



# DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS DA VIDA

FACULDADE DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA

UNIVERSIDADE DE COIMBRA

## **Estimativa da idade a partir da 1ª costela**

Dissertação apresentada à  
Universidade de Coimbra para  
cumprimento dos requisitos necessários  
à obtenção do grau de Mestre em  
Evolução e Biologia Humanas,  
realizada sob a orientação científica da  
Professora Doutora Eugénia Cunha  
(Universidade de Coimbra)

Soraia Lorena Rodrigues Batista  
2016

## Sumário

Índice de figuras.....	iii
Índice de tabelas.....	iv
Resumo e Palavras-chave.....	vii
Abstract e Keywords.....	ix
Agradecimentos.....	xi
1. Introdução.....	1
1.1. Apresentação do tema.....	1
1.2. Alguns princípios básicos de osteologia humana e de envelhecimento óssea.....	2
1.3. Dificuldades na estimativa da idade à morte.....	4
1.4. Estimativa da idade à morte a partir das alterações degenerativas das costelas.....	6
1.4.1. A 1ª costela.....	9
1.4.1.1. Anatomia.....	9
1.4.1.2. Metodologias para a estimativa da idade à morte com base na 1ª costela.....	10
1.5. Problema e objetivos de pesquisa.....	12
2. Material e Métodos.....	13
2.1. Caracterização da amostra.....	13
2.2. Técnica e recolha de dados.....	15
2.3. Metodologia estatística.....	22
2.3.1. Análise do erro.....	22
2.3.2. Análise da assimetria, correlação entre as variáveis e análise comparativa entre as coleções.....	23
2.3.3. Abordagem estatística para o desenvolvimento dos modelos preditivos.....	24
2.3.4. Cálculos efetuados para a validação do método de DiGangi e colaboradores (2009) e os modelos preditivos.....	27
3. Resultados.....	29

3.1. Análise do erro.....	29
3.1.1. Erro intra-observador.....	29
3.1.2. Erro inter-observador.....	31
3.2. Análise da assimetria e da correlação entre as variáveis.....	34
3.3. Teste de validação ao método de DiGangi e colaboradores (2009).....	40
3.4. Teste de validação aos modelos preditivos.....	42
4. Discussão.....	43
4.1. Análise do erro.....	43
4.2. Teste de validação ao método de DiGangi e colaboradores (2009).....	44
4.3. Teste de validação aos modelos preditivos.....	48
5. Considerações finais.....	49
6. Referências bibliográficas.....	51

## Índice de figuras

Figura 1.1 Anatomia da 1ª costela (Adaptado de Saladin, 2016:174).....	10
Figura 2.1 Distribuição por classe etárias da amostra utilizada para a aplicação da abordagem estatística proposta por Lucy e colaboradores (2002).....	14
Figura 2.2 Distribuição por classes etárias da amostra utilizada para testar o método de DiGangi e colaboradores (2009).....	14
Figura 2.3 (A) Exemplo de face costal com cavidade oca e ossificação das espículas ao longo de mais de ½ do rebordo (indivíduo com 89 anos); (B) Exemplo de face costal com margens irregulares com saliências (indivíduo com 38 anos).....	20
Figura 2.4 (A) Exemplo de face costal com microporosidade na superfície (indivíduo com 46 anos). (B) Exemplo de face costal com forma geométrica com cavidade cortical preenchida e forma irregular e macroporosidade (indivíduo com 74 anos).....	20
Figura 2.5 (A) Exemplo de cabeça de costela com forma e superfície irregulares, textura irregular e abatida e com presença de labiação e exostoses (indivíduo com 69 anos); (B) Exemplo de cabeça de costela com rebordo irregular e indefinido (indivíduo com 78 anos); (C) Exemplo de cabeça de costela com superfície secundariamente plana (indivíduo com 94 anos).....	21
Figura 2.6 (A) Exemplo de tubérculo com perfil e faceta irregulares, margens labiadas, e margem superior abatida e aumento da rugosidade (indivíduo com 89 anos); (B) Exemplo de tubérculo com perfil oval, crescente e margem superior inchada (indivíduo com 38 anos); (C) Exemplo de faceta do tubérculo plana, margens com aparência rugosa e com textura irregular e abatida (indivíduo com 46 anos).....	21
Figura 3.1. Frequência das categorias da característica CF1 (A) e da característica TF3 (B) por classe etária.....	40



## Índice de tabelas

Tabela 2.1 Características morfológicas da 1ª costela.....	15
Tabela 2.2 Sistemas de classificação para a face costal (Traduzido de DiGangi et al, 2009)..	16
Tabela 2.3 Sistemas de classificação para a cabeça da costela (Traduzido de DiGangi et al, 2009).....	17
Tabela 2.4 Sistemas de classificação para a faceta do tubérculo (Traduzido de DiGangi et al, 2009).....	19
Tabela 3.1 Valores do teste kappa para a análise do erro intra-observador.....	29
Tabela 3.2 Valores do teste Bhapkar para a análise do erro intra-observador.....	30
Tabela 3.3 Valores do teste de McNemar para análise do viés do erro intra-observador.....	30
Tabela 3.4 Valores da percentagem de concordância absoluta e com tolerância para a análise do erro intra-observador.....	31
Tabela 3.5 Valores do teste kappa para a análise do erro inter-observador.....	32
Tabela 3.6 Resultados do teste Bhapkar para a análise do erro inter-observador.....	33
Tabela 3.7 Resultados do teste McNemar para análise do viés do erro inter-observador.....	33
Tabela 3.8 Valores da percentagem de concordância absoluta e com tolerância para a análise do erro inter-observador.....	33
Tabela 3.9 Resultados do teste de Wilcoxon para a análise da assimetria bilateral.....	34
Tabela 3.10 Resultados do coeficiente de correlação Ró de Spearman para a análise da correlação entre os traços e a idade.....	35
Tabela 3.11 Resultados do Coeficiente Ró de Spearman para análise da correlação das características, por estádios, com a idade.....	35
Tabela 3.12 Correlação parcial entre as 11 variáveis.....	37
Tabela 3.13 Teste de dependência condicional com base na informação mútua condicionada.....	38
Tabela 3.14 Resultados do teste Mann-Whitney para a análise comparativa entre as coleções.....	38
Tabela 3.15 Média e desvio de padrão das classificações.....	39

Tabela 3.16 Resultados para a validação do método de DiGangi e colaboradores (2009), por classe etária.....	41
Tabela 3.17 Resultados para o desempenho dos modelos preditivos.....	42

## Resumo

A estimativa da idade é um dos parâmetros do perfil biológico mais problemático de estimar, sobretudo nos adultos devido à variabilidade do envelhecimento. Os investigadores têm a sua disposição várias metodologias para diferentes indicadores etários. Um dos métodos recentemente desenvolvido é o método de DiGangi e colaboradores (2009) para a 1ª costela. Este osso apresenta algumas características que o tornam um bom indicador etário: (1) é facilmente identificável e robusta, relativamente à 4ª costela; (2) a remodelação óssea e ossificação da cartilagem inicia-se cedo e prolonga-se até depois da 8ª década de vida; e (3) a ossificação da cartilagem segue um padrão de distinto das restantes, iniciando-se na junção costochondral em direção ao esterno.

O presente trabalho tem dois grandes objetivos: (1) avaliar o desempenho do método de DiGangi e colaboradores (2009); e (2) aplicar uma nova abordagem estatística, proposta por Lucy e colaboradores (2002) a partir da qual se desenvolveram modelos preditivos. O método de DiGangi e colaboradores (2009) foi aplicado numa amostra de 192 indivíduos e os modelos preditivos foram elaborados a partir de uma amostra de 226 indivíduos. Estes indivíduos pertencem à CEI/XXI e CEIUC.

A concordância, tanto intra-observador como inter-observador variou entre ligeira e substancial. O valor de concordância inter-observador mais baixo foi para a topografia da superfície da cabeça ( $k = 0.2813$ ,  $p\text{-value} = 0.000$ ) e o valor mais elevado foi a forma geométrica da face costal ( $k = 0.7407$ ,  $p\text{-value} = 0.000$ ). Obteve-se 82% de cobertura, 22 anos de erro entre a idade real e a idade estimada e um viés de -15 anos. Até aos 69 anos, todos os indivíduos foram inseridos nos intervalos que continham as suas idades cronológicas. A correlação entre a idade real e estimada ( $r = 0.69$ ), tal como a correlação entre as variáveis com a idade, são moderadas. E o coeficiente de determinação ( $r^2 = 0.48$ ) sugere que as alterações que se dão na 1ª costela estão relacionadas com outros fatores. A nova abordagem estatística permitiu reduzir o erro, que varia entre os 16-18 anos, embora, de forma geral, o desempenho das duas abordagens tenha sido semelhante.

A partir dos resultados obtidos pode-se concluir que o método de DiGangi e colaboradores (2009) é pouco fiável e pouco exato. É necessário realizar investigações adicionais para compreender as alterações degenerativas da 1ª costela e rever os sistemas de classificação de



modo a aumentar a concordância, de modo a que este indicador se torne adequado para estimar a idade à morte de adultos.

**Palavras-chave:** Idade à morte, adultos, 1ª costela, estimação pelo método do núcleo,

## **Abstract**

Age estimation is one of the parameters of the biological profile more problematic to estimate, particularly in adults due to variability of aging. Researchers have at their disposal various methodologies for different age indicators. One of the newly developed methods is the DiGangi et al. (2009) method to the 1st rib. This bone presents some characteristics that makes it a good age indicator: (1) is easily identifiable and relatively robust to the 4th rib; (2) bone remodeling and ossification of the cartilage begins early and extends until after the eighth decade of life; and (3) the ossification of the cartilage follows a distinct pattern to the other, starting at the junction costochondral towards the sternum.

The main purpose of this work was to: (1) assess the performance of the method of DiGangi et al. (2009); and (2) apply a new statistical approach proposed by Lucy et al. (2002) from which we developed predictive models. The method of DiGangi et al. (2009) was applied on a sample of 192 individuals and the predictive models were drawn from a sample of 226 individuals. These individuals belong to CIS/XXI and CISC.

The agreement ranged from slight and substantial, as much as inter-observador-observer. The lowest value for the inter-observador agreement was for the topography of the surface of the rib head ( $k = 0.2813$ ,  $p\text{-value} = 0.000$ ) and the highest was for the geometric shape of the costal face ( $k = 0.7407$ ,  $p\text{-value} = 0.000$ ). We obtained 82% coverage, 22 years of error between the actual and estimated age and a bias of -15 years. Up to 69 years, all individuals were inserted in the intervals that contained their chronological ages. The correlation between the estimated and actual age ( $r = 0.69$ ), such as the correlation between variables with age, are moderate. And the coefficient of determination is ( $r^2 = 0.48$ ) suggests that the changes which the first rib are related to other factors.

The new statistical approach made it possible to reduce the error, ranging between 16-18 years. Although, in general, the performance of the two approaches has been similar. From the results it can be concluded that the DiGangi et al. method (2009) is unreliable and inaccurate. Additional research is necessary to understand the degenerative changes of the first rib. It is also advice to revise the classification systems in order to increase the agreement, so that this becomes an appropriate indicator to estimate the age at death of adults.

**Keywords:** Age estimation, adults, first rib, kernel estimation



## **Agradecimentos**

À Professora Doutora Eugénia Cunha pela disponibilidade e sugestões durante a orientação desta tese.

Ao Doutorando David Navega ajuda na análise estatística, por ter desenvolvido a aplicação que permitiu desenvolver os modelos preditivos pela disponibilidade e colaboração como 2º observador.

A todos os professores do Mestrado de Evolução e Biologia Humana pelos conhecimentos transmitidos nas aulas.

Às funcionárias da Biblioteca do DCV pela disponibilidade na procure de bibliografia.

E à minha família.

# 1. Introdução

## 1.1. Apresentação do tema

A estimativa da idade à morte é indispensável quando se estudam esqueletos humanos, quer sejam de contexto arqueológico ou forense. Em contexto arqueológico, esta informação associada a outras como o diagnóstico sexual, a ausência/presença de patologias ou indicadores de stresse, a localização e pormenores do enterramento (ex.: como a presença de artefactos) permitem inferir sobre aspetos biológicos e culturais das populações do passado (Cox, 2000; Milner et al., 2008). Em contexto forense, a estimativa da idade permite construir o perfil biológico de restos cadavéricos humanos não identificados. Para além da idade, o perfil biológico é composto pelo sexo, afinidade populacional e estatura. Por si só, o perfil biológico não permite fazer a identificação positiva do indivíduo mas permite delimitar a investigação aos indivíduos que se enquadrem nesse perfil ou um direcionamento da investigação criminal (Cunha, 2012).

A estimativa da idade também vai ser importante na identificação de indivíduos vivos que não possuem documentos de identificação válidos (Ritz-Timme, et al., 2000; Baccino e Schmitt, 2006; Cunha, et al., 2009). A estimativa da idade em vivos poderá ser necessária para esclarecer questões de carácter jurídico e civil relativamente à imputabilidade de adolecentes ou jovens adultos delinquentes, pedopornografia, adoção, pedidos de pensões por parte de indivíduos idosos ou pedidos de asilo por parte de refugiados (Ritz e Kaatsch, 1996 in Ritz-Timme, et al., 2000; Cunha et al, 2009).

Se a investigação resultar numa identificação positiva do indivíduo então os resultados poderão ter que ser discutidos em tribunal o que implica que as metodologias tenham que ser confiáveis e cientificamente válidas (Dirkmaat, et al., 2008; Christensen e Crowder, 2009), daí a necessidade de testar a validade (i.e. a medida de quão bem os métodos produzem estimativas corretas) (Dirkmaat, et al., 2008) e a fiabilidade dos métodos noutras populações.

## **1.2. Alguns princípios básicos de osteologia humana e de envelhecimento ósseo**

O osso é um órgão vivo e dinâmico que, para além de ser responsável pela proteção dos órgãos internos e suporte das partes moles e locomoção (Chan e Duque, 2002; Boskey e Coleman, 2010) também desempenha várias funções homeostáticas e metabólicas (Kini e Nandeesh, 2012):

- Armazenamento de ácidos gordos na medula óssea amarela;
- Produção de glóbulos vermelhos na medula óssea vermelha;
- Desintoxicação do organismo ao absorver metais pesados e outros elementos que podem ser nocivos ao organismo, reduzindo assim os seus efeitos nos outros tecidos;
- Controla o metabolismo do fosfato ao libertar um fator de crescimento de fibroblastos que reduz a reabsorção de fosfato por parte dos rins;
- Liberta uma hormona (osteocalcina) responsável pela regulação de glucose no sangue e deposição de gordura ao aumentar o número de células- $\beta$  e reduzir os depósitos de gordura;
- Local de armazenamento de minerais essenciais como o cálcio e fosforo;
- O osso faz parte dos sistemas de tamponamento que permite regular o equilíbrio do pH, em casos de acidose aguda e crónica, ao libertar compostos-tampão para o fluido extracelular (Green e Kleeman, 1991).

O tecido ósseo é constituído por três tipos de células: osteoblastos, osteoclastos e osteócitos. Os osteoblastos derivam de células estaminais (Kini e Nandeesh, 2012), células da mesma linhagem dos osteoblastos fornecem fatores responsáveis pela diferenciação e atividade dos osteoclastos (Mackie, 2003) e pela síntese e mineralização da parte orgânica da matriz óssea designada de osteoide. Os osteoclastos derivam de células hematopoiéticas e estão implicados no processo de reabsorção do tecido ósseo. Vão segregar uma colagenase que destrói a parte orgânica da matriz óssea ao englobar e solubilizar os cristais que contém cálcio. Os osteócitos originam-se a partir de osteoblastos que ficaram incorporados na matriz óssea, comunicam entre si e com o meio que os rodeia através de extensões localizadas nas suas membranas plasmáticas que lhes permite regular a atividade dos osteoclastos e dos

osteoblastos (Manolagas, 2000), e controlam a homeostasia do fosfato (Almeida e O'Brien, 2013).

Ao longo da vida, o osso passa por processos contínuos de remodelação necessários para a manutenção do tecido ósseo ao remover tecido danificado e substituindo-o por novo, e para facilitar as funções metabólicas como armazenamento de cálcio e fósforo (Kini e Nandeesh, 2012). O ciclo de remodelação óssea depende essencialmente da interação dos osteoblastos e osteoclastos. Nos indivíduos jovens a reabsorção e formação óssea são relativamente proporcionais, e até à 3ª década de vida este balanço é positivo. Nesta altura atinge-se o pico máximo de massa óssea que é mantido com pequenas variações, até à menopausa para as mulheres e nos homens até mais tarde na vida, quando começa a haver um desequilíbrio entre a taxa de reabsorção e de deposição ósseas (op. cit.). Esse desequilíbrio está relacionado com alterações que ocorrem no tecido ósseo a nível celular. As células estaminais mesenquimais estromais, para além de darem origem aos osteoblastos, também têm a capacidade de se diferenciarem em adipócitos, células da linhagem mieloide, condroblastos e fibroblastos (Pittenger, et al., 1999). Alguns estudos indicam que há uma diminuição, relacionada com a idade, da proliferação e diferenciação destas células o que conduz à diminuição do número de osteoblastos (Stenderup, et al., 2003; Zhou, et al., 2008) e também ao aumento dos adipócitos nos espaços intertrabeculares que resulta da redução da diferenciação de osteoblastos em vantagem dos adipócitos (Justesen, et al., 2001; Verma, et al., 2002). Jiang e colaboradores (2008) verificaram que o envelhecimento altera a forma como os genes da medula óssea se expressão levando a que se formem menos osteoblastos e aumente da formação de osteoclastos e adipócitos.

Para além de as células terem um número limitado de replicações antes que ocorram erros no ADN (Hayflick, 1965), com a progressão da idade os telómeros diminuem de tamanho. Estes dois processos contribuem para a redução da celular bem como para a acumulação de células danificadas (Marie, 2014). Investigações em modelos animais mostram que ratos com deficiência de telomerase (enzima responsável por adicionar sequências específicas e repetitivas às extremidades dos cromossomas onde se encontram os telómeros) exibem diminuição da massa óssea devido à diminuição da diferenciação e função dos osteoblastos (Pignolo, et al., 2008) e também favorece a criação de um microambiente pró-inflamatório que aumenta a reabsorção óssea (Saeed, et al., 2011). Nos humanos, alguns estudos

(Simonsen, et al., 2002; Shi, et al., 2002) sugerem que o aumento da atividade desta enzima contribui para a formação de osteoblastos e alonga os telómeros.

Para assegurar o bom funcionamento do processo de remodelação é necessário uma quantidade adequada de osteócitos (Busse, et al., 2010). Com a idade não só se observa a diminuição da densidade destas células (Mullender, et al., 1996; Qiu, et al., 2002) como a presença de oclusões hipermineralizadas de fosfato de cálcio nas lacunas de osteócitos cuja produção é induzida pela ausência de osteócitos que resulta da morte destes em áreas do osso não sujeitas a reabsorção ou remodelação ósseas (Busse, et al., 2010). Estas alterações, em conjunto, vão comprometer o processo de remodelação óssea ao reduzir a capacidade de detecção de microdanos no tecido o que põem em causa a integridade biomecânica do osso.

### **1.3. Dificuldades na estimativa da idade à morte**

As alterações que ocorrem a nível celular, referidas no ponto anterior, vão-se expressar a nível macroscópico, e serão nessas alterações que os investigadores se baseiam para estimar a idade a partir dos esqueletos humanos. A idade que se obtém é a idade biológica do indivíduo quando o que se pretende é chegar à idade cronológica. A primeira reflete os níveis de desenvolvimento ou senescência de uma estrutura/função de um elemento do organismo, de um sistema funcional, ou do organismo como um todo (Dontsov e Krut'ko, 2015). Já a idade cronológica é aquela que se encontra nos documentos de identificação. Nos não-adultos é possível chegar a estimativas mais exatas e precisas, pois aproximam-se mais da idade cronológica. Isso acontece porque o processo de crescimento e desenvolvimento está mais ou menos “programado” e segue um ritmo relativamente sequencial e previsível. Nos adultos a correlação entre os indicadores etários e a idade cronológica deixa de ser tão linear, uma vez que as alterações relacionadas com a idade estão sob a influência de vários fatores intrínsecos e extrínsecos, nomeadamente o sexo, a afinidade populacional, ativação do sistema imunitário, níveis de hormonas sexuais, ocupação/atividade física, deficiências nutricionais, tabagismo e consumo de álcool, excesso de glucocorticoides e fatores genéticos (İşcan e Loth, 1989; Rose, 1991; Cox, 2000; Baccino e Schmitt, 2006; Nawrocki, 2010; Marie e Kassem, 2011). Peso, estatura e Índice de Massa Corporal (IMC) também afetam a forma como os vários indicadores etários manifestam estas alterações (Merritt, 2014b). Alguns destes fatores variam, não só, entre indivíduos da mesma população e entre populações, mas também ao



longo da vida do mesmo indivíduo. Tudo isto vai dificultar a tarefa de estimar a idade e, conseqüentemente levar a estimativas pouco precisas devido à grande variação que se observa nos indicadores etários.

Desenvolver metodologias que sejam simultaneamente exatas e precisas na estimativa da idade à morte de adultos continua a ser o grande desafio para os investigadores, já que muitas vezes, para assegurar um critério tem que se abdicar de outro. A exatidão vai medir o erro entre o valor estimado e o valor real de uma medida (Youden, 1998), para a estimativa da idade à morte isto traduz-se na diferença entre idade real e idade estimada. Um método é considerado exato quando fornece intervalos cronológicos que englobam a idade real dos indivíduos. A precisão mede o número de desvios de uma medição individual a partir da média do total das medições (op. cit.), um método é considerado preciso quando a média das idades estimadas produz um desvio de padrão pequeno. Pode-se ter um método com elevada exatidão, contudo isto levará a que os intervalos cronológicos obtidos sejam demasiados amplos, logo o método será pouco informativo quanto à idade dos indivíduos. Em contrapartida, um método preciso será aquele com intervalos pequenos, mas aí a probabilidade de o indivíduo ser colocado no intervalo etário que contém a sua idade cronológica é menor, tendo em conta a grande variabilidade que existe no processo de envelhecimento sobretudo a partir da 5ª década (Franklin, 2010).

A estrutura etária da amostra de referência e a possibilidade de essa se refletir na amostra alvo é uma questão que foi levantada por vários autores (Bocquet-Appel e Masset, 1982, 1985, 1996; Konigsberg e Frankenberg, 1994; Jackes, 2000). Se uma fase do método atravessa várias décadas, a década que tiver mais indivíduos irá enviesar a média da idade à morte para cada fase (Buckberry, 2015); se as décadas mais velhas estiverem sobrerrepresentadas na amostra de referência, quando o método for testado noutra população, vai sobrestimar as idades dos indivíduos mais jovens, e produzir maior enviesamento e inexatidão nas décadas sub-representadas na amostra de referência (op. cit.). Estas questões têm motivado os investigadores a usar outras abordagens estatísticas baseadas em métodos bayesianos e na máxima verossimilhança (Hoppa e Vaupel, 2002) para desenvolver novos métodos ou calibrar os já existentes.

Um bom indicador etário deve apresentar as seguintes características (Milner e Bolden, 2012): exibir alterações graduais e sequenciais, possíveis de categorizar e medir de forma

fidedigna, e devem dar-se relativamente ao mesmo tempo em todos os indivíduos permitindo que o método possa ser aplicado em mais do que uma população. Os investigadores têm à sua disposição uma bateria de métodos que lhes permite estimar a idade à morte e a escolha da metodologia mais apropriada passa pelo tempo e meios técnicos disponíveis para análise, bem como do estado de preservação do material. Os indicadores comumente utilizados para estimar a idade em adultos, em estudos de populações do passado, têm sido a sinostose das suturas cranianas, desgaste dentário, metamorfose da sínfise púbica e da superfície auricular (Falys e Lewis, 2011); segundo a investigação destas autoras, a extremidade esternal das costelas é o indicador menos utilizado. Em contexto forense, a sínfise púbica, a extremidade esternal das costelas e superfície auricular são as regiões anatómicas preferidas dos investigadores, enquanto a sinostose das suturas cranianas e o desgaste dentários são os indicadores menos utilizados (Garvin e Passalacqua, 2012).

#### **1.4. Estimativa da idade à morte a partir das alterações degenerativas das costelas**

O crânio e a sínfise púbica foram as primeiras estruturas do esqueleto a serem alvo de estudos sistemáticos com o intuito de estimar a idade à morte em adultos (Loth e İşcan, 2000). A partir dos anos 80 começaram a surgir novos métodos a partir de outras zonas anatómicas, como a superfície auricular (Lovejoy et al., 1985b) e a extremidade esternal das costelas (İşcan et al., 1984a, 1984b, 1985). As alterações associadas à idade que se dão nas costelas têm sido documentadas por vários autores em diversos estudos histológicos, radiológicos e morfológicos (Sedlin et al., 1963; Kerley, 1970; Dearden et al., 1974; Semine e Damon, 1975; İşcan et al., 1984a, 1984b, 1985; McCormick e Stewart, 1988; Kampen et al., 1995; Kunos et al., 1999; Pavón et al., 2010). Michelson (1934, in İşcan e Steyn, 2013) foi um dos primeiros investigadores a estudar o padrão de calcificação da cartilagem costal da 1ª costela a partir de radiografias. Este autor verificou que a calcificação se iniciava após os 11 anos e que até aos 15 não havia diferenças entre os sexos, a partir desta altura a calcificação nos homens começava a ser mais intensa; este padrão persistia até aos 66 anos. A ossificação da 1ª cartilagem costal apresenta um padrão distinto das restantes; a ossificação inicia-se na margem lateral superior da face costal e prossegue medialmente para a margem inferior (Kampen, et al., 1995). O processo ocorre mais depressa e com maior intensidade do que nas

restantes costelas que resulta na ossificação completa da cartilagem e fusão com o esterno (Barchilon, et al., 1996). Não se observam diferenças entre homens e mulheres no padrão de ossificação (Semine e Damon, 1975; McCormick e Stewart, 1988).

Kerley (1970) descreveu pela primeira vez as alterações morfológicas da extremidade esternal das costelas relacionadas com a idade; nos adolescentes, a superfície da extremidade esternal apresenta uma aparência ondulada com margens arredondadas que se vão tornando progressivamente mais aguçadas. Com a idade, a superfície torna-se côncava com formação de espículas no rebordo da extremidade. No início dos anos 80, İşcan e colaboradores (İşcan et al., 1984a), a partir das alterações descritas por Kerley (1970), desenvolveram um método para estimar a idade avaliando as alterações morfológicas da extremidade esternal das costelas através de um sistema de análise de componentes, nomeadamente a profundidade e forma articular e aparência das paredes e bordos. Segundo estes autores, as costelas são um bom indicador etário uma vez que apresentam pouca variação individual. A junção costochondral é uma articulação relativamente estável, cuja única fonte de stress mecânico advém da respiração, e não está diretamente sujeita aos efeitos do peso, da locomoção, gravidez e parto como é o caso da sínfise púbica, superfície auricular e dos ossos longos (İşcan e Loth, 1989). Posteriormente, este sistema foi modificado para um sistema de fases, que consiste em avaliar as alterações morfológicas ao nível da forma, textura e qualidade do osso na 4ª costela (İşcan et al., 1984b). Foram desenvolvidas 9 fases (0-8), tanto para homens como para mulheres (İşcan et al., 1984b; İşcan et al., 1985). Vários estudos têm validado e corroborado a utilidade desta metodologia (İşcan e Loth, 1986a, 1986b; Russel et al, 1993; Dudar et al, 1993; Loth, 1995). Dedouit e colaboradores (2008) aplicaram este método em imagens obtidas por tomografia computadorizada, demonstrando a sua utilidade na estimativa da idade de indivíduos vivos e em restos mumificados.

Não obstante, outros autores também apontam algumas críticas referindo que o método é pouco fiável (Dudar et al., 1993; Kimmerle et al., 2008; Faton et al., 2010), a idade dos jovens é tendencialmente sobrestimada enquanto nos indivíduos mais velhos observa-se o inverso (Russel et al., 1993) e há diferenças significativas entre a idade real e estimada (Hartnett, 2010). Como o método foi desenvolvido para a 4ª costela direita, uma potencial limitação deste método passa por identificar esse osso num conjunto de ossos desarticulados, o que levanta a questão se o método pode ser igualmente aplicado noutras costelas. Investigações neste âmbito concluíram que esta metodologia funciona noutras costelas (Loth et al, 1994;

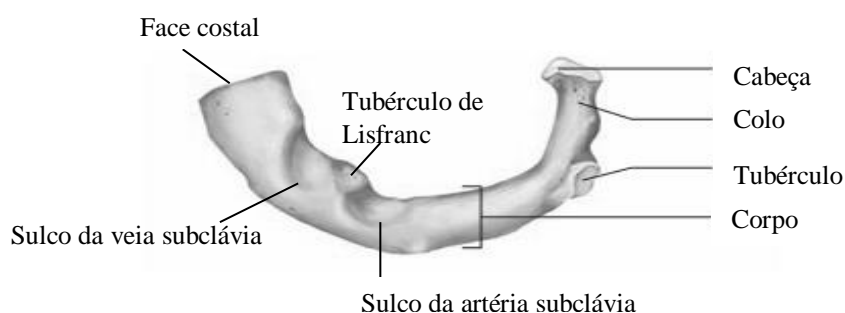
Yoder, et al, 2001; Aktas, et al., 2004; Meena, et al., 2012), mas alguns destes autores aconselham precaução (Yoder et al, 2001; Nikita, 2013). Outros fatores que limitam o uso deste método devem-se à fragilidade da costela especialmente a extremidade esternal e em ignorar outras alterações associadas à idade que surgem noutras zonas como no tubérculo ou na cabeça (Kunos et al., 1999). Nawrocki (2010) sugere ainda que as fases e os intervalos de confiança calculados não refletem a totalidade da variabilidade biológica porque os autores utilizaram amostras demasiado pequenas.

Verzeletti e colaboradores (2010; 2013) desenvolveram um novo método a partir da análise de componentes para a 4ª costela, onde se atribui uma classificação numérica a três elementos da extremidade esternal – superfície articular, paredes ântero-posterior e margens superior/inferior – que são posteriormente inseridas numa equação de regressão. Estes autores encontraram uma boa correlação entre a idade e a superfície articular e as paredes ântero-posterior. Macaluso Jr e Lucena (2012) testaram a equação desenvolvida por Verzeletti e colaboradores (2010) numa amostra de 58 homens e 36 mulheres concluindo que o método era menos preciso do que os autores relataram. Com o intuito de melhorar a precisão do método, os autores criaram duas equações, uma delas com o sexo como variável independente e outra em que excluíram esta variável. Nenhuma destas equações melhorou a exatidão do método. Hartnett (2010) também propôs algumas alterações ao método de İşcan. A autora desenvolveu sete fases onde enfatizou a qualidade e densidade do osso, também os intervalos e os valores médios de idade foram ajustados. Quando comparados, o método de İşcan apresenta uma percentagem de acertos superior ao método de Hartnett, contudo o método revisto apresenta melhores resultados de inexatidão e viés (Merritt, 2014a). Enquanto o método de İşcan é mais preciso em indivíduos com menos de 59 anos, o método de Hartnett obteve melhores resultados nos indivíduos acima dos 60 anos (op. cit.).

### 1.4.1. A 1ª costela

#### 1.4.1.1. Anatomia

A caixa torácica protege os órgãos vitais, é local de inserção dos músculos dos membros superiores e da parede abdominal, e desempenha um papel importante no processo de respiração (Aiello e Dean, 1990). Nos humanos, a caixa torácica é composta por 12 pares de costelas, na região dorsal articulam com as vértebras torácicas e na região ventral, a maioria, articula direta ou indiretamente com o esterno. Os dois últimos pares de costelas não apresentam articulação ventral, e por isso são chamadas de costelas flutuantes. As costelas têm quatro centros de ossificação – um centro de ossificação primário, que surge entre a 8ª e 12ª semanas de vida intrauterina, e três centros de ossificação secundários que surgem nas zonas articulares da cabeça e faceta do tubérculo e na zona não articular do tubérculo – com exceção das costelas 11 e 12 por não apresentarem tubérculo (Scheuer e Black, 2000). As epífises surgem entre os 12 e 18 anos e estão completamente fundidas por volta dos 22-25 anos (op. cit.).



**Figura 1.1** Anatomia da 1ª costela (Adaptado de Saladin, 2016:174)

A 1ª costela (Figura 2.1) é a que tem o aspeto mais distinto de todas as costelas. Não apresenta algumas características que as outras exibem, como o ângulo posterior onde se insere o músculo iliocostal, nem o sulco posterior onde passam os vasos sanguíneos e nervos intercostais (Aiello e Dean, 1990). É mais curta do que as restantes, tem forma em C e é achatada no plano horizontal (Standring, 2008; Saladin, 2016). A cabeça é pequena e mais arredondada do que numa costela típica, tem uma faceta que articula com o corpo da 1ª vértebra torácica; o tubérculo está direcionado superior e posteriormente, é medial e exibe uma faceta oval que articula com o processo transversal da 1ª vértebra torácica. O pescoço é alongado e o tubérculo é mais pronunciado (Scheuer e Black, 2000). Na face superior

observam-se dois sulcos, o anterior resulta da inserção da veia subclávia e o posterior da artéria subclávia. Entre os sulcos observa-se o tubérculo de Lisfranc onde se insere o músculo escaleno anterior (Pina, 1995).

#### *1.4.1.2. Metodologias para a estimativa da idade à morte com base na 1ª costela*

Kunos e colaboradores (1999) desenvolveram um método para estimar a idade à morte com base na metamorfose da 1ª costela, avaliando alterações que se dão na face costal, faceta do tubérculo e cabeça. De acordo com estes autores, a 1ª costela apresenta algumas qualidades que a tornam um bom indicador etário: (1) é facilmente identificável e robusta, relativamente à 4ª costela; (2) a remodelação óssea e ossificação da cartilagem inicia-se cedo e continua até depois da 8ª década de vida; (3) segue um padrão de ossificação diferente das restantes costelas, a ossificação da 1ª cartilagem costal acontece da junção costocondral em direção ao esterno. Estes autores encontraram uma boa correlação entre idade cronológica e alterações morfológicas da 1ª costela, sobretudo entre a 6ª e 8ª décadas de vida, também verificaram que apresenta a mesma exatidão que os métodos multifatoriais e produz pouco erro intra-observador e inter-observador. As investigações com o objetivo de testar este método (Schmitt e Murail, 2004; Kurki, 2005) concluíram que as definições das características são um pouco ambíguas tornando o método difícil de aplicar e, ainda, é pouco preciso e exato. Schmitt e Murail (2004) testaram este método numa amostra de 60 esqueletos identificados da Coleção Thai. Neste estudo apenas em 55% dos indivíduos a idade foi estimada corretamente, e a idade de indivíduos com mais de 60 anos foi subestimada. Kurki (2005) testou o método numa amostra de 29 esqueletos identificados da Coleção J. C. B. Grant, concluindo que a 1ª costela é um indicador fiável, porém subestima a idade de indivíduos com mais de 60 anos e sobrestima a idade de indivíduos com menos de 60 anos. Moskovitch e colaboradores (2010) encontraram uma boa correlação entre idade e as alterações morfológicas na face costal numa amostra de 160 costelas obtidas através de Tomografia Computorizada Multi-Corte. Merrit (2014b) aplicou o método de Kunos e colaboradores (1999) numa amostra de 764 indivíduos das Coleções Hamann-Todd e William Bass, e observou que a idade das mulheres é subestimada, e a dos homens é sobrestimada. A autora também verificou diferenças

significativas entre idade real e idade estimada entre grupos de diferentes afinidades populacionais.

Mais recentemente, DiGangi e colaboradores (2009) desenvolveram um novo método, a partir das características morfológicas identificadas por Kunos e colaboradores (1999), numa amostra de 470 esqueletos de indivíduos do sexo masculino recuperados de valas comuns no Kosovo, vítimas da Guerra Civil na ex-Jugoslávia. Estes autores avaliaram 11 características que se dividem entre as três zonas anatómicas da 1ª costela – face costal, cabeça, e faceta articular do tubérculo. O método foi desenvolvido com métodos Bayesianos, onde a probabilidade posterior foi estimada determinando o momento de transição entre estados de indicadores (Baldsen et al., 2002). A abordagem da “análise de transição” consiste em estimar a idade de transição entre um estado para o seguinte, para isso assume que as alterações entre um estado para o seguinte são unidirecionais e que os indivíduos apenas transitam entre estados adjacentes (op. cit.). Permite ainda verificar se os componentes usados no sistema de classificação são informativos relativamente à idade pois cada transição de estado é tratada como um evento distinto (DiGangi, et al, 2009).

Dos 11 componentes inicialmente criados, os autores selecionaram dois – a forma geométrica da face costal e a textura da superfície da faceta do tubérculo – por serem os que apresentam menor coeficiente de correlação entre si assume-se que essa correlação deve-se apenas à idade, não violando assim o princípio da independência condicional. Concluíram que a 1ª costela é um bom indicador etário e que pode ajudar a reduzir o intervalo estimado quando aplicado numa abordagem multifatorial, para além disso tem a vantagem de poder ser aplicado tanto em indivíduos jovens como idosos.

Getz (2001), Sullivan (2012) e Merrit (2013, 2014) testaram este método e concluíram que produz estimativas pouco precisas, é exato até à 5ª década muito devido à amplitude dos intervalos cronológicos, as descrições das características são subjetivas, e tem um fraco desempenho nos indivíduos idosos.

## **1.5.Problema e objetivos de pesquisa**

O desenvolvimento de novos métodos para estimar a idade e a aplicação de metodologias estatísticas mais sofisticadas para tentar melhorar os métodos já existentes, as constantes revisões e testes aos métodos revelam que a estimada da idade à morte continua a ser uma das temáticas mais problemáticas e interessantes da Antropologia Física e Forense. Dada a importância da estimativa da idade à morte, tanto em contexto arqueológico para fazer inferências sobre as populações do passado, como em contexto forense para a construção do perfil biológico dos esqueletos humanos não identificados, e as dificuldades associadas a este parâmetro, o presente trabalho tem dois grandes objetivos:

- Testar o desempenho da metodologia desenvolvida por DiGangi e colaboradores (2009) para estimar a idade à morte a partir da metamorfose da 1ª costela;
- Aplicar uma nova abordagem estatística, proposta por Lucy e colaboradores (2002) a partir da qual se desenvolveram modelos preditivos.

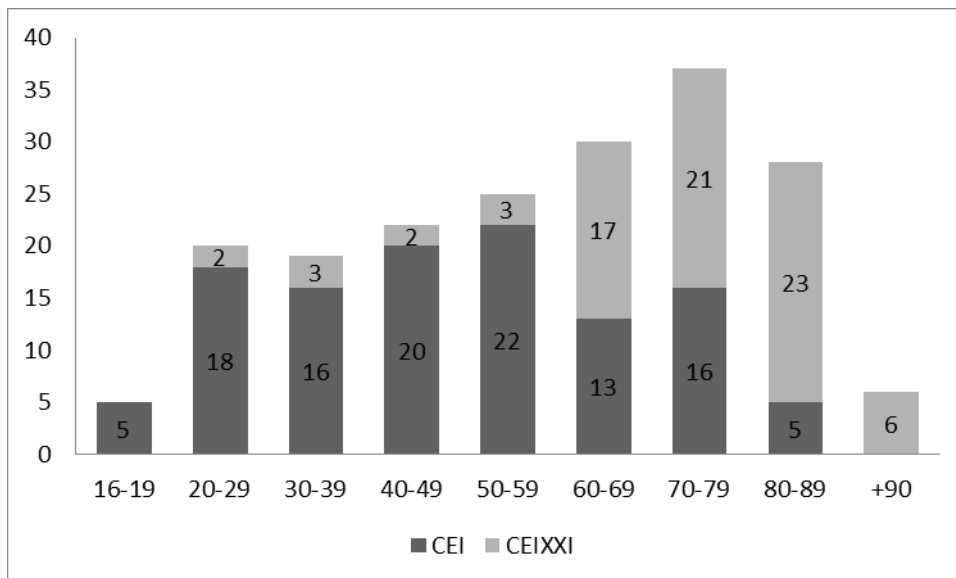


## 2. Material e Métodos

### 2.1. Caracterização da amostra

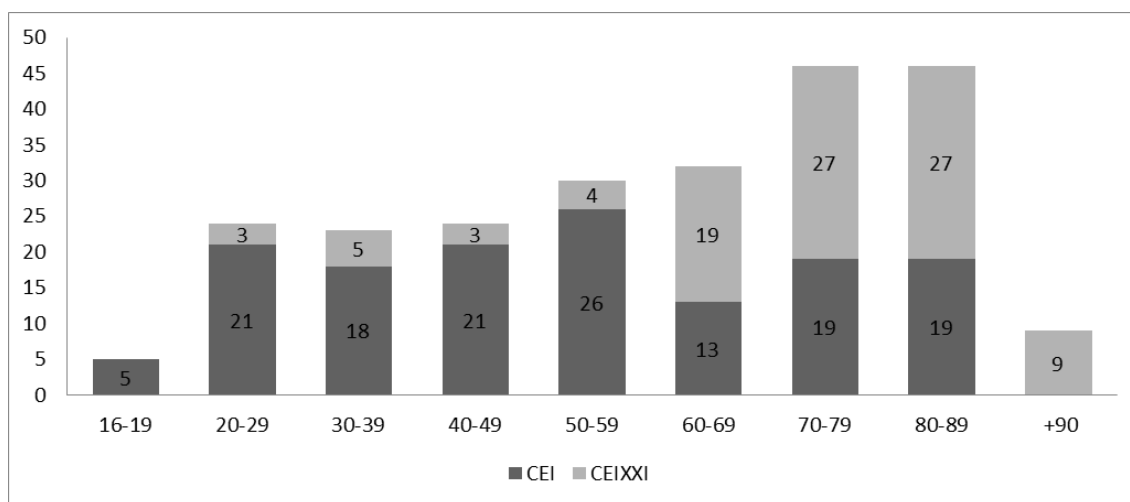
Aquando a construção da amostra é aconselhável considerar sobre alguns aspetos relativos à sua constituição de modo a não introduzir viés (Nawrocki, 2010; Warmlander e Sholts, 2011). Deve-se procurar que o número de indivíduos seja uniforme em todas as classes etárias e, idealmente, a distribuição etária da amostra de teste deveria ser semelhante à da amostra de referência. Se a amostra for constituída maioritariamente por indivíduos idosos pode-se subestimar a exatidão do método pois o erro será maior em amostras envelhecidas, se a amostra for constituída predominantemente por indivíduos jovens poder-se-á concluir que o método é mais extado do que realmente é (Nawrocki, 2010). A amostra utilizada no presente estudo é composta por indivíduos masculinos que pertencem à Coleção de Esqueletos Identificados da Universidade de Coimbra (CEI) e à Coleção de Esqueletos Identificados do Séc. XXI (CEI/XXI). Como o método original foi desenvolvido numa amostra só de homens, e já que o sexo pode ser um viés, é mais pertinente aplicar o método tal como descrito em indivíduos do sexo masculino. A CEI é constituída por 505 indivíduos, de ambos os sexos, com idades à morte a variar entre o 7 e 96 anos. Os esqueletos são provenientes do Cemitério do Conchada (Cunha e Wasterlain, 2007). A CEI/XXI é composta por 230 esqueletos, todos adultos e de ambos os sexos. A idade à morte varia entre os 25 e 100 anos (Ferreira et al., 2014). Os esqueletos são provenientes do Cemitério Municipal dos Capuchos de Santarém. A CEI/XXI encontra-se alojada no Laboratório de Antropologia Forense do Departamento de Ciências da Vida (DCV), da Universidade de Coimbra; a CEI encontra-se igualmente depositados no DVC.

No total foram recolhidos dados numa amostra de 226 indivíduos (Fig. 2.1), a partir dos quais se desenvolveram os modelos preditivos com a abordagem estatística de Lucy e colaboradores (2002). Noventa e oito pertencem à CEI/XXI e os restantes 128 à CEI, com a idade à morte a variar entre os 16 e 95 anos ( $\bar{x} = 58.93$ ;  $\sigma = 21.231$ ).



**Figura 2.1** Distribuição por classes etárias da amostra utilizada para a aplicação da abordagem estatística proposta por Lucy e colaboradores (2002)

O método de DiGangi e colaboradores (2009) foi aplicado numa amostra de 192 indivíduos (Fig. 2.2), pois só estes indivíduos apresentavam as duas características utilizadas pelos autores para desenvolver o método. Setenta e sete pertencem à CEI/XXI e 115 à CEIUC, com idade à morte a variar entre os 16 e os 95 anos ( $\bar{x} = 58.43$  anos,  $\sigma = 21.11$  anos).



**Figura 2.2** Distribuição por classes etárias da amostra utilizada para testar o método de DiGangi e colaboradores (2009)

## 2.2. Técnica e recolha de dados

DiGangi e colaboradores (2009) elaboraram sistemas de classificações para 11 características presentes nos três complexos anatómicos da 1ª costela – face costal, cabeça e faceta articular do tubérculo (Tabela 2.1).

**Tabela 2.1** Características morfológicas da 1ª costela

Face costal	Cabeça da costela	Faceta do tubérculo
Forma geométrica (CF1)	Forma da superfície	Forma geométrica do tubérculo e pescoço
Textura e topografia da superfície (CF2)	(RH1)	(TF1)
Margens da face (CF3)	Topografia da superfície (RH2)	Topografia da superfície (TF2)
	Textura da superfície (RH3)	Textura da superfície (TF3)
	Rebordo das margens (RH4)	Margens articulares (TF4)

*Face costal.* A forma geométrica da face costal passa por cinco fases e a avaliação baseia-se na transição de uma forma oval e estreita, nos indivíduos jovens, para face com cavidade côncava, cavidade oca (Fig. 2.3. A) e forma irregular, e finalmente com cavidade preenchida de osso (Fig. 2.4. B), nos indivíduos mais velhos. A topografia e textura da superfície da face costal passa por cinco estádios e a sua avaliação baseia-se na transição de uma superfície ondulada, para uma textura suave e, posteriormente para a presença de micro (< 1 mm) (Fig. 2.4. A) e macroporosidades (> 1 mm) (Fig. 2.4. B). As margens da face costal passam por 4 estádios, e a avaliação é baseada na transição de margens, inicialmente, arredondadas ou com rebordo denteado, para margens com rebordo irregular (Fig. 2.3. B), projeção de espículas grandes e, finalmente, ossificação de espículas ao redor da margem (Fig. 2.3. A). Na Tabela 2.2 apresentam-se os sistemas de classificação para a face costal.

**Tabela 2.2** Sistemas de classificação para a face costal (Traduzido de DiGangi et al, 2009)

Traço e classificação	Descrição
<b>CF1</b>	<ol style="list-style-type: none"><li>1 Estreita oval, superfície plana e rasa com sulcos (linha de fusão ainda evidente)</li><li>2 Estreita, forma em U, oval, ligeiramente côncava, sem sulcos</li><li>3 Circular e/ou forma em U mais ampla, côncava</li><li>4 Forma irregular, cavidade oca</li><li>5 Cavidade cortical preenchida por crescimento ósseo; forma irregular</li></ol>
<b>CF2</b>	<ol style="list-style-type: none"><li>1 Sulcos, padrão irregular</li><li>2 Superfície lisa, sem sulcos</li><li>3 Microporosidade evidente</li><li>4 Superfície côncava</li><li>5 Macroporosidade</li></ol>
<b>CF3</b>	<ol style="list-style-type: none"><li>1 Margens arredondadas/irregulares (desniveladas); margens projetadas com rebordo recortado</li><li>2 Margens irregulares, com saliências</li><li>3 Espículas grandes ao longo de <math>\frac{1}{4}</math> - <math>\frac{1}{2}</math> da superfície do rebordo</li><li>4 Ossificação das espículas ao longo de mais de <math>\frac{1}{2}</math> da superfície do rebordo, osso fino e osteoporótico</li></ol>

*Cabeça.* A forma da superfície passa por três estádios, desde a epífise por fundir ou recentemente fundida tendo a cabeça uma forma plana ou circular, passando por ter uma forma oval e adquirindo mais tarde forma irregular (Fig.2.5. A). A topografia da superfície passa por quatro estádios: primeiro apresenta uma superfície plana ou convexa; torna-se irregular com *pitting*, ondulações ou porosidade (Fig.2.5. A); apresenta um sulco médio-lateral; e torna-se novamente plana com porosidade e/ou labiação (crescimento osteofítico que se estende, ligeiramente ou extensivamente, para lá da margem de uma área articular) (Fig. 2.5. C). A textura da superfície passa por quatro estádios: inicialmente apresenta uma textura densa e suave, progredindo para uma textura irregular e abatida (Fig. 2.5. A), presença de

microporosidades e, por fim, macroporosidades. As alterações ao nível do rebordo são divididas em 4 fases: inicialmente a margem é arredonda e suave, passando a evidenciar um rebordo indefinido e de forma irregular (Fig. 2.5. B); tornando-se bem definido com margem afiada; por fim, apresenta labiação e exostoses (Fig. 2.5. A). Os sistemas de classificação para a cabeça estão apresentados na Tabela 2.3.

**Tabela 2.3** Sistemas de classificação para a cabeça da costela (Traduzido de DiGangi et al, 2009)

<b>Traço e classificação</b>	<b>Descrição</b>
<b>RH1</b>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1 Epífise não fundida; epífise fundida, forma plana e circular</li> <li>2 Forma oval</li> <li>3 Forma irregular</li> </ol>
<b>RH2</b>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1 Superfície plana ou convexa</li> <li>2 Superfície irregular</li> <li>3 Presença de sulco médio-lateral na margem superior</li> <li>4 Superfície secundariamente plana</li> </ol>
<b>RH3</b>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1 Densa e suave</li> <li>2 Superfície irregular e abatida</li> <li>3 Presença de microporosidade</li> <li>4 Labiação; macroporosidade</li> </ol>
<b>RH4</b>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1 Rebordo arredondado e suave; margem externa dorsal continua com o pescoço</li> <li>2 Rebordo irregular e indefinido</li> <li>3 Rebordo bem definido, irregular, acentuadamente angulado</li> <li>4 Presença de labiação e exostoses</li> </ol>

*Faceta do tubérculo.* A forma geométrica é dividida em 4 estádios, desde uma forma plana ou oval, para uma forma em “lágrima”, oval ou crescente (Fig. 2.6. B) e, finalmente, exibindo uma forma irregular (Fig. 2.6. A), que pode ser circular com perfil projetado. A topografia da superfície é dividida em quatro estádios e a sua classificação é baseada na transição de uma faceta com topografia arredondada ou bulbosa, para uma superfície plana (Fig. 26. C) e côncava, progredindo para uma topografia irregular podendo exibir macroporosidade (Fig. 2.6. A). A textura da superfície é dividida em quatro fases, a textura começa por ser densa e suave, seguido de uma textura abatida (Fig. 2.6. C) e pode apresentar *pitting* e microporosidade, progredindo para a presença de macroporosidade e/ou labiação (Fig. 2. 6. A). As alterações das margens da faceta do tubérculo são divididas em quatro estádios; inicialmente as margens são suaves e arredondadas, as margens apresentam-se ligeiramente elevadas em relação à superfície óssea, tanto as margens como osso começam a ter uma aparência rugosa (Fig. 2.6. C) e, finalmente, tem-se depressão da margem superior e/ou aumento da rugosidade e/ou osteófitos proeminentes com possível labiação (Fig. 2.6 A). Os sistemas de classificação para a faceta do tubérculo estão apresentados na Tabela 2.4.

**Tabela 2.4** Sistemas de classificação para a faceta do tubérculo (Traduzido de DiGangi et al, 2009)

<b>Traço e classificação</b>	<b>Descrição</b>
<b>TF1</b>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1 Não fundido; fundido com forma plana e oval; margens bem definidas ao redor do pescoço</li> <li>2 Forma em lágrima, com margem medial aguçada</li> <li>3 Forma oval, crescente, com margem superior inchada</li> <li>4 Perfil irregular e/ou circular que se projeta</li> </ol>
<b>TF2</b>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1 Arredondada/Bulbosa</li> <li>2 Plana</li> <li>3 Côncava</li> <li>4 Irregular; macroporosidade</li> </ol>
<b>TF3</b>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1 Densa e lisa</li> <li>2 Superfície abatida e irregular</li> <li>3 Presença de microporosidade</li> <li>4 Margens labiadas, macroporosidades</li> </ol>
<b>TF4</b>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1 Arredondadas e suaves</li> <li>2 Rebordo elevado</li> <li>3 Rugoso</li> <li>4 Margem superior abatida; aumento da rugosidade; osteófitos proeminente e/ou labiação</li> </ol>

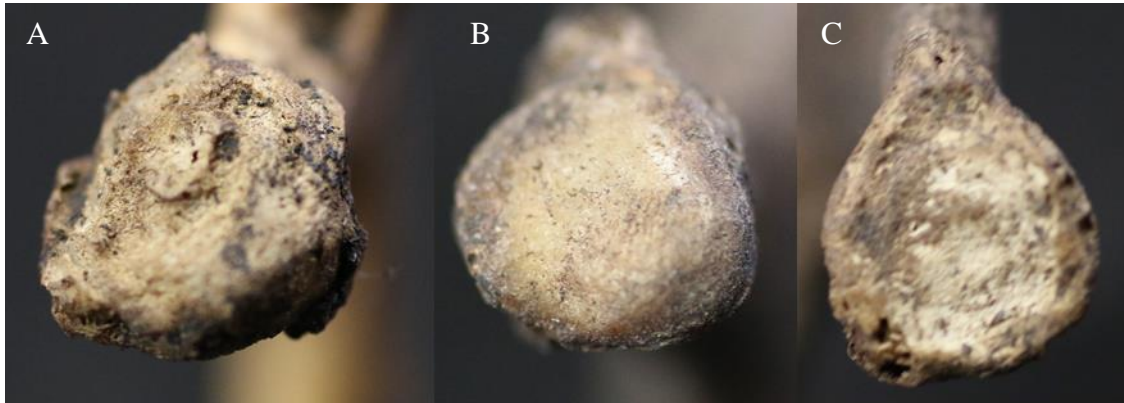


**Figura 2.3** (A) Exemplo de face costal com cavidade oca e ossificação das espículas ao longo de mais de  $\frac{1}{2}$  do rebordo (indivíduo com 89 anos); (B) Exemplo de face costal com margens irregulares com saliências (indivíduo com 38 anos)



**Figura 2.4** (A) Exemplo de face costal com microporosidade na superfície (indivíduo com 46 anos). (B) Exemplo de face costal com forma geométrica com cavidade cortical preenchida e forma irregular e macroporosidade (indivíduo com 74 anos)





**Figura 2.5** (A) Exemplo de cabeça de costela com forma e superfície irregulares, textura irregular e abatida e com presença de labiação e exostoses (indivíduo com 69 anos); (B) Exemplo de cabeça de costela com rebordo irregular e indefinido (indivíduo com 78 anos); (C) Exemplo de cabeça de costela com superfície secundariamente plana (indivíduo com 94 anos)



**Figura 2.6** (A) Exemplo de tubérculo com perfil e faceta irregulares, margens labiadas, e margem superior abatida e aumento da rugosidade (indivíduo com 89 anos); (B) Exemplo de tubérculo com perfil oval, crescente e margem superior inchada (indivíduo com 38 anos); (C) Exemplo de faceta do tubérculo plana, margens com aparência rugosa e com textura irregular e abatida (indivíduo com 46 anos)

A aplicação do método de DiGangi e colaboradores (2009) consiste na avaliação da forma geométrica da face costal e na textura da superfície da faceta do tubérculo segundo os sistemas de classificação para cada característica. A partir das classificações atribuídas, obtém-se a estimativa da idade usando a tabela 8 presente no artigo de DiGangi e colaboradores (2009). Antes da recolha definitiva dos dados realizou-se uma fase de treino num conjunto de costelas escolhido aleatoriamente, que permitiu uma familiarização com as várias características. Todas as observações foram realizadas macroscopicamente sem o auxílio de nenhum equipamento específico.

## **2.3. Metodologia estatística**

### **2.3.1. Análise do erro**

A análise estatística iniciou-se com a análise do erro, importante para avaliar a fiabilidade do método, ou seja o grau em que as observações produzem resultados semelhantes em momentos diferentes, quer seja pelo mesmo observador ou por múltiplos observadores (Ferrante e Cameriere, 2009). A fiabilidade foi analisada por meio da avaliação da repetibilidade (erro intra-observador) e reprodutibilidade (erro inter-observador). A análise ao erro intra-observador foi realizada comparando duas observações de uma amostra selecionada de forma aleatória de 62 indivíduos, 32 da CEIUC e 30 da CEIXXI, realizada em dois momentos distintos. A análise do erro inter-observador foi realizada comparando duas observações feitas por dois observadores da mesma amostra. A concordância entre as observações foi calculada com o coeficiente k (Cohen, 1968), os valores de kappa foram interpretados através da escala presente em Landis e Koch (1977). Procedeu-se ao cálculo do coeficiente de concordância de Bhapkar (1966) para testar a homogeneidade nas distribuições marginais das observações, que estima a probabilidade de as diferenças observadas terem ocorrido do acaso. A hipótese nula afirma que existe homogeneidade marginal entre as duas variáveis, e a hipótese alternativa afirma que não existe homogeneidade marginal. Outro teste usado para avaliar a fiabilidade do método foi o teste de McNemar (Bishop et al, 1975:284-285). O total da frequência das observações que se encontram acima da diagonal numa tabela de contingência é comparado com o total da frequência das observações que se encontram abaixo da diagonal. A hipótese nula afirma que não há viés sistemático entre as classificações, a hipótese alternativa afirma que há viés sistemático. Quando o valor de  $X^2$  é significativo

indica que o observador 1 teve a tendência sistemática de atribuir classificações acima ou abaixo das classificações atribuídas pelo observador 2, ou o observador 1 na 1ª sessão de recolha de observação atribuiu classificações acima ou abaixo das classificações atribuídas na 2ª sessão. A análise do erro concluiu-se com o cálculo da percentagem de concordância absoluta e com tolerância de uma categoria, e corresponde à percentagem de classificações que permaneceram idênticas entre as sessões de observação e entre observadores.

### **2.3.2. Análise da assimetria, correlação entre as variáveis e análise comparativa entre as duas coleções**

A assimetria bilateral foi analisada através do teste de Wilcoxon para comparação de duas amostras emparelhadas; a hipótese nula afirma que as diferenças entre as amostras não são significativas, enquanto a hipótese alternativa afirma que as diferenças entre as amostras são significativas. Como o valor-p apenas indica a probabilidade de obter um determinado conjunto de dados, assumindo que a hipótese nula é verdadeira, e não informa sobre a importância do efeito nos resultados obtidos, foi calculado o tamanho do efeito (Field, 2013). O tamanho do efeito mede a magnitude da relação entre duas variáveis (Field e Wright, 2006; Field, 2013) e pode ser calculado de diversas formas, no presente trabalho foi calculado através do coeficiente de correlação de Pearson (R). Este valor pode ser obtido ao dividir o valor Z pela raiz quadrada de N:

$$R = \frac{Z}{\sqrt{N}}$$

O tamanho do efeito permite medir a importância de determinado efeito nos dados observados; os valores de R podem variar entre 0 (não há efeito) e 1 (o efeito é perfeito) (Cohen, 1992):

- R = 0.10: O efeito é pequeno e explica 1% da variância total;
- R = 0.30: O efeito é médio e explica 9% do total da variância;
- R = 0.50: O efeito é grande e explica 25% da variância observada.

A associação entre a idade e as características foi avaliada por meio do cálculo do coeficiente de correlação Ró de Spearman ( $r_s$ ). A hipótese nula afirma que não existe relação entre as variáveis, a hipótese alternativa afirma a existência de relação. De modo a averiguar a associação entre os traços procedeu-se ao cálculo da correlação parcial (controlando a idade). A hipótese nula afirma que, depois de controlada a covariante, não existe relação entre as variáveis; a hipótese alternativa afirma que existe relação entre as variáveis mesmo depois de controlar a covariante. Os valores dos coeficientes de correlação variam entre -1 e 1, coeficiente com valores positivos a indicar uma relação direta entre as variáveis, valores negativos indicam uma relação inversa entre as variáveis. A magnitude da correlação foi avaliada tendo como referência os valores referidos em Pestana e Gageiro (2008): muito baixa (<0,20), baixa (0,20-0,39), moderada (0,40-0,69), alta (0,70-0,89) e muito alta (0,90-1). A correlação parcial mede a relação linear entre as variáveis, que não implica causalidade nem nos informa sobre a dependência entre as variáveis pois podemos obter valores baixos que indicam pouca correlação mesmo quando as variáveis são condicionalmente dependentes (Poczoz e Schineider, 2012). Por isso realizou-se um teste de dependência condicional com base na informação mútua condicionada (Kullback, 1978) com o intuito de verificar a dependência entre as variáveis controlando, mais uma vez, o efeito da idade. Em probabilidades, informação mútua é uma medida de informação que uma variável aleatória contém sobre outra variável igualmente aleatória, é sempre positiva e igual a zero se e só se X e Y forem independentes (Cover e Thomas, 2006). O cálculo da dependência mútua condicionada permite assim quantificar a dependência estatística entre variáveis.

As duas coleções têm sensivelmente um século de diferença temporal. Para perceber se existem diferenças nas alterações degenerativas entre as coleções aplicou-se o teste Mann-Whitney. A hipótese nula afirma que não há diferenças entre os dois grupos, já a hipótese alternativa aponta para a existência de diferenças.

### **2.3.3. Abordagem estatística para o desenvolvimento dos modelos preditivos**

A partir da metodologia de Lucy e colaboradores (2002) foram criados vários modelos preditivos para estimar a idade à morte, com base nas 11 variáveis. Nesta abordagem, as distribuições de probabilidade de densidade condicional e marginal são obtidas com o estimador de núcleo (Silverman, 1986; Wand e Jones, 1995). E a distribuição posterior é

depois obtida através do Teorema de Bayes. Uma vez que esta abordagem não faz suposições acerca das distribuições, que as abordagens paramétricas costumam fazer, a exatidão aumenta em consequência disso (Martins, 2012).

Pretende-se estimar os valores de uma variável contínua  $X$  (neste caso, a idade) dados os valores  $m$  das variáveis  $Y = (Y_1, Y_2, \dots, Y_m)$ ; segundo o Teorema de Bayes, a distribuição posterior  $f(x|y)$  de  $X$  tendo em conta os indicadores obtém-se a partir da seguinte fórmula:

$$f(x|y) = \frac{f(y|x)f(x)}{f(y)} \quad (1)$$

Onde  $f(y|x)$  é a verossimilhança conjunta dos indicadores com  $m$ -dimensões tendo em conta  $X$  e  $f(x)$  é a distribuição *a priori* de  $X$ . A função da densidade marginal  $f(y)$  pode ser encontrada através da integração do numerador da direita em relação à idade. Assumindo o princípio da independência condicional entre  $Y_i$ 's tendo em conta  $X$ , a verossimilhança na Eq. (1) pode ser escrita como:

$$f(y|x) = \prod_{i=1}^m f(y_i|x) \quad (2)$$

Onde  $f(y|x)$  representa a distribuição condicional uni-variada individual de  $Y_i$  tendo em conta  $X$ . Este classificador considera que o efeito de uma variável sobre uma determinada classe é independente das outras variáveis. Contudo, esta suposição não é realista e ignorar o contributo que uma variável pode ter nas restantes pode levar a resultados menos exatos.

Quando não é possível assegurar o princípio da independência condicional pode-se optar por métodos que procuram amenizar a premissa da independência condicional entre variáveis, para mapear as relações entre os vários indicadores (Zheng e Webb, 2011). O método TAN (Chow e Liu; 1968) procura as correlações mais elevadas entre as variáveis, adiciona um ramo entre as variáveis com o valor de correlação absoluto mais elevado, adiciona outro ramo entre as variáveis com o segundo valor de correlação mais elevado e assim sucessivamente ignorando os ramos que possam originar ciclos. Quando se tiver obtido todos os ramos, uma variável é selecionada aleatoriamente para ser a raiz da árvore; cada variável, com exceção da raiz pode ser considerada descendente de outra.

$$f(y|x) = \sum_{i=1}^m f(y_i|y_{j(i)}, x) \quad (3)$$

Onde  $m$  é o número de variáveis,  $y_{j(i)}$  é o “pai” de  $y_i$  numa árvore de dependência condicional, cuja raiz  $y_1$  foi escolhida arbitrariamente e  $f(y_1/y_{j(1)})=f(y_1/x)$ .

O método AODE (Webb, et al., 2005) executa as classificações ao agregar as previsões de vários classificadores de dependência simples em que todas as variáveis dependem de um única variável bem como da classe (variável alvo). De forma a sustentar a violação da suposição de independência entre variáveis este classificador permite que uma variável depende de outras variáveis não-classe (Zheng, et al, 2011).

$$f(y|x) = \prod_{1 \leq j \leq n, j \neq i} \hat{P}(x_j|y, x_i) \quad (4)$$

O método ATAN, proposto por Jiang e colaboradores (2012), seleciona cada variável como raiz, a partir da qual constrói uma árvore de extensão máxima ponderada direcionada completa e calcula a média das probabilidades de associação à classe produzidas pelos classificadores TAN.

$$f(y|x) = \frac{1}{m} \sum_{p=1}^m \hat{P}(c_p|e) \quad (5)$$

De acordo com o método escolhido, a verossimilhança conjunta passa a ser escrita com as fórmulas (3), (4) e (5).

As funções densidades de probabilidade marginal e condicional foram estimadas pelo método do núcleo (Silverman, 1986; Wand e Jones, 1995). Neste método, cada observação é ponderada pela distância em relação a um valor central, o núcleo. É atribuído o mesmo peso a todas as observações e estas estão situadas a mesma distância de  $x$ , e a curva estimada depende de como as observações estejam agrupadas.

Começando com a distribuição conjunta,  $f(x, y)$ , onde  $X$  é uma variável contínua enquanto os indicadores  $Y$  são discretos, o estimador do núcleo é dado pela função:

$$\hat{f}(x, y) = \frac{1}{n(y)} \sum_{i=1}^n K_{h_x}(x - x_i) \delta(y - y_i) \quad (6)$$

Onde  $K$  é uma função núcleo continua, uni-variada e simétrica em torno de zero com parâmetro de alisamento único  $h_x^2$ , e  $\delta(u)$  é a função do indicador com  $\delta(u) = 1$  se  $u = 0$  e  $\delta(u) = 0$  se  $u \neq 0$ , e  $n(y) = \sum_{i=1}^n \delta(y - y_i)$  é o número de observações com valor  $y$ . Várias funções podem servir como núcleo, escolheu-se a função núcleo gaussiana, que corresponde à distribuição normal padrão e assume sempre valores positivos:

$$K_{h_x}(x) = \frac{1}{\sqrt{2\pi h_x^2}} \exp\left\{-\frac{1}{2} \frac{x^2}{h_x^2}\right\}. \quad (7)$$

A distribuição marginal,  $f(x)$ , da variável contínua  $X$  é dada pela estimativa do núcleo univariado:

$$\hat{f}(x; H) = \frac{1}{2} \sum_{i=1}^n K_{h_x}(x - x_i). \quad (8)$$

Depois de escolhida a função núcleo  $K$ , à que selecionar o parâmetro de alisamento  $h$ . Este parâmetro corresponde à escolha da largura do intervalo que vai determinar o grau de alisamento da estimativa e atua como fator de escala que determina a expansão do núcleo. As diferenças entre o estimador de densidade  $\hat{f}$  e densidade  $f$  dependem deste parâmetro. Para um núcleo Gaussiano, Silverman (1986) propôs a seguinte abordagem para selecionar o parâmetro de alisamento:

$$h = 0.9An^{-(1/5)}, \text{ onde } A = \min(\sigma, \text{intervalo interquartil}/1.34) \quad (9)$$

#### 2.3.4. Cálculos efetuados para a validação do método de DiGangi e colaboradores (2009) e dos modelos preditivos

- *Cobertura*: percentagem dos intervalos de credibilidade de 95% e 50% que incluem a idade real.
- *Desvio médio absoluto (DMA)*: mede a inexatidão ao calcular a diferença absoluta entre idade real e idade estimada, sem considerar a direção do erro.

$$DMA = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n |e_i| = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n |x_i - \hat{x}_i|,$$

Onde  $x_i$  corresponde à idade real para o indivíduo  $i$ -th e  $\hat{x}_i$  corresponde à idade estimada;

- *Raiz do erro quadrático médio (REQM)*: mede a magnitude da diferença entre idade real e idade estimada. Esta medida é útil para agregar as magnitudes dos erros nas previsões feitas a partir de várias observações numa única medida. Quanto maior a diferença entre *DMA* e *REQM*, maior a variância dos erros

individuais na amostra; se  $REQM=DMA$ , então todos os erros têm a mesma magnitude.

$$REQM = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (e_i)^2} = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (x_i - \hat{x}_i)^2}$$

- O viés foi obtido através da diferença entre idade real e idade estimada. O sinal indica se a idade real está a ser sub- ou sobre-representada.

$$viés = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (e_i) = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (x_i - \hat{x}_i)$$

- Média dos intervalos de credibilidade a 95%

O coeficiente de correlação ( $r$ ) permitiu avaliar o grau de associação linear entre as variáveis “idade cronológica” e “idade estimada”. A percentagem de variância entre as duas variáveis foi obtida através do coeficiente de determinação ( $r^2$ ).

O desempenho geral dos modelos preditivos foi avaliado através do método validação cruzada com 10 repartições (10-Fold). Este método de validação consiste em dividir o conjunto de dados em 10 subconjuntos de igual dimensão, são realizadas 10 interações de treino e validação de modo a que em cada interação um subconjunto diferente seja utilizado para teste enquanto os restantes 9 subconjuntos são utilizadas para a validação do modelo (Refaeilzadeh, et al., 2009). Os dados foram armazenados numa base de dados no *software* Microsoft Office Excel 2010, e analisados recorrendo ao mesmo *software* e ao sistema de computação estatística R v3.2.3 (R Development Core Team, 2013). Os modelos preditivos foram obtidos através desta aplicação: <http://apps.osteomics.com/SKLTR/>.



### 3. Resultados

#### 3.1. Análise do erro

##### 3.1.1. Erro intra-observador

A concordância intra-observador, tendo em conta os valores do teste *kappa* (Tabela 3.1), varia entre concordância ligeira e concordância substancial. As variáveis com menor concordância são a topografia da superfície da faceta do tubérculo (TF2) e a topografia da superfície da cabeça (RH2) com valores de *kappa* na ordem dos 0,270 (*valor-p* = 0,027) e 0,384 (*valor-p* = 0,003), respetivamente. Para as duas variáveis selecionadas pelos autores para desenvolver o método, a concordância foi maior para a forma geométrica da face costal (CF1) ( $k = 0,639$ , *valor-p* = 0,000) do que para a textura da superfície do tubérculo (TF3) ( $k = 0,473$ , *valor-p* = 0,005).

**Tabela 3.1** Valores do teste *kappa* para a análise do erro intra-observador

Variável	<i>Kappa</i>	<i>Kappa</i> (SD)	<i>Z</i>	<i>Valor-p</i>	<i>N</i>
CF1	0,639	0,083	7,701	0,000	47
CF2	0,679	0,066	10,300	0,000	49
CF3	0,625	0,113	5,510	0,000	39
RH1	0,664	0,119	5,574	0,000	46
RH2	0,384	0,140	2,753	0,003	46
RH3	0,539	0,139	3,881	0,000	46
RH4	0,697	0,095	7,353	0,000	45
TF1	0,588	0,095	6,212	0,000	37
TF2	0,270	0,140	1,930	0,027	39
TF3	0,473	0,182	2,594	0,005	38
TF4	0,518	0,109	4,769	0,000	32

O teste de Bhapkar para homogeneidade marginal (Tabela 3.2) revelou a existência de diferenças significativas entre as duas sessões de observação para a forma da superfície da cabeça (RH1) ( $X^2 = 7,699$ , *valor-p* = 0,021) e houve uma tendência sistemática na classificação dessa variável (Tabela 3.3). Os valores da percentagem de concordância (Tabela 3.4) são baixos para a textura e topografia da superfície da extremidade esternal (CF2), a forma geométrica do tubérculo e pescoço (TF1), a RH2, a TF2 e a TF3. Quando se calcula a percentagem de concordância com uma categoria de tolerância, os valores variam entre os 71,7% e 97,8%, sendo mais baixa para a variável RH2. Nas situações em que não foi atribuída a mesma categoria na 2ª observação, atribui-se uma categoria de diferença.

**Tabela 3.2** Valores do teste Bhapkar para a análise do erro intra-observador

Variável	$X^2$	Valor-p
CF1	7,138	0,129
CF2	0,223	0,994
CF3	0,343	0,952
RH1	7,699	0,021
RH2	0,844	0,839
RH3	3,404	0,333
RH4	3,513	0,319
TF1	3,619	0,306
TF2	4,377	0,224
TF3	2,227	0,527
TF4	5,172	0,160

**Tabela 3.3** Valores do teste de McNemar para análise do viés do erro intra-observador

Variável	$X^2$	Valor-p
CF1	2,333	0,127
CF2	0,360	0,549
CF3	0,692	0,405
RH1	6,400	0,011
RH2	0,429	0,513
RH3	0,692	0,405
RH4	0,333	0,564
TF1	0,529	0,467
TF2	0,360	0,549
TF3	1,000	0,317
TF4	0,474	0,491

**Tabela 3.4** Valores da percentagem de concordância absoluta e com tolerância para a análise do erro intra-observador

Variável	%C	%T=1
CF1	55,3	89,4
CF2	49,0	89,8
CF3	66,7	89,8
RH1	78,3	97,8
RH2	54,4	71,7
RH3	71,7	89,1
RH4	73,3	97,8
TF1	54,1	97,3
TF2	35,9	87,2
TF3	76,3	86,9
TF4	40,6	87,5

### 3.1.2. Erro inter-observador

A concordância inter-observador, tendo em conta os valores do teste *kappa* (Tabela 3.5) também varia entre concordância substancial e ligeira. As variáveis com menor concordância são RH2 ( $k = 0,2813$ , *valor-p* = 0,000), o rebordo das margens da cabeça (RH4) ( $k = 0,3118$ , *valor-p* = 0,000) e TF3 ( $k = 0,3747$ , *valor-p* = 0,000). No que diz respeito às duas variáveis utilizadas pelos autores para desenvolverem o método, à semelhança do que se observa na análise do erro intra-observador, a concordância é maior para a característica CF1 ( $k = 0,7407$ , *valor-p* = 0,000) do que a TF3 ( $k = 0,3747$ , *valor-p* = 0,000).

**Tabela 3.5** Valores do teste kappa para a análise do erro inter-observador

Variável	<i>Kappa</i>	<i>Kappa (SD)</i>	<i>Z</i>	<i>Valor-p</i>	<i>N</i>
<b>CF1</b>	0,7407	0,0338	21,9375	0,000	211
<b>CF2</b>	0,5722	0,0477	11,9852	0,000	214
<b>CF3</b>	0,5876	0,0477	12,3148	0,000	194
<b>RH1</b>	0,6536	0,0565	11,5687	0,000	204
<b>RH2</b>	0,2813	0,0598	4,7053	0,000	205
<b>RH3</b>	0,4847	0,0543	8,9249	0,000	204
<b>RH4</b>	0,3118	0,0658	4,7369	0,000	195
<b>TF1</b>	0,6531	0,0475	13,7461	0,000	177
<b>TF2</b>	0,6073	0,0442	13,736	0,000	183
<b>TF3</b>	0,3747	0,0666	5,6237	0,000	177
<b>TF4</b>	0,5155	0,0493	10,4528	0,000	165

O teste de Bhapkar para a homogeneidade marginal (Tabela 3.6) mostra que as classificações inter-observadores diferiram significativamente, com exceção da variável RH1 e TF1. Também se verificou um enviesamento entre as classificações atribuídas pelos dois observadores (Tabela 3.7). Os valores da percentagem de concordância (Tabela 3.8) foram mais baixos para as variáveis RH2, RH4 e as margens articulares da faceta do tubérculo (TF4). Quando se calcula a percentagem de concordância com tolerância de uma categoria os valores variam entre os 57,1% e 98%, sendo que a variável menos concordante é, à semelhança da análise intra-observador, a RH2. O observador 1 tendeu a classificar, de forma sistemática, uma a duas categorias abaixo das classificações atribuídas pelo observador 2.

**Tabela 3.6** Resultados do teste Bhapkar para a análise do erro inter-observador

Variável	X <sup>2</sup>	Valor-p
CF1	51,0280	0,0000
CF2	23,3630	0,0001
CF3	34,4830	0,0000
RH1	1,5570	0,4592
RH2	75,9440	0,0000
RH3	86,5130	0,0000
RH4	98,1200	0,0000
TF1	7,1930	0,0660
TF2	27,3150	0,0000
TF3	29,5850	0,0000
TF4	28,8570	0,0000

**Tabela 3.7** Resultados do teste McNemar para análise do viés do erro inter-observador

CF1	19,5120	0,0000
CF2	11,6670	0,0006
CF3	25,8050	0,0000
RH1	0,7830	0,3763
RH2	50,6670	0,0000
RH3	55,1490	0,0000
RH4	64,5330	0,0000
TF1	1,9460	0,1630
TF2	29,0700	0,0000
TF3	38,3680	0,0000
TF4	45,3430	0,0000

**Tabela 3.8** Valores da percentagem de concordância absoluta e com tolerância para a análise do erro inter-observador

Variável	%C	%T=1
CF1	61,1	95,7
CF2	50,9	83,2
CF3	57,7	87,1
RH1	77,5	98,0
RH2	44,4	57,1
RH3	53,9	78,9
RH4	38,5	78,5
TF1	58,2	95,5
TF2	53,0	89,6
TF3	57,1	71,2
TF4	40,0	82,4

### 3.2. Análise da assimetria, correlação entre as variáveis e análise comparativa entre as coleções

O teste de Wilcoxon (Tabela 3.9), para analisar a assimetria bilateral, revelou diferenças significativas nas características CF3 ( $T = 0,054$ ,  $valor-p = 0,054$ ,  $R = 0,150$ ) e TF1 ( $T = 0,034$ ,  $valor-p = 0,034$ ,  $R = 0,179$ ). Os valores do tamanho do efeito mostram que o efeito da lateralidade é pequeno, pois todas as variáveis apresentam valores inferiores a 0.30. pode-se então concluir que as diferenças encontradas entre os lados esquerdo e direito não são significativas do ponto de vista estatístico.

**Tabela 3.9** Resultados do teste de Wilcoxon para a análise da assimetria bilateral

Variável	T	Z	Valor-p	N	R
CF1	289,500	-0,458	0,647	162	0,036
CF2	316,000	-0,838	0,402	159	0,066
CF3	497,000	-1,925	0,054	164	0,150
RH1	121,000	-0,218	0,827	147	0,018
RH2	203,000	-0,914	0,361	150	0,075
RH3	550,000	-0,379	0,704	148	0,031
RH4	567,000	-0,594	0,552	147	0,049
TF1	266,000	-2,117	0,034	140	0,179
TF2	727,000	-0,367	0,713	143	0,031
TF3	240,500	-1,276	0,202	142	0,107
TF4	581,000	-1,129	0,259	135	0,097

A correlação entre as variáveis com a idade é moderada (Tabela 3.10). A variável que exibe maior grau de correlação é a CF1 ( $r_s = 0,633$ ,  $valor-p = 0,000$ ) e a RH4 ( $r_s = 0,410$ ,  $valor-p = 0,000$ ) é a que apresenta menor correlação. Quando se calcula a correlação dos componentes por estádios (Tabela 3.11), observa-se que os estádios intermédios apresentam menor correlação com a idade comparativamente aos estádios iniciais e avançados. Este padrão de correlação não é estatisticamente significativo para as características CF3, RH3, RH4 e TF3.

**Tabela 3.10** Resultados do coeficiente de correlação Ró de Spearman para a análise da correlação entre os traços e a idade

Variável	$r_s$	Valor-p	N
<b>CF1</b>	0,633	0,000	209
<b>CF2</b>	0,525	0,000	209
<b>CF3</b>	0,420	0,000	206
<b>RH1</b>	0,552	0,000	198
<b>RH2</b>	0,472	0,000	199
<b>RH3</b>	0,505	0,000	197
<b>RH4</b>	0,410	0,000	193
<b>TF1</b>	0,596	0,000	203
<b>TF2</b>	0,494	0,000	207
<b>TF3</b>	0,443	0,000	206
<b>TF4</b>	0,533	0,000	197

**Tabela 3.11** Resultados do Coeficiente Ró de Spearman para análise da correlação das características, por estádios, com a idade

Variável		Rho	Valor-p	P(i)
<b>CF1</b>	(i=1)	0,385	0,000	0,053
	(i=2)	0,384	0,000	0,077
	(i=3)	0,171	0,013	0,239
	(i=4)	0,157	0,023	0,383
	(i=5)	0,428	0,000	0,249
<b>CF2</b>	(i=1)	0,385	0,000	0,053
	(i=2)	0,291	0,000	0,086
	(i=3)	0,152	0,028	0,196
	(i=4)	0,114	0,100	0,306
	(i=5)	0,366	0,000	0,359
<b>CF3</b>	(i=1)	0,487	0,000	0,092
	(i=2)	0,125	0,074	0,248
	(i=3)	0,129	0,065	0,160
	(i=4)	0,295	0,000	0,500
<b>RH1</b>	(i=1)	0,474	0,000	0,091

	(i=2)	0,250	0,000	0,116
	(i=3)	0,535	0,000	0,793
<b>RH2</b>	(i=1)	0,502	0,000	0,131
	(i=2)	0,020	0,781	0,191
	(i=3)	0,181	0,011	0,075
	(i=4)	0,428	0,000	0,603
<b>RH3</b>	(i=1)	0,514	0,000	0,112
	(i=2)	0,037	0,602	0,421
	(i=3)	0,026	0,713	0,132
	(i=4)	0,401	0,000	0,335
<b>RH4</b>	(i=1)	0,493	0,000	0,109
	(i=2)	0,073	0,315	0,228
	(i=3)	0,079	0,276	0,326
	(i=4)	0,339	0,000	0,337
<b>TF1</b>	(i=1)	0,458	0,000	0,084
	(i=2)	0,283	0,000	0,103
	(i=3)	0,079	0,265	0,320
	(i=4)	0,499	0,000	0,493
<b>TF2</b>	(i=1)	0,498	0,000	0,126
	(i=2)	0,121	0,082	0,256
	(i=3)	0,194	0,005	0,353
	(i=4)	0,284	0,000	0,266
<b>TF3</b>	(i=1)	0,516	0,000	0,112
	(i=2)	0,129	0,066	0,651
	(i=3)	0,045	0,524	0,049
	(i=4)	0,234	0,001	0,189
<b>TF4</b>	(i=1)	0,527	0,000	0,112
	(i=2)	0,195	0,006	0,208
	(i=3)	0,221	0,002	0,391
	(i=4)	0,302	0,000	0,289



A partir do coeficiente de correlação parcial (Tabela 3.12) observa-se que o grau de correlação é maior entre as variáveis que fazem parte do mesmo complexo anatómico. As variáveis que exibem maior correlação são a RH3 e RH4 ( $r = 0,635$ ), e as que apresentam menor grau de correlação são as variáveis CF1 e RH3 com coeficiente de 0,103. Na tabela 3.13 estão os resultados para o teste de dependência condicional com base na informação mútua condicionada. Tal como no teste da correlação parcial, a dependência é maior entre as variáveis que fazem parte do mesmo complexo anatómico. As variáveis que apresentam maior dependência são a CF1 e CF2 (209,691, valor-p = 0,000), e a que apresenta menor dependência são as variáveis RH1 e TF4 (58,105, valor-p = 0,050).

**Tabela 3.12** Correlação parcial entre as 11 variáveis

	CF1	CF2	CF3	RH1	RH2	RH3	RH4	TF1	TF2	TF3	TF4
CF1		0,605	0,466	0,329	0,256	0,103	0,190	0,437	0,246	0,303	0,373
CF2	207		0,347	0,327	0,315	0,237	0,316	0,361	0,287	0,343	0,418
CF3	205	203		0,411	0,424	0,288	0,352	0,392	0,315	0,359	0,413
RH1	186	185	185		0,477	0,336	0,397	0,376	0,316	0,299	0,313
RH2	186	185	185	198		0,429	0,427	0,345	0,231	0,294	0,371
RH3	184	183	183	196	197		0,635	0,265	0,161	0,240	0,242
RH4	180	179	179	192	193	193		0,337	0,333	0,350	0,374
TF1	189	188	186	184	185	183	181		0,504	0,462	0,545
TF2	193	192	190	187	188	186	183	203		0,530	0,469
TF3	192	191	189	186	187	185	182	202	205		0,607
TF4	184	183	182	183	184	182	180	196	196	196	

Valores abaixo da diagonal são o tamanho da amostra para cada par de variáveis.

**Tabela 3.13** Teste de dependência condicional com base na informação mútua condicionada

	<b>CF1</b>	<b>CF2</b>	<b>CF3</b>	<b>RH1</b>	<b>RH2</b>	<b>RH3</b>	<b>RH4</b>	<b>TF1</b>	<b>TF2</b>	<b>TF3</b>	<b>TF4</b>
<b>CF1</b>		209,691	182,388	43,726	76,984	76,756	71,589	83,079	69,604	60,535	68,962
<b>CF2</b>	0,000		121,522	54,610	84,661	81,388	81,092	85,639	93,483	70,481	86,202
<b>CF3</b>	0,000	0,005		48,087	69,993	73,863	62,452	64,020	67,664	52,592	66,421
<b>RH1</b>	0,884	0,528	0,240		102,288	97,380	101,399	61,346	47,591	34,966	58,105
<b>RH2</b>	0,693	0,459	0,255	0,000		142,196	137,294	69,609	68,579	55,624	89,969
<b>RH3</b>	0,700	0,560	0,165	0,000	0,000		194,256	80,986	75,742	70,945	86,132
<b>RH4</b>	0,831	0,570	0,496	0,000	0,000	0,000		85,260	86,780	69,820	111,837
<b>TF1</b>	0,508	0,430	0,440	0,027	0,265	0,063	0,032		114,650	95,484	124,301
<b>TF2</b>	0,871	0,225	0,321	0,256	0,294	0,130	0,025	0,000		141,336	129,280
<b>TF3</b>	0,975	0,854	0,822	0,771	0,734	0,230	0,259	0,005	0,000		142,437
<b>TF4</b>	0,882	0,413	0,360	0,050	0,014	0,028	0,000	0,000	0,000	0,000	

Para averiguar se existiam diferenças nas alterações degenerativas entre as duas coleções aplicou-se o teste Mann-Whitney, cujos resultados estão apresentados na Tabela 3.14. O teste mostrou diferenças significativas em todas as variáveis, menos na CF3 ( $u = 4390,00$ ; valor- $p = 0,066$ ), RH4 ( $u = 4305, 50$ ; valor- $p = 0,588$ ), TF3 ( $u = 4672, 50$ ; valor- $p = 0,147$ ).

**Tabela 3.14** Resultados do teste Mann-Whitney para a análise comparativa entre as coleções

<i>Variável</i>	<i>U</i>	<i>Valor-p</i>	<i>Z</i>	<i>N</i>
<b>CF1</b>	3041,00	0,000	-5,464	209
<b>CF2</b>	3942,50	0,001	-3,342	209
<b>CF3</b>	4390,00	0,066	-1,841	206
<b>RH1</b>	3521,00	0,000	-4,452	198
<b>RH2</b>	3985,00	0,018	-2,357	199
<b>RH3</b>	3878,50	0,024	-2,256	197
<b>RH4</b>	4305,50	0,588	-0, 541	193
<b>TF1</b>	2790,00	0,000	-5,891	203
<b>TF2</b>	3972,00	0,002	-3,158	207
<b>TF3</b>	4672,50	0,147	-1,450	206
<b>TF4</b>	3791,00	0,015	-2,421	197

Os valores da média das classificações sugerem que os indivíduos da CEIXXI envelhecem mais cedo (Tabela 3.15). Contudo, isto pode ser explicado pelo fato de a amostra desta coleção ser constituída sobretudo por indivíduos com idade à morte acima dos 60. Já a amostra da coleção CEI é composta por indivíduos mais jovens.

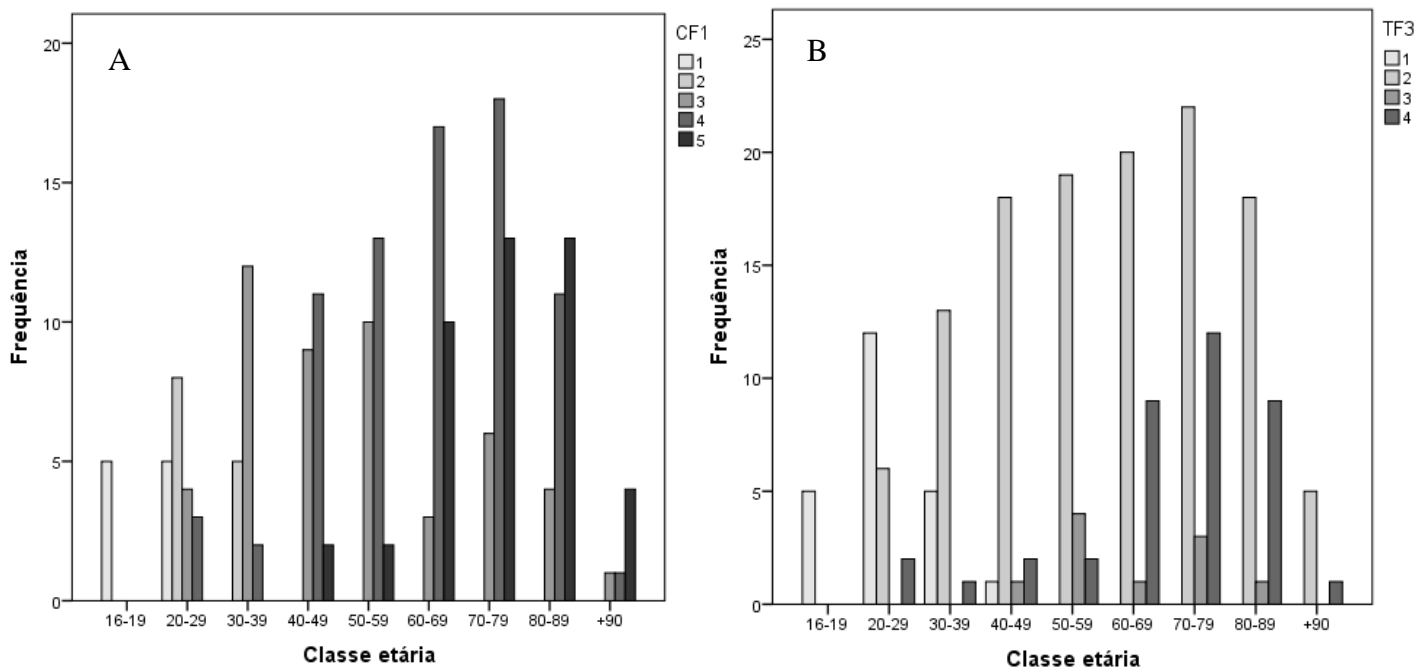
**Tabela 3.15** Média e desvio de padrão das classificações

Variável	CEI			CEIXXI		
	Média	Desvio padrão	N	Média	Desvio padrão	N
<b>CF1</b>	3,35	1,131	123	4,20	0,794	86
<b>CF2</b>	3,57	1,290	121	4,19	0,842	88
<b>CF3</b>	2,93	1,168	123	3,28	0,831	83
<b>RH1</b>	2,53	0,753	115	2,94	0,239	83
<b>RH2</b>	2,99	1,241	116	3,37	0,946	83
<b>RH3</b>	2,55	1,110	115	2,89	0,943	82
<b>RH4</b>	2,83	1,072	114	2,97	0,877	79
<b>TF1</b>	2,88	1,044	117	3,69	0,491	86
<b>TF2</b>	2,55	1,110	117	3,03	0,710	90
<b>TF3</b>	2,27	1,001	118	2,37	0,763	88
<b>TF4</b>	2,69	1,083	116	3,10	0,700	81

### 3.3. Teste de validação do método de DiGangi e colaboradores (2009)

Quando se observa a distribuição das categorias pelos grupos etários (Figura 3.1) verifica-se que para a forma geométrica da face costal (CF1) há um incremento das categorias mais elevadas com o aumento da idade. No caso da textura da superfície do tubérculo TF3, embora se verifique aumento das categorias mais elevadas com a idade, a categoria 2 é a mais frequente em quase todas as classes etárias. Estes resultados vêm de certo modo ao encontro dos resultados para a correlação entre variáveis apresentados anteriormente, onde se verificou que a característica CF1 foi a que obteve coeficiente de correlação mais elevado, enquanto a característica TF3 foi uma das que apresentou menor coeficiente de correlação.

Na Tabela 3.16 observam-se os resultados da validação do método de DiGangi e colaboradores (2009). Usando os intervalos de credibilidade de 95%, 81,77% dos indivíduos foram colocados no intervalo que contém a sua idade real. Esta percentagem começa a diminuir a partir da 6ª década. Obteve-se um erro de, aproximadamente, 22 anos entre a idade cronológica e a idade estimada.



**Figura 3.1.** Frequência das categorias da característica CF1 (A) e da característica TF3 (B) por classe etária

**Tabela 3.16** Resultados para a validação do método de DiGangi e colaboradores (2009), por classe etária

<b>Década</b>	<b>Cobertura (50%)</b>	<b>Cobertura (95%)</b>	<b>DMA</b>	<b>REQM</b>
<b>16-19 (n=5)</b>	60%	100%	5,6	5,77
<b>20-29 (n=20)</b>	40%	100%	9,82	11,90
<b>30-39 (n=19)</b>	57,89%	100%	8,78	11,27
<b>40-49 (n=22)</b>	63,63%	100%	8,88	10,98
<b>50-59 (n=25)</b>	40%	100%	13,32	15,31
<b>60-69 (n=30)</b>	43,33%	96,67%	14,13	16,99
<b>70-79 (n=37)</b>	5,41%	75,68%	23,55	25,84
<b>80-89 (n=28)</b>	0%	21,43%	32,28	33,96
<b>+90 (n=6)</b>	0%	0%	40	41,19
<b>Total da amostra</b>	31,77%	81,77%	17,9	21,63

Valores do DMA e REQM em anos.

Em média, o método subestimou a idade dos indivíduos em aproximadamente 15 anos ( $\bar{x} = 15,37$ ;  $\sigma = 15,26$ ). A correlação entre idade real e idade estimada é moderada ( $r = 0,69$ ), e o coeficiente de determinação ( $r^2 = 0,48$ ) sugere que aproximadamente metade da variação morfológica da 1ª costela não está associada à idade.

### 3.4. Teste de validação dos modelos preditivos

Foram criados modelos preditivos de acordo com a metodologia de Lucy e colaboradores (2002) em que se consideraram todas as variáveis. Na Tabela 3.17 estão os resultados para o desempenho geral dos modelos preditivos. A cobertura varia entre os 77% e 89%, o erro varia entre os 16-18 anos e a média da amplitude dos intervalos entre os 34-44 anos. O modelo que assume a independência entre variáveis (Modelo NDE) é o que apresenta intervalos preditivos mais estreitos e menos erro. Entre os modelos que assumem a dependência condicional o Modelo AODE é o que parece ter um melhor desempenho, neste, o REQM é de, aproximadamente 18 anos e a cobertura é de 89%. Embora não se verifique grandes diferenças entre os três modelos.

**Tabela 3.17** Resultados para o desempenho dos modelos preditivos

<b>Modelo</b>	<b>Cobertura (%)</b>	<b>DMA</b>	<b>REQM</b>	<b>PIMWIDTH</b>	<b>R</b>
<b>Modelo NDE</b>	0,77	11,58	15,55	34,15(5,35-61,57)	0,73
<b>Modelo ATAN</b>	0,83	12,68	18,21	38,17 (10,71-76,97)	0,63
<b>Modelo TAN</b>	0,83	12,67	18,21	38,33 (10,71-76,97)	0,63
<b>Modelo AODE</b>	0,89	12,54	17,57	44,42 (11,38-74,96)	0,65

Valores do DMA e REQM em anos.

PIMWIDTH – Média dos intervalos preditivos.

## 4. Discussão

### 4.1. Análise do erro

A concordância, tanto intra-observador como inter-observador varia entre ligeira e substancial. No que diz respeito à análise do erro intra-observador, o valor de *kappa* revelou menor concordância nas variáveis que avaliam a topografia da superfície da cabeça (RH2) e a superfície da faceta tubercular (TF2). Quando as variáveis não eram colocadas na mesma categoria, em ambas as sessões de observação, eram classificadas com uma categoria de diferença. O valor de *kappa* para a análise ao erro inter-observador revelou menor concordância entre as variáveis que avaliam as alterações do rebordo das margens da cabeça (RH4), a textura da superfície da faceta do tubérculo (TF3) e a RH2. O observador 1 atribuiu sistematicamente uma categoria abaixo em relação às classificações atribuídas pelo observador 2. Para as duas variáveis que os autores selecionaram para construir o método, os valores de *kappa* para a variável que avalia a forma geométrica da face costal (CF1) foram superiores aos valores para a variável TF3, tanto na análise do erro intra-observador como no erro inter-observador. Tendo em conta a relativa simplicidade dos sistemas de classificação, pode-se considerar que os resultados da análise do erro intra- e inter-observador foram fracos. Para a variável RH2, decidir classificar a superfície da cabeça da costela como plana ou secundariamente plana foi algo problemático. Para as outras variáveis, por vezes surgiram dificuldades quando era necessário decidir entre categorias adjacentes. Sistemas de classificação com descrições mais detalhadas ajudariam a fazer uma melhor interpretação das alterações que são suposto observar-se.

Getz (2011) testou o método de DiGangi e colaboradores (2009) em 452 indivíduos do sexo masculino da Coleção Hamann-Todd. O erro foi avaliado comparado as observações realizadas por quatro estudantes, com treino avançado em osteologia, a 113 costelas. A autora também encontrou pouca concordância intra-observador e inter-observador, sendo que a primeira teve valores ligeiramente superiores à segunda. Em ambos os casos, a variável CF1 obteve valores mais elevados do que a variável TF3. Para a concordância intra-observador, os valores de *kappa* ponderado variaram entre os 0,64-0,86 e 0,55-0,77 para as variáveis CF1 e TF3, respetivamente. Quanto à concordância inter-observador, os valores de *kappa* ponderado variaram entre os 0,62-0,74 e 0,26-0,49 para as variáveis CF1 e TF3, respetivamente; sempre

que dois observadores não escolham a mesma categoria, a CF1 era classificada com uma categoria de diferença e a TF3 com duas categorias de diferença.

#### **4.2. Teste de validação do método de DiGangi e colaboradores (2009)**

A estimativa da idade nos não-adultos é relativamente simples devido à natureza dos indicadores etários. Nestes, as alterações que se observam acontecem a um ritmo mais ou menos previsível e de forma sequencial o que permite chegar a estimativas mais precisas e mais exatas. O mesmo não acontece com os adultos, cujas alterações estão sob a influência de uma miríade de fatores que afetam de forma distinta os indivíduos. À medida que a idade cronológica aumenta, a relação entre esta e a idade biológica vai-se diluindo em consequência da acumulação das alterações degenerativas, o que pode levar a que indivíduos com a mesma idade cronológica possam exibir diferentes idades biológicas (Nawrocki, 2010). Dada a relevância deste parâmetro é importante que se avalie o desempenho das metodologias de modo a verificar que estas expressam a variabilidade das alterações morfológicas que ocorrem com a idade e produzam estimativas que se aproximam da idade real. Um dos objetivos propostos pelo presente trabalho foi avaliar a fiabilidade do método de DiGangi e colaboradores (2009) para a estimativa da idade à morte a partir da metamorfose da 1ª costela.

Considerando os intervalos de credibilidade de 95%, obteve-se uma média de cobertura de 81,77%; o método é extremamente exato até à 6ª década, a partir daí essa percentagem diminui. Na presente amostra, obteve-se um erro de 22 anos entre a idade cronológica e a idade estimada. Observou-se a tendência para subestimar a idade dos indivíduos em média, em cerca de 15 anos.

Quando DiGangi e colaboradores (2009) aplicaram o método aos mesmos 449 indivíduos que usaram para o desenvolver, obtiveram uma percentagem de cobertura de 92,87% com os intervalos de credibilidade de 95%, e 49,89% com os intervalos de credibilidade de 50%. Estes resultados não têm validade já que quando se testa um método na mesma amostra que foi usada para o desenvolver pode-se obter resultados demasiado otimista e pouco realistas. Na amostra da Coleção Hamann-Todd, Getz (2011) obteve uma percentagem de cobertura de 84,3% com os intervalos de 95%. Esta autora concluiu que o método é mais exato até aos 55 anos de idade, tende a sobrestimar a idade dos indivíduos com menos de 40 anos e a



subestimar a idade dos indivíduos com mais de 40 anos. Segundo a autora, diferenças genéticas entre as populações dos Balcãs e dos EUA podem estar na razão destes resultados.

Sullivan (2012) tentou replicar o estudo de DiGangi e colaboradores (2009) numa amostra de 190 indivíduos femininos da Coleção Forense William Bass. O autor concluiu que esta metodologia não é adequada para estimar a idade à morte de indivíduos do sexo feminino. Aquando da análise estatística o autor observou que a média das idades de transição obtida ultrapassava o intervalo de vida possível ao ser humano. A título de exemplo, a média de idade de transição entre o grau 3 para o grau 4, da textura da superfície do tubérculo, obtida foi de 154,94 anos. A distribuição da frequência das classificações dos graus e a baixa correlação entre os traços e a idade sugerem a existência de variabilidade significativa nas alterações morfológicas e que estas estão pouco relacionadas com a idade. O autor justifica os resultados obtidos pelo elevado grau de subjetividade do método, existência de variação biológica entre sexos e erro na amostragem. Nas mulheres o esterno localiza-se mais abaixo do que nos homens, ao nível da 3ª vertebra torácica, enquanto nos homens encontra-se ao nível da 2ª vertebra torácica (Aiello e Dean, 1990). O volume da caixa torácica é 10% menor, o diafragma e as costelas são mais curtos (Bellemare, et al., 2003, 2006). Elrod (2012) encontrou dimorfismo sexual no ângulo entre a cabeça e o tubérculo da 1ª costela. Kubicka e Piontek (2016) verificaram que a 1ª costela é maior nos homens do que nas mulheres. O processo de envelhecimento também apresenta diferenças entre os sexos. Nas mulheres, após a menopausa, a taxa de remodelação óssea é mais lenta devido à redução dos níveis de estrogénio (Kaptoge, et. al., 2003). As diferenças anatómicas que existem na morfologia da caixa torácica e costelas, bem como as diferenças na senescência entre homens e mulheres podem influenciar as alterações degenerativas da 1ª costela se dão. O que poderá explicar porquê que o método não funcionou nas mulheres.

Merrit (2013) comparou a fiabilidade entre cinco métodos originais com seis métodos modificados, incluído o método de DiGangi e colaboradores (2009), calculando a inexatidão e o viés conforme proposto por Meindl e colaboradores (1985), numa amostra de 20 indivíduos do sexo masculino de descendência europeia da Coleção J. C. B. Grant. Noventa por cento dos indivíduos foram colocados no intervalo etário que continha as suas idades cronológicas. De todos os métodos modificados, este foi o que apresentou mais inexatidão e menos precisão, a idade estimada média diferiu em 12,14 anos da idade real com enviesamento de -12,04 anos. À semelhança do presente estudo e de Getz (2011), a precisão do método diminui

a partir da 6ª década de vida. Numa amostra de 764 indivíduos das Coleções Hamann-Todd e William Bass, constituída por indivíduos de ambos os sexos e de ancestralidade europeia, africana, hispânica, asiática e aborígine, Merrit (2014b) verificou que, para os homens, a idade estimada diferiu em 14,90 anos, a idade foi subestimada em, aproximadamente, 12 anos. A autora observou diferenças significativas entre sexos e grupos de diferentes afinidades populacionais. Dos vários métodos que autora aplicou, este foi o menos fiável, no sentido de ser aquele que apresenta maiores diferenças significativas entre exatidão e viés, de todos os métodos aplicados por esta autora.

As alterações que se observam no esqueleto são apenas um sumário da contínua adaptação do esqueleto ao stress biomecânico e a processos fisiológicos, que variam ao longo da vida dos indivíduos e entre indivíduos (Nawrocki, 2010; Mays, 2015). Por isso a correlação entre indicadores etários ósseos e idade cronológica vai ser indirecta. Alguns autores (Jackes, 2000; Nawrocki, 2010) sugerem que apenas 30-50% da variação observada nos indicadores etários advém da idade. Na presente amostra, a correlação entre os indicadores e a idade é moderada. A característica CF1 ( $r_s = 0,633$ ,  $p\text{-value} = 0,000$ ) apresenta o coeficiente de correlação mais elevado, já a característica TF3 ( $r_s = 0,443$ ,  $p\text{-value} = 0,000$ ) foi uma das que apresentou coeficiente de correlação mais baixo. Quando se observa a distribuição das categorias pelas várias classes etárias, no caso da característica CF1 verifica-se que há um incremento das categorias mais elevadas com o aumento da idade. O mesmo não se verifica na característica TF3, em que a categoria 2 é a mais frequente em quase todas as classes etárias. Sullivan obteve correlação fraca entre idade e as características morfológicas, a característica com maior grau de correlação foi a RH3 ( $r_s = 0,380$ ,  $p\text{-value} = 0,000$ ) e a TF1 é o traço que exhibe menor grau de correlação ( $r_s = 0,198$ ,  $p\text{-value} = 0,006$ ). Na presente amostra, tanto a RH3 como a TF1 são duas das características que exibem maior grau de correlação, com coeficientes de 0.505 e 0.596, respetivamente. Verificou-se ainda que os estádios que se situam nos extremos dos sistemas de classificação exibem coeficientes de correlação com a idade superiores do que os estádios intermédios; este padrão de correlação não é estatisticamente significativo para todas as características.

A correlação entre idade estimada e idade real também é moderada e o coeficiente de determinação ( $r^2 = 0,48$ ) sugere que aproximadamente 50% da variação observada se deve a outros factores e não apenas à idade. As alterações que se dão na face costal são dominadas pela ossificação da cartilagem costal. A 1ª cartilagem costal segue um padrão de ossificação

diferente das restantes. As quais, com exceção da 1ª cartilagem costal segue padrões de ossificação diferentes entre homens e mulheres (Semine e Damon; 1975; McCormick e Stewart, 1988). Alguns autores sugerem que o padrão da ossificação da cartilagem costal pode ser afetado por factores genéticos (Vastine e Vastine, 1946, *in* Scheuer e Black, 2000). Semine e Damon (1975) propuseram que diferenças na dieta podem afetar a ossificação da cartilagem costal. Num estudo com o intuito de investigar o padrão de ossificação da cartilagem costal em cinco populações, estes autores verificaram diferenças significativas no padrão de ossificação da 1ª cartilagem costal entre dois grupos étnicos, os Lau e os Baegu, que não diferiam geneticamente um do outro, apenas o modo de subsistência era diferente. A ossificação da 1ª cartilagem costal foi significamente maior entre os Lau do que os Baegu. Os primeiros eram agricultores com dieta rica em hidratos de carbono e pobre em proteína e lípidos, enquanto os segundos eram pescadores com dieta à base de recursos marinhos e sal rica em minerais. O que sugere, segundo estes autores, que o consumo de minerais poderá afetar a ossificação da cartilagem costal.

Stresse biomecânico extremo que afete a parte superior do tronco pode causar microfissuras na cartilagem estimulando a ossificação da mesma (Barchilon, et al., 1996) Patologias traumática, metabólica, infecciosa e neoplásica também podem influenciar o padrão de ossificação (Ontell, et al., 1997; Malghem, et al., 2001; Gleize, et al., 2007; Vieira Cesar et al, 1966, *in* Mays, 2015). A deficiência de vitamina D pode inibir a ossificação, enquanto a patologia traumática ou distúrbios da tiróide podem levar à ossificação prematura ou intensificação da mesma.

### **4.3. Teste de validação dos modelos preditivos**

Aos dados recolhidos foi aplicada outra metodologia estatística, proposta por Lucy e colaboradores (2002), que consiste em utilizar o Teorema de Bayes para estimar a idade à morte onde a probabilidade posterior é estimada pelo método do núcleo (Silverman, 1986; Wand e Jones, 1995). Com esta metodologia, criaram-se modelos preditivos em que se assumiu a independência condicional entre as variáveis (Modelo NDE) e em que se assumiu a dependência condicional entre variáveis (Modelo TAN, Modelo AODE e Modelo ATAN).

Com exceção do Modelo NDE, a percentagem de acertos manteve-se ou foi ligeiramente superior. Neste, apenas 77% dos indivíduos foram classificados corretamente; este modelo assume que as variáveis são independentes, contudo em contexto real isso raramente se verifica. O teste de dependência condicional com base na informação mútua condicionada mostrou-nos que os indicadores não são completamente independentes, então não considerar o efeito que podem ter uns nos outros pode levar a erros. Os restantes modelos, que consideram a dependência condicional entre indicadores, obtiveram percentagens de acertos entre 83%-89%; o Modelo AODE foi o que obteve maior percentagem.

Observou-se ligeira redução na amplitude dos intervalos; os intervalos são mais estreitos quando se assume a independência condicional entre as variáveis, a amplitude média é de, aproximadamente, 34 anos (5-62 anos). Os modelos preditivos também apresentam erro entre a idade estimada e idade real mais pequeno. O RMSE varia entre, aproximadamente, 16-18 anos, mais uma vez esse valor é menor quando se assume a independência condicional.

Comparando o desempenho geral desta abordagem com a de DiGangi e colaboradores (2009) vemos que esta melhorou ligeiramente a exatidão do método ao diminuir o erro, contudo a cobertura continua abaixo do nível nominal de 95% e a redução dos intervalos foi muito ténue.

## 5. Considerações finais

Um dos objetivos propostos consistia em avaliar o desempenho da metodologia proposta por DiGangi e colaboradores (2009) para estimar a idade à morte a partir das alterações morfológicas da 1ª costela. O método foi aplicado a uma amostra de 192 indivíduos. De forma geral, o método foi pouco exato, a idade estimada varia em média 22 anos da idade cronológica. Perto de 82% dos indivíduos foram inseridos no intervalo etário que continha a sua idade cronológica e até à 6ª década obteve-se 100% de cobertura. Contudo parte deste resultado pode dever-se à grande amplitude dos intervalos de credibilidade que variam entre os 28-58 anos.

Utilizando os dados recolhidos numa amostra de 226 indivíduos desenvolveram-se quatro modelos preditivos a partir da metodologia proposta por Lucy e colaboradores (2002). Esta abordagem melhorou a exatidão ao reduzir o erro entre idade estimada e idade real. De forma geral, o desempenho das duas metodologias é semelhante.

Até investigações adicionais, o método de DiGangi e colaboradores (2009) não é um bom método para a estimativa da idade de indivíduos adultos. De futuro, teria interesse avaliar a existência de dimorfismo sexual no processo de envelhecimento da 1ª costela bem como pesquisar os dados antemortem destes indivíduos que possam vir explicar as alterações verificadas também teria interesse. Também poderia ser útil rever os sistemas de classificação, tornando as descrições mais detalhadas de forma a refletir melhor a variabilidade biológica da 1ª costela. O que poderia permitir aumentar a concordância e tornar a aplicação do método menos subjetiva.



## 6. Referências bibliográficas

- Aeillo, L.; Dean, C. 1990. *An introduction to human evolutionary anatomy*. London, Academic Press.
- Aktas, E. O., Koçak, A., Aktas, S.; Yemisçigil, A. 2004. Intercostal variation for age estimation - Are the standard for the right 4th rib applicable for other ribs? *Collegium Antropologicum*, 28(2): 267-272.
- Almeida, M.; O'Brien, C. A. 2013. Basic biology of skeletal aging: Role of stress response pathways. *Journal of Gerontology: Biological Sciences*, 68(10): 1197-1208.
- Baccino, E.; Schmitt, A. 2006. Determination of adult age at death in the forensic context. In Schmitt, A.; Cunha, E.; Pinheiro, J. (eds) , *Forensic Anthropology and Medicine*. New Jersey, Human Press Inc: pp. 259-280
- Barchilon, V.; Hershkovitz, I.; Rothschild, B. M.; Wish-Baratz, S.; Latimer, B.; Jellema, L. M.; Hallel, T.; Arensburg, B. 1996. Factors affecting the rate and pattern of the first costal cartilage ossification. *The American Journal of Forensic Medicine and Pathology*, 17(3): 239-247.
- Bellemare, F.; Fuamba, T.; Bpurgeault, A. 2006. Sexual dimorphism of human ribs. *Respiratory Physiology & Neurobiology*, 150(2-3): 233-239.
- Bellemare, F.; Jeanneret, A.; Couture, J. 2003. Sex differences in thoracic dimensions and configuration. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 168(3): 305-312.
- Bhapkar, V. P. 1966. A note on the equivalence of two test criteria for hypotheses in categorical data. *Journal of the American Statistical Association*, 61(313): 228-235
- Bishop, Y. M., Fienberg, S. E.; Holland, P. W. 1975. *Discrete Multivariate Analysis - Theory and Applications*. New York, Springer.
- Bocquet-Appel, J. P.; Masset, C. 1985. Paleodemography: Resurrection or ghost? *Journal of Human Evolution*, 14: 107-111.
- Bocquet-Appel, J. P.; Masset, C. 1996. Paleodemography: Exenctancy and false hope. *American Journal of Physical Anthropology*, 99(4): 571-583.

- Bocquet-Appel, J.; Masset, C. 1982. Farewell to Paleodemography. *Journal of Human Evolution*, 11: 321-333.
- Boldsen, J. L., Milner, G., Konigsberg, L. W.; Wood, J. W. 2002. Transition analysis: A new method for estimating age from skeletons. In Hoppa, R. D.; Vaupel, J. W. (eds), *Paleodemography: Age distribution from skeletal samples*. Cambridge, Cambridge University Press: 73-106
- Boskey, A. L.; Coleman, R. 2010. Aging and bone. *Journal of Dental Research*, 89(12): 1333-1348.
- Buckberry, J. 2015. The (mis)use of adult age estimates in osteology. *Annals of Human Biology*, 42(4): 323-331.
- Busse, B.; Djonic, D.; Milovanovic, P.; Hahn, M.; Puschel, K.; Ritchie, R. O.; Djuric, M.; Amling, M. 2010. Decrease in the osteocyte lacunal density accompanied by hypermineralized lacunar occlusion reveals failure and delay of remodeling in aged human bone. *Aging Cell*, 9(6): 1065-1075.
- Chamberlain, A. 2006. *Demography in Archaeology*. Cambridge, Cambridge University Press.
- Chan, G. K.; Duque, G. 2002. Age-related bone loss: Old bone, new facts. *Gerontology*, 48(2): 62-71.
- Chow, C. K.; Liu, C. N. 1968. Approximating Discrete Probability Distributions with Dependence Trees. *IEEE Transactions on Information Theory*, 14(3): 462-467.
- Christensen, A. M.; Crowder, C. M. 2009. Evidentiary standards for Forensic Anthropology. *Journal of Forensic Sciences*, 54(6): 1211-1216.
- Cohen, J. 1968. Weighted kappa: Nominal scale agreement with provision for scaled disagreement or partial credit. *Psychological Bulletin*, 70(4), 213-220.
- Cohen, J. (1992). A power primer. *Psychological Bulletin*, 112(1): 155-159.
- Cover, T. M.; Thomas, J. A. 2006. *Elements of information theory*. 2<sup>a</sup> ed. New Jersey, Wiley-Interscience.



- Cox, M. 2000. Aging adults from the skeleton. In Cox, M.; Mays, S. (eds), *Human Osteology: In Archaeology and Forensic Science*. Cambridge, Cambridge University Press: 61-82
- Cunha, E.; Wasterlain, S. 2007. The Coimbra identified osteological collections. In Grupe, G.; Peters, J. (eds), *Skeletal series and their socio-economic context*. Rahden: Verlag Marie Leidorf: 23-33
- Cunha, E.; Baccino, E.; Martrille, L.; Ramsthaler, F.; Prieto, J.; Schuliar, Y.; Lynnerup, N.; Cattaneo, C. 2009. The problem of aging human remains and living individuals: A review. *Forensic Science International*, 193(1-3): 1-13.
- Cunha, E. 2012. A antropologia forense passo a passo. In: Gomes, A. (ed), *A enfermagem forense*. Lisboa, Lidel. Edições técnicas: 280-288.
- Dearden, L.; Bonucci, E.; Cuicchio, M. 1974. An investigation of ageing in human costal cartilage. *Cell and Tissue Research*, 152(3): 305-337.
- Dedouit, F.; Bindel, S.; Gainza, D.; Blanc, A.; Joffre, F.; Rougé, D.; Telmon, N. 2008. Application of the İşcan method to two- and three-dimension imaging of the sternal end of the righth fourth rib. *Journal of Forensic Sciences*, 53(2): 288-295.
- DiGangi, E. A.; 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(2): 164-176.
- Dirkmaat, D. C.; Cabo, L. L.; Ousley, S. D.; Symes, S. A. 2008. New perspectives in Forensic Anthropology. *Yearbook of Physical Anthropology*, 51: 33-52.
- Dontsov, V. I.; Krut'ko, V. N. 2015. Biological age as a method for systematic assessment od ontogenetic changes in the state of an organism. *Russian Journal of Developmental Biología*, 46(5): 246-253.
- Dudar, J. C.; Pfeiffer, S.; Saunders, S. R. 1993. Evaluation of the morphological and histological adult skeletal age-at-death estimation techniques using ribs. *Journal of Forensic Sciences*, 38(3): 677-685.
- Elrod, P. (2012). *The potencial of the angle of the first rib, head to tubercle, in sexing adult individuals in forensic contexts*. Master dissertation. University of Washington.

- Falys, C. G.; Lewis, M. E. 2011. Proposing a way forward: A review of standardisation in the use of age categories and ageing techniques in osteological analysis (2004-2009). *International Journal of Osteoarchaeology*, 21(6): 704-716.
- Faton, L.; Guntin, M.; Paultre, U.; Schrag, B.; Malicier, D. 2010. Critical study of observation of the sternal end of the right 4th rib. *Journal of Forensic Sciences*, 55(2): 467-472.
- Ferrante, L.; Cameriere, R. 2009. Statistical methods to assess the reliability of measurements in the procedures for forensic age estimation. *International Journal of Legal Medicine*, 123(4): 277-283.
- Ferreira, M. T.; Vicente, R.; Navega, D.; Gonçalves, D.; Curate, F.; Cunha, E. 2014. A new forensic collection housed at the University of Coimbra, Portugal: The 21st century identified skeletal collection. *Forensic Science International*, 245: 202.e1-202.e5.
- Field, A. (2013). *Discovering statistics using IBM SPSS Statistics*. 4<sup>a</sup> ed. London, Sage.
- Field, A.; Wright, D. B. 2006. A bluffer's guide to effect sizes. *Psychology Postgraduate Affairs Group Quarterly* 58: 9-23.
- Franklin, D. 2010. Forensic age estimation in human skeletal remains: Current concepts and future directions. *Legal Medicine*, 12(1): 1-7.
- Garvin, H. M.; Passalacqua, N. V. 2012. Current practices by Forensic Anthropologists in adult skeletal age estimation. *Journal of Forensic Sciences*, 57(2): 427-433.
- Getz, S. M. 2011. An investigation and critique of the DiGangi et al. (2009) age-at-death estimation method. *Proceedings of the American Academy of Forensic Sciences. 63rd Annual Scientific Meeting* . Denver, CO, Publication Printers: 350
- Gleize, Y.; Castex, D.; Duday, H. 2007. An excessive ossification of costal cartilage linked to a traumatic pathology. *Journal of Paleopathology*, 9(1-3): 47-56.
- Green, J.; Kleeman, C. 1991. Role of bone in regulation of systemic acid-base balance. *Kidney International*, 39(1): 9-26.
- Hartnett, K. M. 2010. Analysis of age-at-death estimation using data from a new, modern autopsy sample. Part II: Sternal end of the fourth rib. *Journal of Forensic Sciences*, 55(5): 1152-1153.

Hayflick, L. 1965. The limited in vitro lifetime of human diploid cell strains. *Experimental Cell Research*, 37: 614-636.

Hoppa, R. D.; Vaupel, J. W. 2002. The Rostock Manifesto for paleodemography: The way from stage to age. In Hoppa, R. D.; Vaupel, J. W (eds), *Paleodemography: Age distribution from skeletal samples*. Cambridge Cambridge University Press: 1-8

İşcan, M. Y.; Loth, S. R. 1986a. Determination of age from the sternal rib in white males: A test of the phase method (Resumo). *Journal of Forensic Sciences*, 31(1): 122-132.

İşcan, M. Y.; Loth, S. R. 1986b. Determination of age from the sternal rib in white females: A test of the phase method (Resumo). *Journal of Forensic Sciences*, 31(3): 990-999.

Iscan, M. Y.; Loth, S. R. 1989. Osteological manifestations of age in the adult. In M. Y. Iscan; K. A. Kennedy, *Reconstruction of life from the skeleton*. New York, Wiley-Liss: 23-52.

İşcan, M. Y.; Loth, S. R.; Wright, R. K. 1984a. Metamorphosis at the sternal rib end: A new method to estimate age at death in white males. *American Journal of Physical Anthropology*, 65(2): 147-156.

İşcan, M. Y.; Loth, S. R.; Wright, R. K. 1984b. Age estimation from the rib by phase analysis: White Males. *Journal of Forensic Sciences*, 29(4): 1094-1104.

İşcan, M. Y.; Loth, S. R.; Wright, R. K. 1985. Age estimation from the rib by phase analysis: White Females. *Journal of Forensic Sciences*, 30(3): 853-863.

Jackes, M. 2000. Building the bases for paleodemographic analysis: Adult age determination. In Kateznberg, M. A.; Saunders, S. R. (eds), *Biological Anthropology of the Human Skeleton*. New York: Wiley-Liss, Inc: 417-466.

Jiang, Y.; Mishima, H.; Sakai, S.; Liu, Y.; Ohyabu, Y.; Uemura, T. 2008. Gene expression analysis of major lineage-defining factors in human bone marrow cells: Effect of aging, gender, and age-related disorders. *Journal of Orthopaedic Research*, 26(7): 910-917.

Macaluso Jr, P. J.; Lucena, J. 2012. Test of a new components method for age-at-death estimation from the medial end of the fourth rib using a modern Spanish sample. *International Journal of Legal Medicine*, 126(5): 773-779.

- Justesen, J.; Stenderup, K.; Ebbesen, E. N.; Mosekilde, L.; Kassem, M. 2001. Adipocyte tissue volume in bone marrow is increased with aging and in patients with osteoporosis. *Biogerontology*, 2(3): 165-171.
- Kaptoge, S.; Dalzell, N.; Loveridge, N.; Beck, T. J., Khaw; K.-T.; Reeve, J. 2003. Effects of gender, antropometric variables, and aging on the evolution of hip strength in men and women aged over 65. *Bone*, 32(5); 561-570.
- Kampen, W. U.; Claassen, H.; Kirsch, T. 1995. Mineralization and osteogenesis in the human first rib cartilage. *Annals of Anatomy*, 177(2): 171-177.
- Kerley, E. R. 1970. Estimation of skeletal age: After age 30. In T. D. Stewart, *Personal identification in mass disasters*. Washington DC National Museum of Natural History: 57-70
- Kimmerle, E. H.; Prince, D. A.; Berg, G. E. 2008). Inter-observer variation in methodologies involving the pubic symphysis, sternal ribs and teeth. *Journal of Forensic Sciences*, 53(3): 594-600.
- Kini, U.; Nandeesh, B. N. 2012. Physiology of bone formation, remodeling, and metabolism. In I. Fogelman, G. Gnansegaran; H. v. Wall, *Radionuclide and hybrid bone imaging*. London, Springer: 29-57.
- Konigsberg, L. W.; Frankenberg, S. R. 1994. Paleodemography: "Not quite dead". *Evolutionary Anthropology*, 3(3): 92-105.
- Kullback, S. 1978. *Information theory and statistics*. New York, Dover Publications.
- Kunos, C. A.; Simpson, S. W.; Russel, K. F.; Hershkovitz, I. 1999. First rib metamorphosis: Its possible utility for human age-at-death estimation. *American Journal of Physical Anthropology*, 110(3): 303-323.
- Kurki, H. (2005). Use of the first rib for adult age estimation: A test of one method. *International Journal of Osteoarcheology*, 15(5), 345-350.
- Landis, J. R.; Koch, G. G. 1977. The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics*, 33(1): 159-174.
- Loth, S. R. 1995. Age assessment of the Spitalfields Cemetery population by rib phase analysis. *American Journal of human Biology*, 7(4): 465-471.

- Loth, S. R.; İşcan, M. Y. 2000. Morphological age estimation. In J. Siegel, G. Knupfer, & P. Saukko, *Encyclopedia of Forensic Sciences*. London, Academic Press: 242-252.
- Loth, S. R.; İşcan, M. Y.; Scheuerman, E. H. 1994. Intercostal variation at the sternal end of the rib. *Forensic Science International*, 65(2): 135-143.
- Lovejoy, C. O.; Meindl, R. S.; Prysbeck, T. R. 1985. 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.; Aykroyd, R. G.; Pollard, A. M. 2002. Non-parametric calibration for age estimation. *Applied Statistics*, 52(2): 185-196.
- Mackie, E. J. 2003. Osteoblasts: novel roles in orchestration of skeletal architecture. *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, 35(9): 1301-1305.
- Malghem, J.; Berg, B. C.; Lecouvet, F. E.; Maldague, B. E. 2001. Costal cartilage fractures as revealed on CT and sonography. *American Journal of Roentgenology*, 176(2): 429-432.
- Manolagas, S. C. 2000. Birth and death of bone cells: Basic regulatory mechanisms and implications for the pathogenesis and treatment of osteoporosis. *Endocrine Reviews*, 21(2): 115-137.
- Marie, P. J. 2014. Bone cell senescence: Mechanism and perspectives. *Journal of Bone and Mineral Research*, 29(6): 1311-1321.
- Marie, P. J.; Kassem, M. 2011. Extrinsic mechanisms involved in age-related bone formation. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 96(3): 600-609.
- Martins, R.; Oliveira, P. E.; Schmitt, A. 2012. Estimation of age at death from the pubic symphysis and the auricular surface of the ilium using a smoothing procedure. *Forensic Science International*, 219(1-3): 287.e1-287.e7.
- Mays, S. 2015. The effect of factors other than age upon age indicators in the adult. *Annals of Human Biology*, 42(4): 1-10.
- McCormick, W. F.; Stewart, J. H. 1988. Age related changes in the human plastron: A roentgenographic and morphologic study. *Journal of Forensic Sciences*, 33(1): 100-120.

- Meena, M. C.; Rani, Y.; Rani, M. 2012. Bilateral metamorphological variation at sternal end of fourth rib. *Eurasia Journal of Anthropology*, 3(2): 41-46.
- Merritt, C.E. 2013. Testing the accuracy of adult skeletal age estimation methods: original methods versus revised and newer methods. *Explorations in Anthropology*, 12(1): 102-119.
- Merritt, C. E. 2014a. A test of Hartnett's revision to the pubic symphysis and fourth rib methods on a modern sample. *Journal of Forensic Sciences*, 59(3): 703-711.
- Merritt, C. E. 2014b. *The influence of body size on adult skeletal age estimation methods* Doctoral thesis, University of Toronto.
- Milner, G. R.; Wood, J. W.; Boldsen, J. L. 2008. Advances in Paleodemography. In M. A. Katzenberg; S. R. Saunders, *Biological Anthropology of the Human Skeleton* (pp.). New Jersey, Wiley-Liss: 561-600.
- Moskovitch, G., Dedouit, F., Braga, J., Rougé, D., Rousseau, H.; Telmon, N. 2010. Multislice computed tomography of the first rib: A useful technique for bone age assessment. *Journal of Forensic Sciences*, 55(4): 865-870.
- Mullender, M. G.; Meer, D. D.; Huiskes, R.; Lips, P. 1996. Osteocyte density changes in aging and osteoporosis. *Bone*, 18(2): 109-113.
- Nawrocki, S. P. 2010. The nature and sources of error in the estimation of age at death from the skeleton. In K. E. Latham; M. Finnegan, *Age estimation of the human skeleton*. Springfield, Charles C. Thomas Publisher: 79-101.
- Nikita, E. 2013. Quantitative assessment of the sternal rib end morphology and implications for its application in aging human remains. *Journal of Forensic Sciences*, 58(2): 324-329.
- Ontell, F. K.; Moore, E. H.; Shepard, J.-A. O.; Shelton, D. K. 1997. The costal cartilages in health and disease. *Radiographics*, 17(3): 571-577.
- Pavón, M. V.; Cucina, A.; Tiesler, V. 2010. New formulas to estimate age at death in Maya populations using histomorphological changes in the fourth human rib. *Journal of Forensic Sciences*, 55(2): 473-477.
- Pestana, M. H.; Gageiro, J. N. 2000. *Análise de dados para ciências sociais - A complementaridade do SPSS*. 2ª ed. Lisboa, Edições Sílabo.

- Pignolo, R. J.; Suda, R. K.; McMillan, E. A.; Shen, J., Lee, S. H., Choi, Y.; Wrigth, A. C.; Johnson, F. B. 2008. Defects in telomere maintenance molecules impair osteoblast differentiation and promote osteoporosis. *Aging Cell*, 7(1): 23-31.
- Pina, J. A. 1995. *Anatomia humana da locomoção*. Coimbra, LIDEL - Edições Técnicas.
- Pittenger, M. F.; Mackay, A. M.; Beck, S. C.; Jaiswal, R. K.; Douglas, R.; Mosca, J. D.; Moorman, M. A; Simonetti, D. W. 1999. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science*, 284(5411): 143-147.
- Poczo, B.; Schneider, J. 2012. Nonparametric estimation of conditional information and divergences. *Journal of Machine Learning Research: Workshop and Conference Proceedings*, 22: 914-923.
- Qiu, S.; Rao, D. S.; Palnitkar, S.; Parfitt, A. M. 2002. Age and distance from the surface but not menopause reduce osteocyte density in human cancellous bone. *Bone*, 31(2): 313-318.
- Rafaeilzadeh, P.; Tang, L.; Liu, H. 2009. Cross-validation. In L. Liu; M. T. Ozs, *Encyclopedia of Database Systems*. Springer: 532-538
- Ritz-Timme, R.; Cattaneo, C.; Collins, M. J.; Waite, E. R.; Schutz, H. W.; Kaatsch, H. -J.; Borrman, H. I. M. 2000. Age estimation: The state of the art in relation to the specific demands of forensic practice. *International Journal of Legal Medicine*, 113(3): 129-136.
- Rose, M. R. 1991. *Evolutionary biology of aging*. Oxford, Oxford University Press.
- Russel, K. F.; Simpson, S. W.; Genovese, K.; Kinkel, M. D.; Meindl, R. S.; Lovejoy, C. O. 1993. Independent test of the fourth rib aging technique. *American Journal of Physical Anthropology*, 92(1): 53-62.
- Saeed, H.; Abdallan, B. M.; Ditzel, N.; Catala-Lehnen, P.; Qiu, Q.; Amling, M.; Kassem, M. 2011. Telomerase-deficient mice exhibit bone loss owing to defects in osteoblasts and increased osteoclastogenesis by inflammatory microenvironment. *Journal of Bone and Mineral Research*, 26(7): 1494-1505.
- Scheuer, L.; Black, S. 2000. *Developmental Juvenile Osteology*. London, Academic Press.
- Schmitt, A.; Murail, P. 2004. Is the first rib a reliable indicator of age at death assessment? Test of the method development by Kunos et al (1999). *Homo*, 54(3): 207-214.

- Sedlin, E. D.; Frost, H. M.; Villanueva, A. R. 1963. Variations in cross-section area of rib cortex with age. *Journal of Gerontology*, 18(1): 9-13.
- Semine, A. A.; Damon, A. 1975. Costochondral ossification and aging in five populations. *Human Biology*, 47(1): 101-116.
- Shi, S.; Gronthos, S.; Chen, S.; Reddi, A.; Counter, C. M.; Robey, P. G.; Wang, C. Y. 2002. Bone formation by human postnatal bone marrow stromal cells is enhanced by telomerase expression. *Nature Biotechnology*, 20(6): 587-591.
- Silverman, B. B. 1986. *Density Estimation for Statistics and Data Analysis*. London: Chapman e Hall.
- Simonsen, J. L.; Rosada, C.; Serakinci, N.; Justesen, J.; Stenderup, K.; Rattan, S. I.; Jesen, T. G; Kassem, M. 2002. Telomerase expression extends the proliferative life-span and maintains the osteogenic potecial of human bone marrow stromal cells. *Nature Biotechnology*, 20(6): 592-596.
- Stenderup, K.; Justese, J.; Claisen, C.; Kassem, M. 2003. Aging is associated with decreased maximal life span and accelerated senescence of bone marrow stromal cells. *Bone*, 33(6): 919-926.
- Sullivan, Z. A. 2012. *Use of teh first rib in the age-at-death assessment of adult female skeletal remains*. Master dissertation, Western Washington University.
- R Development Core Team. 2013. R: A language and environment for statistical computing. R Foudation for statistical computing. Vienna, Austria: <http://www.R-project.org>.
- Usher, B. M. 2002. Reference samples: The first step in linking biology and age in the human skeleton. In R. D. Hoppa; J. W. Vaupel, *Paleodemography: Age distribution from skeletal samples*. Cambridge, Cambridge University Press: 29-47.
- Verma, S.; Rajaratnam, J. H.; Denton, J.; Hoyland, J. A.; Byers, R. J. 2002. Adipocytic proportion of bone marrow is inversely related to bone formation in osteoporosis. *Journal of Clinical Pathology*, 55(9): 693-698.



- Verzeletti, A.; Cassina, M.; Micheli, L.; Conti, A.; Ferrari, F. D. 2010. Age estimation from the rib by components method analysis in white males. *The American Journal of Forensic Medicine and Pathology*, 31(1): 27-33.
- Verzeletti, A.; Terlisio, M.; Ferrari, F. D. 2013. Age-at-death estimation in Caucasian females from the morphological analysis of the sternal end of the fourth rib. *Legal Medicine*, 15(1): 47-49.
- Wand, M. P.; Jones, M. C. 1995. *Kernel Smoothing*. New York, Springer.
- Warmlander, S. K.; Sholts, S. B. 2011. Sampling and statistical consideration for the Suchey-Brooks method for pubic bone age estimation: Implication for regional comparison. *Science and Justice*, 51(3): 131-134.
- Webb, G. I.; Boughton, J. R.; Wang, Z. 2005. Not so naive Bayes: Aggregating one-dependence estimators. *Machine Learning*, 58(1): 5-24.
- Yoder, C.; Ubelaker, D. H.; Powel, J. F. 2001. Examination of variation in sternal rib end morphology relevant to age assessment. *Journal of Forensic Sciences*, 42(2): 223-227.
- Youden, W. J. 1998. *Experimentation and Measurement*. Mineola, Dover Publications, Inc.
- Zheng, F.; Webb, G. I. 2011. Semi-naive Bayesian Learning. In C. Sammut, & G. I. Webb, *Encyclopedia of Machine Learning*. New York, Springer: 889-892.
- Zheng, F.; Webb, G. I. 2011. Tree Augmented Naive Bayes. In C. Sammut, & G. I. Webb, *Encyclopedia of Machine Learning*. New York, Springer: 990-991.
- Zhou, S.; Greenberger, J. S.; Epperly, M. W.; Goff, J. P.; Adler, C.; LeBoff, M. S.; Glowacki, J. 2008. Age-related intrinsic changes in human bone-marrow-derived mesenchymal stem and their differentiation to osteoblasts. *Aging Cell*, 7(3): 335-343.