International*; 117(1-2): 1-6.

**Işcan M.Y.** 2005. Forensic anthropology of sex and body size. *Forensic Science International*; 147: 107-112.

**Işcan M.Y., Loth S.** 1989. Osteological manifestation of age in the adult. In: Işcan M.Y., Kennedy K.A.R. (ed.) *Reconstruction of Life from the Skeleton*. Wiley-Liss, New York, NY. Pp. 23–40.

**Işcan M.Y., Solla H.E., McCabe B.Q.** 2005. Victim of a dictatorial regime: Identification of Mr. Roberto Gomensoro Josman. *Forensic Science International*; 151: 213-220.

**Izagirre N., de Bizcarra N., Alzualde A., de La Rua C.** 2001. Estimación del sexo a nivel molecular en restos esqueléticos humanos. *Munibe (Antropología-Arkeología)*; 53: 143-150.

**Kagerer P., Grupe G.** 2001. Age-at-death diagnosis and determination of life-history parameters by incremental lines in human dental cementum as an identification aid. *Forensic Science International*; 118: 75-82.

**Kelley M.** 1979. Sex determination with fragmented skeletal remains, *Journal of Forensic Sciences*; 24: 154–158.

**Kemkes-Grottenthaler A.** 2002. Ageing through the ages: historical perspectives on age indicator methods. In: Hoppa R.D., Vaupel J.W. (ed.) *Paleodemography: age distributions from skeletal samples* (Cambridge studies in biological and evolutionary anthropology 31). Cambridge: Cambridge University Press. Pp. 48-72.

**Kim Y.K., Kho H.S., Lee K.H.** 2000. Age estimation by occlusal tooth wear. *Journal of Forensic Sciences*; 45(2): 303–9.

**Kimmerle E.H., Konigsberg L.W., Jantz R.L., Baraybar J.P.** 2008. Age-at-death estimation through the use of pubic symphyseal data. *Journal of Forensic Sciences*; 53: 558–566.

**Kodaka T., Sano T., Higashi S.** 1996. Structural and calcification patterns of the neonatal line in the enamel of human deciduous teeth. *Scanning Microscopy*; 10(3): 737–43.

**Kock A., Karaoglanoglu M., Erdogan M., Kosecik M., Cesur Y.** 2001. Assessment of bone ages: is the Greulich-Pyle method sufficient for Turkish boys? *Pediatrics International*; 43: 662–665.

**Komar D.A., Buikstra J.E.** 2008. *Forensic Anthropology: Contemporary Theory and Practice*. New York: Oxford University Press.

**Krailassiri S., Anuwongnukroh N., Dechkunakorn S.** 2002. Relationship between dental calcification stages and skeletal maturity indicators in Thai individuals. *Angle Orthodontics*; 72: 155–166.

**Krogman W.M.** 1946. The skeleton in forensic medicine. *Proceedings of the Institute of Medicine of Chicago*; 16: 154.

**Krogman W.M., Işcan M.Y.** 1986. *The Human skeleton in Forensic Medicine*. Charles C. Thomas Publishers, Springfield.

**Kullman L., Johanson G., Akesson L.** 1992. Root development of the lower third molar and its relation to chronological age. *Swedish Dental Journal*; 16: 161–167.

**Kullman L.** 1995. Accuracy of two dental and one skeletal age estimation method in Swedish adolescents. *Forensic Science International*; 75: 225-36.

**Kvaal S.I., Solheim T.** 1994. A non destructive dental method for age estimation. *Journal of Forensic Odontostomatology*; 12(1): 6-11.

**Kvaal S.I., Solheim T.** 1995. Incremental lines in human dental cementum in relation to age. *European Journal of Oral Science*; 103: 225-230.

**Kvaal S.I., During E.M.** 1999. A Dental Study Comparing Age Estimations of the Human Remains from the Swedish Warship Vasa. *International Journal of Osteoarchaeology*; 9: 170-181.

**Kvaal S.I., Kolltveit K.M., Thomsen I.O., Solheim T.** 1995. Age estimations of adults from dental radiographs. *Forensic Science International*; 74: 175–185.

**Jackes M.** 2000. Building the bases for paleodemographic analysis: adult age determination. In: Katzenberg MA, Saunders SR, editors. *Biological anthropology of the human skeleton*. New York: Wiley-Liss, Inc. Pp. 417–466.

**Jankauskas R., Barakauskas S., Bojarun R.** 2001. Incremental lines of dental cementum in biological age estimation. *Homo*; 52: 59-71.

**Johanson G.** 1971. Age determination from human teeth. *Odontological Revy*; 22(Suppl. 21): 40-126.

**Lacey K.A., Parkin J.M., Steel G.H.** 1973. Relationship between bone age and dental development. *Lancet*; 29: 736–737.

**Lagunas Rodríguez Z.** 1975. La determinación sexual en mandíbulas por medio de las funciones discriminantes. *Anales del Instituto Nacional de Antropología e Historia*; 4: 171-178.

**Lamendin H., Baccino E., Humbert J.F., Tavernier J.C., Nossintchouk R.M., Serilli A.** 1992. A simple technique for age estimation in adult corpses: the two criteria dental method. *Journal of Forensic Science*; 37(5): 1373-1379.

**Lamons F.F., Gray S.W.** 1958. Study of the relationship between tooth eruption age, skeletal development age, and chronological age in sixty-one Atlanta children. *American Journal of Orthodontics*; 44: 687–691.

**Lampl M., Johnston F.E.** 1996. Problems in the Aging of Skeletal Juveniles: Perspectives From Maturation Assessments of Living Children. *American Journal of Physical Anthropology*; 101: 345-355.

**Landa M.I., Garamendi P.M., Botella M.C., Alemán I.** 2009. Application of the method of Kvaal et al. to digital orthopantomograms. *International Journal of Legal Medicine*; 123(2): 123-128.

**Latarjet M., Ruíz Liard A., Pró E.** 2004. *Anatomía humana*. Editorial Medica Panamericana, Madrid.

**Lazenby R.A.** 1994. Identification of sex from metacarpals: effect of side asymmetry. *Journal of Forensic Sciences*; 39: 1188-1194.

**Lazenby R.A.** 2002. Population variation in second metacarpal sexual size dimorphism. *American Journal of Physical Anthropology*; 118: 378–384.

**Le Minor J.M., Rapp E.** 1956. Relative weights of the human carpal bones: biological and functional interests. *Annals of Anatomy*; 183(6): 537-543.

**Levinsohn E.M.** 1990. Imaging of the wrist. *Radiologic Clinics of North America*; 28: 905-921.

**Librenti M.** 2003. La necropoli bassomedievale. In Ortalli J. (ed.) *San Pietro prima del Castello. Gli scavi dell'ex-Cinema Teatro Bios a Castel San Pietro Terme (Bologna)*. All'Insegna del Giglio, Firenze. Pp. 54-61.

**Lieberman D.E.** 1994. The biological basis for seasonal increments in dental cementum and their application to archaeological research. *Journal of Archaeological Science*; 21: 525-539.

**Lindgren E.** 1949. Some radiological aspects of the carpal scaphoid and its fractures. *Acta Chirurgica Scandinavica*; 98: 538-548.

**Liversidge H.M.** 1994. Accuracy of age estimation from developing teeth of a population of known age ( $0 \pm 5.4$  years). *International Journal of Osteoarchaeology*; 4: 37-45.

**Liversidge H.M.** 2008. Timing of human mandibular third molar formation. *Annals of Human Biology*; 35(3): 294-321.

**Liversidge H.M.** 2008. Dental age revisited. In: Irish JD, Nelson GC, editors. *Technique and application in dental anthropology*. Cambridge: Cambridge University Press, 234–252.

**Liversidge H.M.** 2010. Interpreting group differences using Demirjian's dental maturity method. *Forensic Science International*; 201(1–3):95– 101.

**Liversidge H.M., Molleson T.** 1999. Developing permanent tooth length as an estimate of age. *Journal of Forensic Science*; 44: 917-920.

**Liversidge H.M., Lyons F., Hector M.P.** 2003. The accuracy of three methods of age estimation using radiographic measurements of developing teeth. *Forensic Science International*; 131: 22–29.

**Liversidge H.M., Smith B.H., Maber M.** 2010. Bias and Accuracy of Age Estimation Using Developing Teeth in 946 Children. *American Journal of Physical Anthropology*; 143(4): 545-554.

**Loevy H.T.** 1983. Maturation of permanent teeth in black and latino children. *Journal Dental Research*; 62: 296.

**López-Bueis I.** 1995. *Dimorfismo sexual de la tibia: estudio biométrico y paleopatológico*. Tesis de Licenciatura. Universidad Complutense de Madrid.

**López-Bueis I., Robledo B., Rosello J., Trancho G.J.** 1996. Funciones discriminantes para la determinación sexual de la tibia en una serie española de sexo y edad conocidos. En: *Avances en Antropología ecológica y genética*. Ed. Universidad de Zaragoza. pp. 51-58. ISBN 84-89513-35-X.

- López-Bueis I., Robledo B., Del Rio P., Trancho G.J.** 1997. Identificación sexual del cúbito mediante funciones discriminantes. X Congreso de la SEAB. León. En: *Tendencias actuales de investigación en la Antropología Física Española*. Pp. 173-178. Isbn 84-7719-816-6.
- Lovejoy C.O., Meindl R.S., Pryzbeck T.R., Mensforth R.P.** 1985. Mensforth chronological metamorphosis of the auricular surface of the ilium. A new method for the determination of adult skeletal age at death. *American Journal of Physical Anthropology*; 68(1): 15-28.
- Lucy D., Pollard A.M., Roberts C.A.** 1995. A comparison of three dental techniques for estimating age at death in humans. *Journal of Archaeological Science*; 22: 417-428.
- Luna L.H.** 2006. Evaluation of uniradicular teeth for age-at-death estimations in a sample from a Pampean hunter-gatherer cemetery (Argentina). *Journal of Archaeological Science*; 33: 1706-1717.
- Maber M., Liversidge H.M., Hector M.P.** 2006. Accuracy of age estimation of radiographic methods using developing teeth. *Forensic Science International*; 159: S68–S73.
- Mall G., Gehring K., Graw M., Hubig M.** 2000. Determination of sex from femora. *Forensic Science International*; 113: 315–321.
- Manly J.** 2007. *Randomization, bootstrap and Monte Carlo methods in Biology*. Third Edition, London, pp. 81-91.
- Maples W.R.** 1978. An improve technique using dental histology for estimation of adult age. *Journal of Forensic Science*; 23: 764-770.



**Maples W.R.** 1989 The practical application of age-estimation techniques. In *Age Markers in the Human Skeleton*. İşcan M.Y. (ed.) Springfield: Charles C. Thomas. Pp. 319-324.

**Maples W.R., Rice P.M.** 1979. Some difficulties in the Gustafson dental age estimations. *Journal of Forensic Sciences*; 24(1): 168-172.

**Mappes M.S., Harris E.F., Behrents R.G.** 1992. An example of regional variation in the tempos of tooth mineralization and hand-wrist ossification. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*; 101: 145– 151.

**Marshall L.G.** 1989. Bone modification and "The Laws of Burial." In *Bone Modification*. R. Bonnichsen and M.H. Sorg (ed.) Center for the Study of the First Americans, Orono, ME. Pp. 7-24.

**Marti-Bonmati L.** 2002. Conclusiones del primer simposio de imagen digital en radiología y su entorno. Necesidades de los sistemas de información de radiología. IX Congreso de Informática Médica, Informed.

**Martín Cerrato A.** 2010. Relación entre edad cronológica y edad dental. Tesis doctoral, Universidad Complutense de Madrid.

**Martín-de las Heras S., Valenzuela A., Overall C.M.** 2000. Gelatinase in human dentin as a new biochemical marker for age estimation. *Journal Forensic Science*; 45(4): 807-811.

**Martín-de las Heras S.** 2005. Estimación de la edad a través del estudio dentario. *Ciencia forense*; 7: 69-90.

**Martín-de las Heras S., Valenzuela A., Villanueva E.** 1999. Deoxypyridinoline crosslinks in human dentin and estimation of age. *International Journal of Legal Medicine*; 112: 222-226.

**Martín-de las Heras S., Valenzuela A., Bellini R., Salas C., Rubiño M., García J.A.** 2003. Objective measurement of dental color for age estimation by spectroradiometry. *Forensic Science International*; 132: 57-62.

**Martín-de las Heras S., García Fortea P., Ortega A., Zodocovich S., Valenzuela A.** 2008. Third molar development according to chronological age in populations from Spanish and Magrebian origin. *Forensic Science International*; 174: 47-53.

**Martins M.G., Haiter Neto F., Whaites E.J.** 2003. Analysis of digital images acquired using different phosphor storage plates (PSPs) subjected to varying reading times and storage conditions. *Dentomaxillofacial Radiology*; 32(3): 186-190.

**Martin R., Saller K.** 1959. *Lehrbuch der Anthropologie*. In: Gustav Fischer (Ed.), Stuttgart.

**Martrille L., Ubelaker D., Cattaneo C., Seguret F., Tremblay M., Baccino E.** 2007. Comparison of four skeletal methods for the estimation of age-at-death in white and black adults. *Journal of Forensic Sciences*; 52: 302–307.

**Martrille L., Irinopoulou T., Bruneval P., Baccino E., Fornes P.** 2009. Age at Death Estimation in Adults by Computer-Assisted Histomorphometry of Decalcified Femur Cortex. *Journal of Forensic Sciences*; 54: 1231-7.

**Masih ST, Morrison LG, MassothRJ, Taylor T, Maxwell P.** 2006. Working with a hand-held dental X-Ray unit: Equipment evaluation is just the beginning or ‘‘It just goes to show you, it’s always something’’. Proceedings of the Council of Radiation Control Directors Annual Meeting.

**Mastrangelo P., De Luca S., Alemán I., Botella M.C.** 2011. Sex assessment from the carpal bones: discriminant function analysis in a 20<sup>th</sup> century Spanish sample. *Forensic Science International*; 10.1016/j.forciint.2011.01.007.

**Mays S.** 1998. *The archaeology of human bones*. Routledge, London, New York.

**Mays S.** 2006. Age-Related cortical bone loss in women from a 3rd–4th Century AD Population From England. *American Journal of Physical Anthropology*; 129: 518-528.

**Mckenna C.J.** 1999. Radiography in forensic dental identification-A review. *Journal of Forensic Odontostomatology*; 17(2): 47-50.

**Megyesi M.S., Ubelaker D.H., Sauer N.J.** 2006. Test of the Lamendin aging method on two historic skeletal samples. *American Journal of Physical Anthropology*; 131: 363-367.

**Meindl R.S., Lovejoy C.O.** 1985. Ectocranial suture closure: a revised method for the determination of skeletal age at death based on the lateral-anterior sutures. *American Journal of Physical Anthropology*; 68(1): 57-66.

**Meindl R.S., Russel K.F.** 1997. Recent advances in method and theory in palaeodemography. *Annual Review of Anthropology*; 27: 375–399.

**Meinl A., Tangl S., Huber C., Maurer B., Watzek G.** 2007. The chronology of third molar mineralization in the Austrian population—a contribution to forensic age estimation. *Forensic Science International*; 169: 161–167.

**Miles A.E.W.** 1999. A five-grade categorization of age-related change in the acromio-clavicular joint derived from the skeletal remains of early 19th century Londoners of known sex and age. *International Journal of Osteoarchaeology*; 9: 83-101.

**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. *Journal of Forensic Science*; 38: 379–390.

**Mol A.** 2000. Instrumentos de procesamiento de imagen para aplicaciones dentales. *Dental Clinics of North America*; 44(2): 323-34.

**Moorees C.F.A., Fanning E.A., Hunt E.E.** 1963a Age variation of formation stages for ten permanent teeth. *Journal of Dental Research*; 42(6): 264-270.

**Moorees C.F.A., Fanning E.A., Hunt E.E.** 1963b. Formation and resorption of three deciduous teeth in children. *American Journal of Physical Anthropology*; 21: 205-213.

**Morse D.R., Esposito J.V., Schoor R.S.A.** 1993. Radiographic study of aging changes in the dental pulp and dentin of normal teeth. *Quintessence International*; 24: 329-333.

**Murail P., Bruzek J., Braga J.** 1999. A new approach to sexual diagnosis in past populations. Practical adjustments from Van Vark's procedure. *International Journal of Osteoarchaeology*; 9: 39-53.

**Murphy A.M.C.** 2002. The calcaneus: sex assessment of prehistoric New Zealand Polynesian skeletal remains. *Forensic Science International*; 129(3): 205-208.

**Murray P.E., Stanley H.R., Matthews J.B., Sloan A.J., Smith A.J.** 2002. Age-related odontometric changes of human teeth. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontics*; 93: 474-482.

**Navarro A.** 1929. Luxaciones del carpo. *Annales de la Facultad de Medicina*; 6: 113-141.

**Nichols R., Townsend E., Malina R.** 1983. Development of permanent dentition in Mexican American children. *American Journal of Physical Anthropology*; 60: 232.

**Nielsen H.G., Ravn J.J.** 1976. A radiographic study of mineralization of permanent teeth in a group of children aged 3-7 years. *Scandinavian Journal of Dental Research*; 84: 109-118.

**Noback C.R.** 1954. The appearance of ossification centers and the fusion of bones. *American Journal of Physical Anthropology*; 12: 63-69.

**Noble W.** Estimation of age from the dentition. *Journal of Forensic Sciences*; 14: 215.

**Nolla C.** 1960. The development of the permanent teeth. *Journal Dental Child*; 27: 254-266.

**Ochollo T.J.O.** 1990. The accuracy and reliability of radiographically determined dental age: Observations from two groups of 4–16 year-olds (Abstract). *Journal of Dental Research*; 69: 967.

**Ogino T., Ogino H.** 1988. Application to Forensic Odontology of aspartic acid racemization in unerupted and supernumerary teeth. *Journal of Dental Research*; 67: 1319-1322.

**Ogino T., Ogino H., Nagy B.** 1985. Application of aspartic acid racemisation to forensic odontology: post-mortem designation of age-at-death. *Forensic Science International*; 29: 259-267.

**Ohtani S.** 1991. Age estimation using the racemisation of amino acid in human dentin. *Journal of Forensic Sciences*; 36: 792-800.

**Ohtani S., Yamamoto K.** 1987. Age estimation using the racemization of aspartic acid in human dentine. *Japan Journal of Legal Medicine*; 41:181- 190.

**Ohtani S.** 1991. Age estimation using the racemization of aminoacid in human dentin. *Journal of Forensic Sciences*; 36: 792-800.

**Oliveira R.N., Silva S.F.S.M., Kawanoa S.B., Antunes J.L.F.** 2006. Estimating age by tooth wear of prehistoric human remains in Brazilian archaeological sites. *International Journal of Osteoarchaeology*; 16: 407-414.

**Olze A., Van Niekerk P., Ishikawa T., Zhu B.L., Schultz R., Maeda H., Schmeling A.** 2007. Comparative study on the effect of ethnicity on wisdom tooth eruption. *International Journal of Legal Medicine*; 121: 445–448.

**Orhan K., Ozer L., Orhan A.I., Dogan S., Paksoy C.S.** 2007. Radiographic evaluation of third molar development in relation to chronological age among Turkish children and youth. *Forensic Science International*; 165: 46–51.

**Ortega Piga A.** 1974. *Identificación médico-legal: técnica radiológica maxilofacial*. Tesina de Licenciatura. Universidad Complutense de Madrid, Madrid.

**Ousley S.** 1995. Should we estimate biological or forensic stature? *Journal of Forensic Sciences*; 40(5): 768–73.

**Paewinsky E., Pfeiffer H., Brinkmann B.** 2005. Quantification of secondary dentine formation from orthopantomograms—a contribution to forensic age estimation methods in adults. *International Journal of Legal Medicine*; 119: 27–30.

**Pasler F.A.** 1988. *Radiología odontológica*. Ed. Salvat, Barcelona.

**Pasler F.A.** 1992. *Atlas de radiología odontológica*. Ed. Salvat, Barcelona.

**Passalacqua N.V.** 2009. Forensic Age-at-Death Estimation from the Human Sacrum. *Journal of Forensic Sciences*; 54: 255–62.

**Pérez C.** 2000. *Técnicas de Muestreo-Estadística*. Grupo editor Alfa-omega, Madrid, España.

**Pérez Vargas L.F., Díaz Soriano A.M., Sueldo-Guevara M.A., Alcántara Mena C., Aguilar Arakaki R.E., Acedo Membrillo J.E., Alvarado Anicama R.M., Amanca Peralta M.A., Alvarado González F., Alvarado Ramírez K.** 2008. Efecto del peróxido de carbamida sobre el esmalte dentario a diferentes concentraciones y tiempos de exposición. *Odontología Sanmarquina*; 8(1): 25-29.

**Pfau R.O., Sciulli P.W.** 1994. A method for establishing the age of subadults. *Journal of Forensic Sciences*; 39: 165–176.

**Pfeiffer H., Mornstad H., Teivens A.** 1995. Estimation of chronological age using the aspartic acid racemization method. I. On human rib cartilage. *International Journal of Legal Medicine*; 108: 19-23.

**Philippas G.G.** 1961. Influence of occlusal wear and age on formation of dentin and size of pulp chamber. *Journal of Dental Research*; 40: 1186-1198.

**Philippas G.G., Applebaum E.** 1966. Age factor in secondary dentin formation. *Journal of Dental Research*; 45: 778–789.

**Philippas G.G., Applebaum E.** 1967. Age changes in the permanent upper lateral incisor. *Journal of Dental Research*; 46: 1002–1009.

**Philippas G.G., Applebaum E.** 1968. Age changes in the permanent upper canine teeth. *Journal of Dental Research*; 47: 411–417.

**Prieto J.L., Abenza J.M.** 1998. Métodos para valorar la edad en el adolescente. *Revista Española de Medicina Legal*; 84-85: 45-50.



**Prieto J.L.** 2002. Datos biológicos aportados por los dientes. El proceso de necroidentificación odontológica. En Fundación Mapfre Medicina (Ed.), *Antropología y Paleontología dentarias*. Madrid.

**Prieto J.L.** 2004. El estudio dental aplicado a la estimación de la minoría de edad. Jornadas sobre “Determinación Forense de la Edad en Menores Indocumentados”. San Sebastián, Marzo 2004.

**Prieto J.L., Barbería E., Ortega R., Magaña C.** 2005. Evaluation of chronological age based on third molar development in the Spanish population. *International Journal of Legal Medicine*; 119: 349–354.

**Prince D.A., Ubelaker D.H.** 2002. Application of Lamendin’s adult dental aging technique to a divers skeletal sample. *Journal of Forensic Sciences*; 47(1): 107-116.

**Quiros O., Quiros J.** 2005. Radiología digital, ventajas, desventajas, implicaciones éticas. Revisión de la literatura. *Revista Latinoamericana de Ortodoncia y Odontopediatría*; 23: 1-5.

**R Development Core Team** 1998. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. (ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.r-project.org>); 03/11/2010.

**Rai B., Kaur J., Cingolani M., Ferrante L., Cameriere R.** 2010. Age estimation in children by measurement of open apices in teeth: an Indian formula. *International Journal of Legal Medicine*; 124(3): 237-241.

**Renz H., Radlanski R.J.** 2006. Incremental lines in root cementum of human teeth - A reliable age marker? *Journal of Comparative Human Biology*; 57: 29-50.

**Reyneri E.** 2002. Migrants' involvement in irregular employment in the Mediterranean countries of the European Union. *International Migration Paper*; 41, Geneva: ILO.

**Richards L.C., Miller S.L.** 1991. Relationships between age and dental attrition in Australian Aborigines. *American Journal of American Anthropology*; 84: 159-164.

**Ríos Frutos L.** 2002. Determination of sex from the clavicle and scapula in a Guatemalan contemporary rural indigenous population. *American Journal of Forensic Medicine and Pathology*; 23(3): 284-288.

**Ríos Frutos L.** 2003. Brief communication: sex determination accuracy of the minimum supero-inferior femoral neck diameter in a contemporary rural Guatemalan population. *American Journal of Physical Anthropology*; 122: 123-126.

**Ríos Frutos L.** 2005. Metric determination of sex from the humerus in a Guatemalan forensic sample. *Forensic Science International*; 147(2): 153-157.

**Ritz S., Schutz H.W., Schwarzer B.** 1990. The extent of aspartic acid racemization in dentin: a possible method for a more accurate determination of age at death? *Z Rechtsmed*; 103: 457-462.

**Ritz-Timme S., Cattaneo C., Collins M.J., Waite E.W., Schütz H.W., Kaatsch H.J., H.I.M. Borrman.** 2000. Age estimation: the state

of the art in relation to the specific demands of forensic practise. *International Journal of Legal Medicine*; 113: 129-136.

**Robledo B.** 1993. *Dimorfismo sexual del hueso coxal en una población española* (s. XV-XVII). Tesis de Licenciatura. Universidad de Granada.

**Robledo B., Trancho G.J.** 1991. Valoración del dimorfismo sexual a partir de las dimensiones del hueso coxal en la población de Wamba (Valladolid). En: *Nuevas perspectivas en Antropología*. Botella M., Jiménez S. y Souich P. eds. Granada. pp. 807-818. ISBN 84-605-2082-X.

**Robledo B., Trancho G.J.** 1994. Sexual determination of the innominate bone: discriminant functions. En: *Biología de las poblaciones humanas: problemas metodológicos e interpretación ecológica*. Ed. Universidad Autónoma de Madrid. pp. 195-204. ISBN 84-7477-493-4.

**Robledo B., Lopez-Bueis I., Del Rio P. Y Trancho G.J.** 1996. Determinación sexual del coxal mediante funciones discriminantes. Análisis de una serie española de sexo y edad conocidos. En: *Avances en Antropología ecológica y genética*. Ed. Universidad de Zaragoza. pp. 105-112. ISBN 84-89513-35-X.

**Robledo B., López-Bueis I., Sánchez J.A., Trancho G.J.** 1997. Peroné: funciones discriminantes para la determinación sexual. X Congreso de la SEAB. León. En: *Tendencias actuales de investigación en la Antropología Física Española*. pp. 179-186. ISBN 84-7719-816-6.

**Robling A.G., Ubelaker D.H.** 1997. Sex estimation from the metatarsals. *Journal of Forensic Sciences*; 42: 1062–1069.

**Roche A.F., Chumlea C., Thissen D.** 1988. Assessing the skeletal maturity of the hand–wrist: FELS method. Charles C. Thomas, Springfield, IL.

**Rodríguez Andaluz J.M., Mantecón Burgos J.** 1983. *Necro-identificación*. Dirección General de la Policía, Madrid.

**Rodríguez J.V.** 1999. *Antropología Forense*, 2ª ed. Ministerio de Justicia, Secretaría General Técnica, Centro de Publicaciones, Madrid.

**Roksandic M., Dejana V., Schillaci M.A., Voicu D.** 2009. Technical note: applicability of tooth cementum annulation to an archaeological population. *American Journal of Physical Anthropology*; 140: 583-588.

**Rösing F.W.** 2000. Forensische Altersdiagnose: statistik, Arbeitsregeln und darstellung. In: Oehmichen M, Geserick G (eds.) *Osteologische Identifikation* (Research in Legal Medicine/Rechtsmedizinische Forschungsergebnisse), Schmidt-Römhild, Lübeck, pp. 263–275.

**Rösing F.W., Graw M., Marré B., Ritz-Timme S., Rothschild M.A., Röttscher K., Schmeling A., Schröder I., Geserick G.** 2007. Recommendations for the forensic diagnosis of sex and age from skeletons. *Journal of Comparative Human Biology*; 58: 75-89.

**Ruby L.K., Cooney W.P., An K.N., Linscheid R.L., Chao E.Y.S.** 1988. Relative motion of selected carpal bones: A kinematic analysis of the normal wrist. *Journal of Hand Surgery-American Volume*; 13(1): 1-10.

**Sabel N., Johansson C., Kühnisch J., Robertson A., Steiniger F., Norén J.G., Klingberg K., Nietzsche S.** 2008.

**Saunders S.R., Yang D.** 1999. Sex determination: XX or XY from the human skeleton. In: S.I. Fairgrieve (Ed.), *Forensic osteological analysis*, Charles C. Thomas, Springfield, IL, pp. 36–59.

**Santini A., Land M., Raab G.M.** 1990. The accuracy of simple ordinal scoring of tooth attrition in age assessment. *Forensic Science International*; 48: 175-184.

**Scheuer L., Black S.** 2000. *Developmental Juvenile Osteology*. Academic Press, London.

**Scheuer J.L., Elkington N.M.** 1993. Sex Determination from metacarpals and the first proximal phalanx. *Journal of Forensic Science*; 38(4): 769-778.

**Schmeling A., Reisinger W., Loreck D., Vendura K., Markus W., Geserick G.** 2000. Effects of ethnicity on skeletal maturation: consequences for forensic age estimations. *International Journal of Legal Medicine*; 13: 252–258.

**Schmeling A., Olze A., Reisinger W., Geserick G.** 2001. Age estimation of living people undergoing criminal proceedings. *The Lancet*; 358(9276): 89-90.

**Schmeling A., Schulz R., Danner B., Rösing F.** 2006. The impact of economic progress and modernization in medicine on the ossification of hand and wrist. *International Journal of Legal Medicine*; 120: 121–126.

**Schmeling A., Geserick G., Reisinger W., Olze A.** 2007. Age estimation. *Forensic Science International*; 165: 178–181.

**Schmitt A.** 2002. Estimation de l'âge au décès des sujets adultes à partir du squelette: des raisons d'espérer. *Bulletins et Mémoires de la Société d'Anthropologie de Paris*; 14(1-2): 51-73.

**Schour I.** 1936. The neonatal line in enamel and dentin of the human deciduous teeth and first permanent molar. *Journal of American Dental Association*; 23: 1946–1955.

**Schour I., Massler M.** 1937. Rate and gradient of growth in human deciduous teeth with special reference to neonatal ring. *Journal of Dental Research*; 16: 349–350.

**Schour I., Massler M.** 1940. Studies in tooth development: the growth pattern of human teeth. *Journal of American Dental Association*; 27: 1918–1931.

**Schour I. Massler M.** 1941. The development of the human dentition. *Journal of American Dental Association*; 28: 1153–1160.

**Schulz R., Mühler M., Reisinger W., Schmidt S., Schmeling A.** 2008. Radiographic staging of ossification of the medial clavicular epiphysis. *International Journal of Legal Medicine*; 122: 55–58.

**Sciulli P.** 2007. Relative dental maturity and associated skeletal maturity in prehistoric Native Americans of the Ohio valley area. *American Journal of Physical Anthropology*; 132(4): 545-557.

- Senawongse P., Otsuki M., Tagami J., Mjör I.** 2006. Age-related changes in hardness and modulus of elasticity of dentin. *Archives of Oral Biology*; 51: 457-463.
- Sengupta A., Whittaker D.K., Shellis P.** 1999. Difficulties in estimating age using root dentine translucency in human teeth of varying antiquity. *Archives of Oral Biology*; 44: 889-899.
- Seradge H., Sterbank P.T., Espanta Seradge R.A., Owens W.** 1990. Segmental motion of the proximal carpal row: Their global effect on the wrist motion, *Journal of Hand Surgery*; 15(2): 236-239.
- Serrano D.** 2005. *Derecho penal juvenil Europeo*, Madrid, Dykinson.
- Ship J.A., Patton L.L., Tylenda C.A.** 1991. An assessment of salivary function in healthy premenopausal and postmenopausal females. *Journal of Gerontology*; 46: 5-11.
- Shiro-Ito.** 1975. Age estimation based on tooth crown. *International Journal of Forensic Dentistry*; 3: 9-14.
- Sierra A.M.** 1987. Assessment of dental and skeletal maturity. A new approach. *Angle Orthodontics*; 57: 194-298.
- Singh S., Singh G., Singh G.P.** 1974. Identification of sex from the ulna. *Indian Journal of Medical Research*; 62(5): 731-735.
- Siskos G.J., Georgopoulou M.** 2006. Unusual case of general pulp calcification (pulp stones) in a young Greek girl. *Dental Traumatology*; 6(6): 282-284.

**Skinner M., Dupras T.** 1993. Variation in birth timing and location of the neonatal line in human enamel. *Journal of Forensic Sciences*; 38(6): 1383–1390.

**Šlaus M., Tomičić Z.** 2005. Discriminant function sexing of fragmentary and complete tibiae from medieval Croatian sites. *Forensic Science International*; 147: 147-152.

**Smith B.H.** 1991. Standards of human tooth formation and dental age assessment. In: Kelley M and Larsen CS, editors. *Advances in Dental Anthropology*, New York: Wiley-Liss, 143–168.

**Smith S.L.** 1996. Attribution of hand bones to sex and population groups. *Journal of Forensic Sciences*; 41: 469–477.

**Smith S.L.** 1997. Attribution of foot bones to sex and population groups. *Journal of Forensic Sciences*; 42: 186–195.

**Smith P., Avishai G.** 2005. The use of dental criteria for estimating postnatal survival in skeletal remains of infants. *Journal of Archaeological Science*; 32: 83-89.

**Smith T.M., Reid D.J., Sirianni J.E.** 2006. The accuracy of histological assessments of dental development and age at death. *Journal of Anatomy*; 208: 125-138.

**Solheim T.** 1988. Dental color as an indicator of age. *Scandinavian Journal of Dental Research*; 97: 189–197.

**Solheim T.** 1992. Amount of secondary dentine as an indicator of age. *Scandinavian Journal of Dental Research*; 100: 193-199.



**Solheim T.** 1993. A new method for dental age estimation in adults. *Forensic Science International*; 59: 137-147.

**Solla H.E., Işcan M.Y.** 2001. Skeletal remains of Dr. Eugenio Antonio Berríos Sagredo. *Forensic Science International*; 116: 201-211.

**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 Science International*; 185: 110–114.

**Souguir M.K., Ben Dhiab M., Masmoudi T., Zemni M.** 2002. La détermination de l'âge chez le jeune tunisien. À propos de 200 cas. *Journal de Médecine Légale Droit Médical*; 45: 89-91.

**Speechly T.J., Liversidge H.M.** 1997. Accuracy of Demirjian's method of age determination on British children. (Abstract). *Journal of Dental Research*; 76: 247.

**Sponheimer M., Lee-Thorp J.A.** 1999. The alteration of enamel carbonate environments during fossilisation. *Journal of Archaeological Science*; 26: 143–150.

**Staaf V., Mornstad H., Welander U.** 1991. Age estimation based on tooth development: a test of reliability and validity. *Scandinavian Journal of Dental Research*; 99(4): 281–286.

**Steele D.G.** 1976. The estimation of sex on the basis of the talus and calcaneus. *American Journal of Physical Anthropology*; 45: 581–588.

**Steyn M., Işcan M.Y.** 1999. Osteometric variation in the humerus: sexual dimorphism in South Africans. *Forensic Science International*; 106: 77-85.

**Stojanowski C.M.** 1999. Sexing potential of fragmentary and pathological metacarpals. *American Journal of Physical Anthropology*; 109: 245-252.

**Streiner D.L., Norman G.R.** 1989. *Health measurement scales: a practical guide to their development and use*. New York, Oxford University Press

**Sulzmann C.E., Buchberry J.L., Pastor R.F.** 2008. The utility of carpals for sex assessment: a preliminary study. *American Journal of Physical Anthropology*; 135: 252–262.

**Szpringer-Nodzak M.** 1984. The location of the neonatal line in human enamel. *International Association of Dental Child*; 15: 1–6.

**Stott G.G., Sis R.F., Levy B.M.** 1982. Cemental annulation as an age criterion in Forensic Dentistry. *Journal of Dental Research*; 61(6): 814-817.

**Souich P. du.** 1979. Estudio antropológico de la necrópolis medieval de La Torrecilla (Arenas del Rey, Granada). *Antropología y Paleoecología Humana*; 1: 27-40.

**Suchey J.M., Katz D.** 1998. Application of pubic age determination in a forensic setting. In Reichs K.J. (ed.) *Forensic Osteology. Advances in Identification of Human Remains*. C.C. Thomas Publisher, Springfield, Illinois. Pp. 204-236.

**Takatoshi I., Shimoda S.** 2007. Morphological and histological observation of dental pulp calcification. *Japan Journal of Conservative Dentistry*; 50(6): 752-767.

**Taleisnik J.** 1976. The ligaments of the wrist. *Journal of Hand Surgery-American Volume*; 1: 110-118.

**Taleisnik J.** 1988. Carpal instability, current concepts review. *Journal of Bone Joint Surgery*; 70A: 1262.

**Tanner J.M., Whitehouse R.H., Healy M.J.R.** 1962. A new system for estimating the maturity of the hand and wrist with standards derived from 2600 healthy British children. Part II, The scoring system. Centre International de l'Enfance, París.

**Tanner J.M., Whitehouse R.H., Healy M.J.R., Goldstein, H.** 1972. A revised system for estimating skeletal maturity of the hand and wrist radiographs with separate standards for carpals and other bones (T.W.II system). Centre International de l'Enfance, París.

**Tanner J.M., Whitehouse R.H., Cameron N., Marshall W.A., Healy M.J.R., Goldstein H.** 1988. *Valoración de la maduración esquelética y predicción de la talla adulta (método TW2)*. Ancora S.A., Barcelona.

**Thali M.J., Markwalder T., Jackowski C., Sonnenschein M., Dirnhofner R.** 2006. Dental CT imaging as a screening tool for dental profiling: advantages and limitations. *Journal of Forensic Sciences*; 51: 113-119.

**Theintz G.E., Howald H., Weiss U., et al.** 1993. Evidence of reduction of growth potential in adolescent female gymnasts. *Journal of Pediatrics*; 122: 306-313.

**Tisé M., Mazzarini L., Fabrizzi G., Ferrante L., Giorgetti R., Tagliabracci A.** 2010. Applicability of Greulich and Pyle method for age assessment in forensic practice on an Italian sample. *International Journal of Legal Medicine*; DOI 10.1007/s00414-010-0541-6.

**Todd T.W.** 1921. Age changes in the pubic bone. *American Journal of Physical Anthropology*; 4: 1–70.

**Todd T.W.** 1937. *Atlas of Skeletal Maturation (Hand)*. CV Mosby Co., St. Louis.

**Tompkins R.L.** 1996. Human population variability in relative dental development. *American Journal of Physical Anthropology*; 99: 79–102.

**Trancho G.J., Lopez-Bueis I., Sanchez J.A. Y Robledo B.** 1996. Determinación sexual del fémur mediante funciones discriminantes. Análisis de una serie española de sexo y edad conocidos. En: *Avances en Antropología ecológica y genética*. Ed. Universidad de Zaragoza. pp. 127-136. ISBN 84-89513-35-X.

**Trancho G.J., Lopez-Bueis I., Robledo B. Y Sanchez J.A.** 1997a. Sexual determination of the femur using discriminant functions. Analysis of a Spanish population of known sex and age. *Journal of Forensic Sciences*; 42(2); 181-185.

**Trancho G.J., López-Bueis I., Robledo B., Sánchez J.A.** 1997b. Diagnóstico sexual del radio mediante funciones discriminantes. X

Congreso de la SEAB. León. En: *Tendencias actuales de investigación en la Antropología Física Española*. pp. 165-172. ISBN 84-7719-816-6.

**Trancho G.J., Robledo B.** 2002. Datos culturales y nutricionales aportados por los dientes. En: *Antropología y Paleontología dentarias*, Fundación Mapfre Medicina (Ed.), Madrid.

**Trancho G.J., Robledo B., López-Bueis I., Sánchez J.A.** 2006. Sexual determination of the femur using discriminant functions. Analysis of a Spanish population of known sex and age. *Journal of Forensic Sciences*; 42(2): 181–185.

**Trodden R.I.** 1982. A radiographic study of the calcification and eruption of the permanent teeth in Inuit and Indian children. National Museum of Man Mercury Series, Archeological Survey of Canada, Paper No. 112.

**Tsurumachi T., Huang T.J., Zang W., Hayashi M., Ogiso B.** 2008. Scanning electron microscopic study of dentinal pulpal walls in relation to age and tooth area. *Journal of Oral Science*; 50(2): 199-203.

**Tunc E.S., Koyuturk A.E.** 2008. Dental age assessment using Demirjian's method on Northern Turkish children. *Forensic Science International*; 175(1): 23-26.

**Turner D.C., Kloos D.K., Morton R.** 2005. Radiation safety characteristics of the NOMADTM portable X-ray system. Internal company report.

**Ubelaker D.H.** 1989. The estimation of age at death from immature human bone. En: İşcan M.Y. (ed.) *Age markers in the human skeleton*. Springfield, Illinois. 55-70.

**Ubelaker D.H.** 1999. *Human skeletal remains. Excavation, análisis, interpretation*. Washington: Taraxum, Manuals on archaeology.

**Ubelaker D.H., Ross A.H., Graver S.M.** 2002. Application of forensic discriminant functions to a Spanish cranial sample. *Forensic Science Community*; 4: 1-5.

**Ubelaker D.H., Parra R.C.** 2008. Application of three dental methods of adult age estimation from intact single-rooted teeth to a Peruvian sample. *Journal of Forensic Sciences*; 53: 608-11.

**United States Supreme Court** in *Daubert vs Merrell Dow Pharmaceuticals, Inc.*, 509 U.S. 579, 1993.

**Valenzuela A; Martin de las Heras S.** 2004. Odontología forense. En: *Medicina Legal y Toxicología*, E. Villanueva, ed. Masson.

**Vallejo-Bolanos E., España-López A.J., Muñoz-Hoyos A., Fernández García J.M.** 1999. The relationship between bone age, chronological age and dental age in children with isolated hormone deficiency. *Journal of Pediatric Dentistry*; 9(3): 201-206.

**Van Waes J.M.H., Stöckli P.W.** 2002. *Atlas de odontología pediátrica*. Massón, Barcelona (España).

**Vandevoort F., Mbergmans L., Cleynenbreugel J.V., 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. *Journal of Forensic Sciences*; 49: 787–790.

**Vasiliadis L., Darling A.I., Levers B.G.H.** 1983. The amount and distribution of sclerotic human root dentine. *Archives of Oral Biology*; 28(7): 645-649.

**Vásquez González C.** 2007. *Tendencias y evolución de la delincuencia y la justicia juvenil en Europa*. Cuadernos de la Guardia Civil. N. XXXV (2ª época).

**Veschi S., Facchini F.** 2002. Recherches sur la collection d'enfants et d'adolescents d'âge et de sex connus de Bologne: diagnose de l'âge sur la base du degré de maturation osseuse. *Bulletins et Mémoires de la Société d'Anthropologie de Paris*; 14(3-4): 263-294.

**Von Wowern N., Klausen B., Kollerup G.** 1994. Osteoporosis: A risk factor in periodontal disease. *Journal of Periodontology*; 65: 1134-1138.

**Walker P.L.** 2008. Sexing skulls using discriminant function analysis of visually assessed traits. *American Journal of Physical Anthropology*; 136: 39-50.

**Wang Y., Cerling T.** 1994. A model of fossil tooth and bone diagenesis: implications for palaeodiet reconstruction from stable isotopes. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*. 107: 281–289.

**Whaites E.** 1992. *Essentials of dental radiography and radiology*. *Dental series*. Churchill Livingstone, Edimburgo.

**Whittaker D.K., Richard D.** 1978. Scanning electron microscopy of the neonatal line in human enamel. *Archives of Oral Biology*; 23: 45–50.

**Wilbur A.K.** 1998. The utility of hand and foot bones for the determination of sex and the estimation of stature in a prehistoric population from West-Central Illinois. *International Journal of Osteoarchaeology*; 8: 180–191.

**Willems G.** 2001. A review of the most commonly used dental age estimation techniques. *Journal of Forensic Odontostomatology*; 19: 9–17.

**Willems G., Van Olmen A., Spiessens B., Carels C.** 2001. Dental age estimation in Belgian children: Demirjian's technique revisited. *Journal of Forensic Science*; 46(4): 893–895.

**Willems G., Moulin-Romsee C., Solheim T.** 2002. Non-destructive dental age calculation methods in adults: intra- and inter-observer effects. *Forensic Science International*; 126: 221–226.

**Wittwer-Backofen U., Gampe J., Vaupel J.** 2004. Tooth cementum annulation for Age estimation: results from a large known-age validation study. *American Journal of Physical Anthropology*; 123: 119–129.

**Wittwer-Backofen U., Buckberry J., Czarnetzki A., Doppler S., Grupe G., Hotz G., Kemkes A., Larsen C.S., Prince D., Wahl J., Fabig A., Weise S.** 2008. Basics in palaeodemography: a comparison of age indicators applied to the early medieval skeletal sample of Lauchheim. *American Journal of Physical Anthropology*; 137: 384–396.



**Wittwer-Backofen U., Gampe J., Vaupel J.W.** 2004. Tooth cementum annulation for age estimation: results from a large known-age validation study. *American Journal of Physical Anthropology*; 123: 119-129.

**Wood J.W., Milner G.R., Harpending H.C, Weiss K.M.** 1992. The Osteological Paradox: Problems of Inferring Prehistoric Health from Skeletal Samples. *Current Anthropology*; 33(4): 343-370.

**Youden W.J.** 1998. *Experimentation and Measurement*. Dover Publications, Inc: Mineola.

**Young-Ku K., Hong-Seop K., Kyoung-Ho L.** 2000. Age estimation by occlusal tooth wear. *Journal of Forensic Science*; 45(2): 303-309.