

**Assessment of mineralization and developmental stage of homologues mandibular first and second molars using panoramic radiographs and Demirjian's method in 5 to 12 years old children**

**Abstract**

**Background:** Assessment of dental developmental stage is more valuable than tooth eruption because the duration of tooth eruption is short and is determined by the appearance of tooth in the oral cavity. Among the different methods that could be used to determine the developmental stage of teeth, the Demirjian's method has been extensively applied.

**Methods:** This retrospective study selected 300 panoramic radiographs of 5 to 12-year-old Iranians obtained from Radiology Department of Hormozgan University of Medical Sciences from 2019 to 2020. The developmental stage of homologous mandibular first and second molars teeth were scored based on Demirjian's stages.

**Results:** Significant difference was noted in developmental stage of first and second molars in right and left side among different age groups. According to the results, there was not a significant difference in developmental stage of first molars in right and left side between two genders while the difference in this regard between the mandibular right and left second molars between two genders was significant. Moreover, there was a significant difference in development of molars between four distributed age groups for each gender.

**Conclusion:** According to the findings of this study, evolution of mandibular first and second molar is not an appropriate indicator for gender segregation in children under 12 years old, but it can be used in ages estimation. Therefore, it can be concluded that gender is an impactful factor on the growth process of the second molar on the left and right in this age group.

**Keywords:** Mineralization, Homologous teeth; Demirjian's Method; Panoramic Radiographs

Aria Shamsi 1

Sara Esmaili 2

Gelareh Haghi Ashtiani<sup>3\*</sup>

Nasim Mokhtari 4

Samira Mahmudi 5

1 Dentist, Dental School, Hormozgan University of Medical Sciences, Bandar Abbas, Iran.

2 Assistant Professor, Department of Paediatric Dentistry, Dental School, Hormozgan University of Medical Sciences, Bandar Abbas, Iran.

3 Doctoral Researcher, Institute of Dentistry, Barts School of Medicine and Dentistry, Queen Mary University of London

4 Assistant Professor of Oral and Maxillofacial Radiology, Hormozgan University of Medical Sciences, Bandar Abbas, Iran.

5 Statistical Advisor, Dental School, Hormozgan University of Medical Sciences, Bandar Abbas, Iran.

**How to cite this article:**

Shamsi A, Esmaili S, Haghi Ashtiani G, Mokhtari N, Mahmudi S. Assessment of mineralization and developmental stage of homologues mandibular first and second molars using panoramic radiographs and Demirjian's method in 5 to 12 years old children. Iran J Pediatr Dent. 2022;17 (2): 55-76

Registration date: 2022/06/21

Acceptance date: 2022/08/22

## چکیده

آریا شمسی 1	<b>مقدمه:</b> ارزیابی مراحل تکامل دندان از رویش دندان ارزشمند تر است زیرا مدت زمان رویش دندان کوتاه تر است و بر اساس زمان ظهور دندان در حفره دهان تعیین می شود. در میان روشهای مختلفی که میتوان برای تعیین تکامل دندان‌ها استفاده کرد، روش دمیرجیان به طور گسترده مورد استفاده قرار گرفته است.
سارا اسماعیلی 2	<b>روش کار:</b> در این مطالعه گذشته نگر، تعداد ۳۰۰ رادیوگرافی پانورامیک از کودکان ۵ تا ۱۲ ساله مراجعه کننده به دانشگاه علوم پزشکی هرمزگان از سال ۱۳۹۸ تا ۱۳۹۹ انتخاب شدند. برای ارزیابی تکامل دندان‌های همولوگ مولر اول و دوم فک پایین از روش دمیرجیان استفاده شد.
گلاره حق آشتیانی* 3	<b>نتایج:</b> تفاوت معنا داری در مرحله رشد دندان‌های مولر اول و دوم سمت راست و چپ در بین گروه های سنی مختلف مشاهده شد. بر اساس نتایج، در مرحله رشد دندان‌های مولر اول سمت راست و چپ بین دو جنس تفاوت معناداری وجود نداشت. در حالی که تفاوت از این نظر بین دندان‌های مولر دوم سمت راست و چپ فک پایین بین دو جنس معنادار بود. همچنین تفاوت معنا داری در تکامل مولرها بین چهار گروه سنی توزیع شده برای هر جنس وجود داشت.
نسیم مختاری 4	<b>نتیجه گیری:</b> با توجه به یافته‌های این مطالعه، تکامل دندان‌های مولر اول و دوم فک پایین شاخص مناسبی برای تفکیک جنسیتی در کودکان زیر ۱۲ سال نیست، اما می‌توان از آن در تخمین سنی استفاده کرد. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که جنسیت عاملی تأثیرگذار بر روند رشد مولر دوم چپ و راست در این گروه سنی است.
سمیرا محمودی 5	<b>واژه‌های کلیدی:</b> تخمین سن، مرحله تکاملی، دندان‌های همولوگ، رادیوگرافی پانورامیک، مولر دائمی
1. دندانپزشک، دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی هرمزگان، بندر عباس، ایران	
2. استادیار بخش کودکان، دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی هرمزگان، بندر عباس، ایران	
*3. دکترای پژوهشی دندانپزشکی کودکان، دانشکده پزشکی و دندانپزشکی بارتس، دانشگاه کوپین مری، لندن، انگلستان	
4. استادیار بخش رادیولوژی فک و صورت، دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی هرمزگان، بندر عباس، ایران	
5. مشاور آماری، دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی هرمزگان، بندر عباس، ایران	

تکامل دندان در بسیاری از رشته ها از جمله باستان شناسی، دندان پزشکی اطفال و ارتودسی برای تخمین سن استفاده می شود (۱).  
تکامل دندانی یک پروسه تدریجی و پیش رونده است که در اثر برهم کنش میان فاکتور های ژنتیکی، اپی ژنتیکی و محیطی در طول زمان تعیین می گردد (۲). اگرچه تفاوت های جغرافیایی در آب و هوا، فاکتور های فیزیکی مانند دما، در معرض اشعه خورشید قرار گرفتن و رطوبت باعث ایجاد تفاوت در رشد و همچنین تکامل دندان در میان جمعیت های مختلف شده است (۳-۶).

روش های متفاوتی برای بررسی تکامل دندان گزارش شده است (۷، ۸، ۲).

اکثر این روش ها بر اساس مقایسه رادیوگرافیک رشد دندان با منحنی های استاندارد است (۷-۹).

تخمین سن دندانی در کودکان دقیق تر است زیرا دندان های آنها هنوز در حال رشد است در حالی که در بزرگسالان به شدت به عوامل محیطی وابسته است (۱۰).

در سال ۱۹۷۳ دمیرجیان یک روش ارزیابی سن دندانی را مبتنی بر مراحل تکامل دندان در رادیوگرافی های پانورامیک معرفی کرد که بر پایه مطالعه روی جمعیت بزرگی از کودکان فرانسوی-کانادایی بود (۸).

در این روش تکامل هفت دندان دائمی چپ فک پایین در رادیوگرافی پانورامیک ارزیابی شده و به ۸ مرحله A تا H طبقه بندی می شود (۱۱). روش دمیرجیان به طور گسترده مورد استفاده قرار گرفته است و متداولترین روش برای تخمین سن دندانی به شمار می آید (۸، ۱۲).

از مزایای روش دمیرجیان این است که روش نسبتاً ساده ای است که شامل شناسایی مرحله مینرالیزاسیون به کمک تصاویر رادیوگرافی و سپس مقایسه آنها با مرحله استاندارد می باشد. مطالعات بر روی جوامع دیگرالگوهایی با تکامل زودهنگام و یا تاخیر دندان را ثبت کرده است. بسیاری از نویسندگان اعتبار روش دمیرجیان و استانداردهای مخصوص جمعیت برای تخمین سن را بررسی کرده اند (۷-۱۳).

با توجه به موارد فوق، این مطالعه با هدف بررسی تفاوت مراحل رشد دندان های مولر اول و دوم همولوگ فک پایین در کودکان ۵ تا ۱۲ ساله ایرانی انجام شده است. در اکثر مطالعات از روش دمیرجیان برای مقایسه سن دندانی و سن تقویمی استفاده می شود. تعداد مطالعاتی که زمان مینرالیزاسیون و مراحل رشد دندان های همولوگ را مقایسه می کنند، کم است. بنابراین، مطالعات بیشتری در این زمینه مورد نیاز است. ارزیابی ها در مطالعه حاضر بر روی رادیوگرافی پانورامیک انجام شد.  
فرضیه اولیه این بود که تفاوت معناداری در مراحل رشد دندان های همولوگ وجود ندارد.

## مواد و روش ها

### جمع آوری داده ها

در این مطالعه گذشته‌نگر، ۳۰۰ رادیوگرافی پانورامیک از کودکان ۵ تا ۱۲ ساله که در بخش رادیولوژی دانشگاه علوم پزشکی هرمزگان از اسفند ۱۳۹۷ تا فروردین ۱۳۹۹ بر اساس دستورالعمل‌های اخلاقی تهیه شده بود، انتخاب شدند.

تصاویر پانورامیک با کمک دستگاه

CRANEX D extra-oral dental x-ray unit (Helsinki, Finland) و به وسیله یک نفر متخصص رادیولوژی فک و صورت

تهیه شده و تمامی تصاویر به وسیله نرم افزار Scanora lite در فرمت DICOM ذخیره شد.

معیارهای ورود به نمونه بر اساس گروهی از بیماران ساکن بندرعباس با سن تقویمی ۵ تا ۱۲ سال، بدون هیچ گونه اختلال دندانی خاص مانند دیسپلازی یا هیپوپلازی عاج و مینا، از دست دادن دندان، سابقه شکستگی و ضایعات فک بود. محتوای تحقیق شامل اطلاعات شخصی بیمار نمی باشد. همچنین رضایت آگاهانه از والدین اخذ شد و قبل از انجام و شرکت در تحقیق، مطالعه در کمیته اخلاق دانشگاه تایید شد.

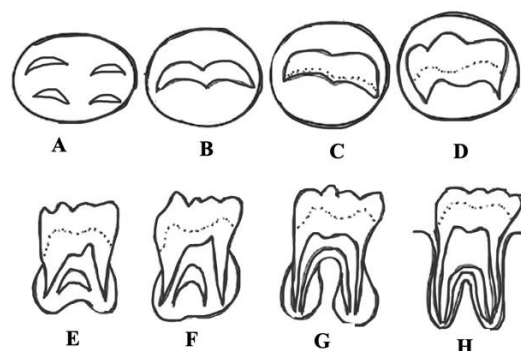
### بررسی رادیوگرافی ها

Scanora Lite

تمام رادیوگرافی های پانورامیک بر روی مانیتور مشاهده و با استفاده از نرم افزار

مورد مطالعه قرار گرفتند. هر رادیوگرافی پانورامیک به گونه‌ای کدگذاری شد که ناظران از هویت و جنسیت بیماران بی اطلاع باشند. دو ناظر از روش دمیرجیان برای ارزیابی تکامل دندان استفاده کردند. این دو ناظر دانشجوی دندانپزشکی بوده که توسط دو رادیولوژیست فک و صورت، نحوه استفاده از روش دمیرجیان را آموزش دیده بودند.

تکامل دندان ها بر اساس روش دمیرجیان از مرحله A تا H طبقه بندی شد. مرحله رشد مولر اول و دوم سمت راست و چپ فک پایین بر این اساس تعیین و ثبت شد.



شکل ۱. نمایش روش دمیرجیان - هشت مرحله تکامل دندان از مینرالیزاسون اولیه تا تکمیل ریشه (A-H)

## تکرارپذیری

به منظور کالیبراسیون مشاهده‌کنندگان، بیست درصد از رادیوگرافی‌های پانورامیک (۶۰ پانورامیک) به صورت رندوم با استفاده از اعداد رندوم انتخاب و در مطالعه مقدماتی (پایلوت) مورد ارزیابی قرار گرفتند.

ضریب توافق بین ناظر (inter-observer reliability) ۸۳.۰ به دست آمد. اختلاف نظرها با بحث برطرف و ضریب توافق به یک رسید. تمام رادیوگرافی‌های پانورامیک دو بار به فاصله زمانی یک ماهه برای کاهش خستگی ارزیابی شدند. سپس ضریب توافق بین و درون آزمونگر (inter- and intra-examiner reliability) محاسبه شد.

## تحلیل داده ها

داده های به دست آمده با استفاده از نرم افزار SPSS (SPSS Inc., Chicago, IL) نسخه 22 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

ضریب کاپا برای تعیین توافق درون و بین ناظر (inter- and intra-examiner reliability) محاسبه شد.

برای مقایسه بین مولر اول و دومست راست و چپ فک پایین از آزمون ویلکاکسون (Wilcoxon signed Rank test)

استفاده شد. همچنین از آزمون Chi Square برای ارزیابی همبستگی بین مراحل تکامل و گروه های سنی براساس جنسیت استفاده شد.

## نتایج

تعداد ۳۰۰ رادیوگرافی پانورامیک که متعلق به کودکان ۵ تا ۱۲ سال (۱۶۰ مذکر و ۱۴۰ مونث) مورد بررسی قرار گرفت (میانگین سنی=۸.۳۸؛ انحراف معیار=۱.۹۹).

نحوه توزیع جنسیت و سن نمونه مورد مطالعه در جدول ۱ خلاصه شده است.

جدول ۱. توزیع نمونه بر اساس سن و جنس

		تعداد	درصد
جنسیت	مذکر	۱۶۰	۳٪.۵۳
	مونث	۱۴۰	۶٪.۴۷
سن	پنج تا شش	۶۴	۳٪.۲۱
	هفت تا هشت	۹۷	۳٪.۳۲
	نه تا ده	۸۸	۹٪.۲۰
	یازده تا دوازده	۵۱	۱٪.۱۷

نحوه توزیع مولر اول و دوم از نظر فراوانی و درصد در جدول ۲ خلاصه شده است.

جدول ۲. توزیع دندان های مولر اول و دوم فک پایین

مراحل تکامل دندان	مولر اول سمت راست		مولر اول سمت چپ		مولر دوم سمت راست		مولر دوم سمت چپ	
	فراوانی	درصد	فراوانی	درصد	فراوانی	درصد	فراوانی	درصد
A	۰	۰٪	۰	۰٪	۱۴	۷٪.۴	۱۱	۷٪.۳
B	۰	۰٪	۰	۰٪	۳۰	۱٪.۱۰	۲۶	۸٪.۸
C	۰	۰٪	۰	۰٪	۶۳	۱٪.۲۱	۷۱	۹٪.۲۳
D	۷	۳٪.۲	۷	۳٪.۲	۹۶	۲٪.۳۲	۹۵	۳۲٪
E	۶۲	۷٪.۲۰	۶۳	۲۱٪	۷۵	۲٪.۲۵	۷۴	۹٪.۲۴
F	۵۷	۱۹٪	۵۶	۷٪.۱۸	۱۵	۵٪	۱۵	۵٪
G	۱۰۰	۳٪.۳۳	۹۷	۳٪.۳۲	۳	۱٪	۳	۱٪
H	۷۴	۷٪.۲۴	۷۷	۷٪.۲۴	۲	۷٪.۰	۲	۷٪.۰

با استفاده از آزمون (Wilcoxon signed Rank test) ، از ۳۰۰ مولر اول، ۲۹۶ (۶٪.۹۸) در یک مرحله تکامل

بودند. تنها یک مولر اول در سمت راست یک مرحله جلوتر از مولرهای اول سمت چپ (۳٪.۰) و ۳ مولر اول در سمت راست یک مرحله عقب تر از مولرهای اول سمت چپ (۱٪) قرار داشتند. همان طور که در جدول ۳ خلاصه شده است، تفاوت معناداری بین مولرهای اول سمت راست و چپ وجود نداشت و تقریباً در یک مرحله تکامل قرار داشتند.

$$(P=0.625)$$

P-value	H		G		F		E		D		مولر اول چپ مولر اول راست
	درصد	فراوانی	درصد	فراوانی	درصد	فراوانی	درصد	فراوانی	درصد	فراوانی	
۰.۶۲۵	۰٪	۰	۰٪	۰	۰٪	۰	۰٪	۰	۳٪.۲	۷	D
	۰٪	۰	۰٪	۰	۰٪	۰	۷٪.۲۰	۶۲	۰٪	۰	E
	۰٪	۰	۰٪	۰	۷٪.۱۸	۵۶	۳٪.۰	۱	۰٪	۰	F
	۱٪	۳	۳٪.۳۲	۹۷	۰٪	۰	۰٪	۰	۰٪	۰	G
	۷٪.۲۴	۷۴	۰٪	۰	۰٪	۰	۰٪	۰	۰٪	۰	H

جدول ۳. فراوانی و درصد توافق در مرحله رشد مولر اول راست و چپ

بر اساس نتایج، از ۳۰۰ مولر دوم، ۲۸۴ (۶۶٪.۹۴) در یک مرحله تکامل بودند. شش مولر دوم در سمت راست یک مرحله جلوتر از مولرهای دوم سمت چپ (۲٪) و ده مولر دوم در سمت راست یک مرحله عقب تر از مولرهای دوم سمت چپ (۳٪.۳) قرار داشتند.

همان طور که در جدول ۴ خلاصه شده است، تفاوت معناداری بین مولرهای دوم سمت راست و چپ وجود نداشت.

$$(P=0.454)$$

جدول ۴. فراوانی و درصد توافق در مرحله رشد مولر دوم راست و چپ

P-value	H		G		F		E		D		C		B		A		مولر اول چپ
	درصد	فراوانی	درصد	فراوانی	درصد	فراوانی	درصد	فراوانی	درصد	فراوانی	درصد	فراوانی	درصد	فراوانی	درصد	فراوانی	مولر اول راست
0.454	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	3%.0	1	3%.0	1	7%.3	11	A
	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	4%.2	7	7%.7	23	0%	0	B
	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	21%	63	7%.0	2	0%	0	C
	0%	0	0%	0	0%	0	3%.0	1	3%.31	93	7%.0	2	0%	0	0%	0	D
	0%	0	0%	0	0%	0	6%.24	73	7%.0	2	0%	0	0%	0	0%	0	E
	0%	0	0%	0	1%.5	15	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	F
	0%	0	0%.1	3	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	G
	1%	3	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	H

تعیین فراوانی مراحل تکامل مولر اول و دوم همولوگ بر اساس سن

با توجه به نتایج آزمون Chi Square ( $\text{Chi-Square} = 400.003, P < 0.001$ ) تفاوت معناداری در مرحله تکامل مولر اول راست و مولر

اول چپ ( $\text{Chi-Square} = 410.146, P < 0.001$ ) وجود داشت. همچنین تفاوت معناداری در تکامل مولر دوم راست ( $\text{Chi-Square} = 398.070, P < 0.001$ )

و چپ ( $\text{Chi-Square} = 381.010, P < 0.001$ ) بین گروه های سنی وجود داشت.

تعیین فراوانی مراحل تکامل مولر اول و دوم همولوگ بر اساس جنسیت

، با توجه به نتایج آزمون Chi Square تفاوت معناداری در مرحله تکامل مولر اول راست ( $\text{Chi-Square} = 9.191, P = 0.057$ )

و همچنین مولر اول چپ ( $\text{Chi-Square} = 8.140, P = 0.087$ ) بین دو جنس وجود نداشت. در حالیکه تفاوت معناداری در تکامل

مولر دوم راست ( $\text{Chi-Square} = 16.098, P = 0.024$ ) و چپ ( $\text{Chi-Square} = 16.493, P = 0.021$ ) بین دو جنس وجود داشت.

تعیین فراوانی مراحل تکامل مولر اول و دوم همولوگ بر اساس چهار گروه سنی و جنسیت

با توجه به نتایج آزمون Chi Square در مرحله تکامل مولر اول راست ( $\text{Chi-Square} = 416.517, P < 0.001$ ) و مولر اول چپ

( $\text{Chi-Square} = 405.199, P < 0.001$ ) تفاوت معناداری بین چهار گروه سنی و جنسیت وجود داشت. همچنین تفاوت معناداری در

مرحله تکامل مولر دوم راست ( $\text{Chi-Square} = 449.731, P < 0.001$ ) و مولر دوم چپ ( $\text{Chi-Square} = 430.373, P < 0.001$ )

بین چهار گروه سنی و جنسیت وجود داشت.

## بحث

بلوغ و تکامل اسکلتی را می توان با استفاده از شاخص های بیولوژیکی مانند قد، وزن، سن، تکامل دندان، مهره های گردنی و استخوان های انگشت و مچ تعیین کرد که رادیوگرافی انگشتان دست و مچ دست بهترین و قابل اطمینان ترین شاخص بیولوژیکی است (18 و 19) با این حال، این روش به دوز بالاتری از اشعه برای تهیه رادیوگرافی مچ دست نیاز دارد. همچنین هزینه اضافه تری را به بیمار تحمیل می کند. بر این اساس، محققان به طور مداوم در تلاش هستند تا راه ایمن تر و قابل اطمینان تری برای تعیین بلوغ و تکامل اسکلتی بیماران ارائه دهند. یکی از این روش ها تعیین تکامل مولر فک پایین در رادیوگرافی پانورامیک بیماران است. تکامل دندان ها به طور گسترده برای ارزیابی رشد و تخمین سن استفاده می شود. روش های متعددی برای ارزیابی تکامل دندان در دسترس است و روش دمیرجیان از ساده ترین و کاربردی ترین روش ها برای این منظور است که صحت و اعتبار آن در نژاد ایرانی تایید شده است (20، 24).

بسیاری از محققان از این روش برای ارزیابی تکامل دندانی در جمعیت های مختلف استفاده کرده اند و تفاوت های قابل توجهی را در

تکامل دندانی نژادهای مختلف گزارش کرده اند. در یک مطالعه مروری Priyadarshini

و همکاران روش های مختلف ارزیابی سن دندانی را با هم مقایسه کردند و گزارش دادند که روش دمیرجیان کارآمدترین و ساده ترین روش برای این منظور بوده و در سراسر جهان پذیرفته شده است. این روش را می توان به طور قابل اعتمادی استاندارد کرد و از قابلیت اطمینان درون و بین آزمونگر (intra- and inter-examiner reliability)

خوبی برخوردار است (25). این روش بر اساس ارزیابی دندان های فک پایین به کمک رادیوگرافی پانورامیک بوده، زیرا این دندان ها در رادیوگرافی اعوجاج کمتری دارند. در مطالعه ای که توسط جوادی نژاد و همکاران در سال ۲۰۰۸ در مورد تخمین سن دندانی با استفاده از رادیوگرافی پانورامیک و روش دمیرجیان انجام شد، دقت این روش برای تخمین سن تقویمی کودکان شهر اصفهان مورد بررسی قرار گرفت. مقایسه سن تقویمی و سن تخمینی تفاوت آماری معنی داری نشان نداد. بنابراین، آنها به این نتیجه رسیدند که روش دمیرجیان از دقت بالایی برای تخمین سن در کودکان برخوردار است و می توان از این روش برای تعیین سن به ویژه در پزشکی قانونی استفاده کرد (24).

در سال ۲۰۱۱ باقریان و همکاران دقت روش دمیرجیان و تفاوت تکامل دندانی کودکان ایرانی و کانادایی را ارزیابی کردند. با توجه به

تفاوت سن تخمینی دندانی با سن تقویمی، به نظر می رسد روش دمیرجیان از نظر بالینی برای جمعیت ایرانی قابل اجرا باشد (۲۳)

در سال ۲۰۱۳ Almeida و همکاران ارتباط بین مینرالیزاسون مولر دوم و سن تقویمی را در جمعیت برزیل بررسی کردند. بر اساس یافته های آنها، تکامل دندانی در زنان زودتر از مردان رخ می دهد و تفاوت معنا داری بین مولر دوم دائمی راست و چپ وجود ندارد (26) همچنین Fins و همکاران در سال ۲۰۱۷ نشان دادند که در جمعیت پرتغال، مراحل تکامل دندان مولر دوم دائمی در زنان

زودتر از مردان رخ می دهد (27) به طور مشابه، Duangto



و همکاران در سال ۲۰۲ به این نتیجه رسیدند که زمان تکامل مولر دوم دائمی فک پایین در زنان زودتر از مردان در جمعیت تایلندی رخ می دهد (۲۸).

بنابراین، این مطالعه با هدف بررسی مرحله تکامل دندانهای مولر اول و دوم همولوگ فک پایین در کودکان ۵ تا ۱۲ ساله به روش دمیجیان انجام شد. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که تفاوت مرحله تکامل دندانهای مولر اول فک پایین در سمت راست و چپ بین دو جنس معنادار نبود، اما دندانهای مولر دوم سمت راست و چپ از نظر مینرالیزاسیون و مرحله تکامل تفاوت معناداری داشتند. در بین دو جنس مذکر و مونث نتایج ما در مورد دندانهای مولر دوم فک پایین مشابه مطالعات قبلی (26-28) است اما برخلاف مطالعه ضرابیان و همکاران در سال ۲۰۱۸ می باشد. آنها نشان دادند که تفاوت معناداری در مرحله تکامل دندانهای مولر دوم فک پایین در سمت راست و چپ نیست (29).

یافته های ما نشان داد که در مرحله تکامل دندانهای مولر اول و دوم در سمت راست و چپ در گروه های سنی مختلف تفاوت معنا داری وجود دارد. به منظور مقایسه مراحل تکامل دندانهای همولوگ با استفاده از رادیوگرافی پانورامیک، عکسبرداری با اشعه ایکس باید در زمانی که دندانها در حال مینرالیزاسون هستند، گرفته شود. اولین مولرهای دائمی در هنگام تولد شروع به مینرالیزاسون شدن می کنند و تاج در حدود سه سالگی کامل می شود (8) با این حال، قرار دادن کودکان خردسال در معرض پرتوهای رونتگن، بدون ملاحظات فردی، از نظر اخلاقی قابل قبول نیست (30) همانطور که توسط sahlstrand و همکاران در سال ۲۰۱۳ و ضرابیان و همکاران در سال ۲۰۱۸ بحث شد، به دلیل مسائل اخلاقی نمی توان از کودکان در مراحل اولیه تکامل مولرهای اول رادیوگرافی پانورامیک گرفت و این از محدودیت های مطالعه ما نیز بود (29,30) بنابراین، رادیوگرافی پانورامیک موجود از کودکان ۵ تا ۱۲ ساله که برای اهداف دیگر درخواست شده بودند، انتخاب شدند. در گروه سنی منتخب ما، فقط مرحله تکامل مولر اول و دوم مورد ارزیابی قرار گرفت. یکی دیگر از محدودیت های مطالعه انتخاب نمونه از رادیوگرافی های محدود به گروه رادیولوژی فک و صورت دانشگاه علوم پزشکی بندرعباس بود. نمونه برداری از جمعیت های مختلف ممکن است نتایج متفاوتی به همراه داشته باشد.

## نتیجه گیری

نتیجه گیری به دست آمده از این مطالعه این بود که در گروه سنی ۵ تا ۶ سال رشد دندان مولر دوم راست دیرتر از سمت چپ بوده و بین مراحل رشد در هر دو طرف تفاوت معنا داری وجود دارد. اما زمانی که گروه سنی ۵ تا ۶ سال بر اساس جنسیت از هم جدا شدند، تفاوتی در تکامل مولر دوم راست و چپ در هر گروه مشاهده نشد.

بنابراین به این نتیجه رسیدیم که جنسیت عاملی تاثیرگذار بر روند تکامل دندان مولر دوم چپ و راست در این گروه سنی است. مطالعات آینده برای ارزیابی تفاوت در مراحل تکامل دندان ها در سمت راست و چپ با استفاده از روش هایی غیر از روش دمیرجیان مورد نیاز است. همچنین، برای به دست آوردن نتایج قابل اعتمادتر، مطالعات بیشتری با حجم نمونه های بزرگتر و از جمعیت های مختلف مورد نیاز است.

## References:

1. Bagić IČ, Sever N, Brkić H, Kern J. Dental age estimation in children using orthopantomograms. *Acta Stomatologica Croatica*. 2008;42(1):11-18.
2. Dhamo B, Kragt L, Grgic O, Vucic S, Medina-Gomez C, Rivadeneira F, et al. Ancestry and dental development: a geographic and genetic perspective. *Am J Phys Anthropol*. 2018;165(2):299-308.
3. Baker PT. Human biological variation as an adaptive response to the environment. *Eugen Q*. 1966;13(2):81-91.
4. Tobias PV. Anthropometry among Disadvantaged Peoples: Studies in Southern Africa in Biosocial Interrelations in Population Adaptation. *World Anthropology Paris*. 1975:287-305.
5. Smithers J, Smit B. Human adaptation to climatic variability and change. *Glob Environ Change*. 1997;7(2):129-46.
6. Roberts D. Climate and human variability, Cummings. Menlo Park, CA. 1978.
7. Moorrees CF, Fanning EA, Hunt Jr EE. Age variation of formation stages for ten permanent teeth. *J Dent Res*. 1963;42(6):1490-502.
8. Demirjian A, Goldstein H, Tanner JM. A new system of dental age assessment. *Hum Biol*. 1973:211-27.
9. AlQahtani SJ, Hector MP, Liversidge HM. Brief communication: the London atlas of human tooth development and eruption. *Am J Phys Anthropol*. 2010;142(3):481-90.
10. White TD, Black MT, Folkens PA. Human osteology: Academic press; 2011.
11. Frucht S, Schnegelsberg C, Schulte-Mönting J, Rose E, Jonas I. Dental Age in Southwest Germany A Radiographic Study. *J Orofac Orthop* 2000;61(5):318-29.
12. Demirjian A, Goldstein H. New systems for dental maturity based on seven and four teeth. *Ann Hum Biol*. 1976;3(5):411-21.
13. Esan TA, Yengopal V, Schepartz LA. The Demirjian versus the Willems method for dental age estimation in different populations: A meta-analysis of published studies. *PLoS One*. 2017;12(11):e0186682.
14. Chaillet N, Nyström M, Demirjian A. Comparison of dental maturity in children of different ethnic origins: international maturity curves for clinicians. *J Forensic Sci*. 2005 Sep;50(5):1164-74.
15. Baghdadi ZD, Pani SC. Accuracy of population-specific Demirjian curves in the estimation of dental age of Saudi children. *Int J Paediatr Dent*. 2012;22(2):125-31.
16. Celikoglu M, Cantekin K, Ceylan I. Dental age assessment: the applicability of Demirjian method in eastern Turkish children. *J Forensic Sci*. 2011;56: S220-S2.
17. Lee S-S, Kim D, Lee S, Lee U-Y, Seo JS, Ahn YW, et al. Validity of Demirjian's and modified Demirjian's methods in age estimation for Korean juveniles and adolescents. *Forensic Sci Int*. 2011;211(1-3):41-6.
18. Román PS, Palma JC, Oteo MD, Nevado E. Skeletal maturation determined by cervical vertebrae development. *Eur J Orthod*. 2002;24(3):303-11.
19. Imanimoghadam M, Heravi F, Khalaji M, Esmaily H. Evaluation of the correlation of different methods in determining skeletal maturation utilizing cervical vertebrae in lateral cephalogram. *J Mashhad Dent Sch*. 2008;32(2):95-102.

20. Pourtaji B, Nasiri A. Evaluation of relationship between chronological age and calcification stages of mandibular third molars in patients referring to a dento maxillofacial radiology centre in Zanjan. *J Adv Med Biomed Res.* 2017;25(111):104-14.
21. Sheykhi M, Ghodoosi A, Ghadipasha M, Safaiyan M. Radiographic survey of third molars development in relation to chronological age in Iranian population. *J Kerman Univ Med Sci* 2007;14(3):195-202.
22. Rai B, Kaur J, Jafarzadeh H. Dental age estimation from the developmental stage of the third molars in Iranian population. *J Forensic Leg Med.* 2010;17(6):309-11.
23. Bagherian A, Sadeghi M. Assessment of dental maturity of children aged 3.5 to 13.5 years using the Demirjian method in an Iranian population. *J Oral Sci.* 2011 Mar;53(1):37-42.
24. Javadinejhad S, Ghodousi A, Baharlouei M. Accuracy of age estimation from orthopantomograph using Demirjian's method. *Ir J Forensic Med.* 2008;14(3):137-42.
25. Priyadarshini C, Puranik MP, Uma S. Dental age estimation methods-A review: *Int J Adv Health Sci;* 2015;1(12):19-25
26. Almeida MS, Pontual Ados A, Beltrão RT, Beltrão RV, Pontual ML. The chronology of second molar development in Brazilians and its application to forensic age estimation. *Imaging Sci Dent.* 2013;43(1):1-6.
27. Fins P, Pereira ML, Afonso A, Pérez-Mongiovi D, Caldas IM. Chronology of mineralization of the permanent mandibular second molar teeth and forensic age estimation. *Forensic Sci Med Pathol.* 2017;13(3):272-7.
28. Duangto P, Janhom A, Iamaroon A. Age estimation using permanent mandibular second molar teeth in a Thai population. *Aust J Forensic Sci.* 2020;53:557 - 65.
29. Haghi AG, GHONCHEH Z. Difference in Developmental Stage of Homologous Mandibular Second and Third Molars in Seven to 11 Year Olds Using Panoramic Radiography and Demirjian's Method. *Iran J Pediatr Dent.* 2019; 14(1):55-66
30. Sahlstrand P, Lith A, Hakeberg M, Norén JG. Timing of mineralization of homologues permanent teeth—an evaluation of the dental maturation in panoramic radiographs. *Swed Dent J.* 2013;37(3):111-9.

## Introduction

Tooth development is used for age estimation in many disciplines including anthropology, archaeology, paediatric dentistry and orthodontics (1). Dental development is a gradual and progressive process led by the interaction between genetic, epigenetic, and environmental factors over time (2). However, geographical differences in climate and the related physical factors such as temperature, sun exposure and humidity have caused diversity in growth as well as dental development among populations (3-6). Several methods are used to determine the stage of development of teeth (2, 7, 8). Most of these methods are based on radiographic comparison of tooth development with standard curves (7-9). Dental age estimation is more accurate in children because their teeth are still developing while in adults, it is extremely dependent on environmental factors (10). In 1973, Demirjian introduced a method for assessment of dental age based on developmental stage of teeth on panoramic radiographs of a large population of French-Canadian children (8). In this method, development of seven permanent teeth in the mandibular left quadrant is evaluated on panoramic radiographs and is classified into eight stages from A to H (11). This method is accepted worldwide and is the most common method for estimating dental age (8, 12). The advantages of Demirjian method is that it is relatively a simple method which involves the identification of the stage of mineralization on radiographic images followed by their comparison with the standard stage. Studies on other societies, recorded patterns of comparatively advanced or delayed dental development. Many authors have investigated the validity of the Demirjian's method and population-specific standards for age estimation (13-17).

Considering all the above, this study aimed to assess the difference in developmental stage of the homologous mandibular first and second molars in 5 to 12-year olds Iranian children. In most studies, Demirjian method is used to compare the dental age and chronological age of patients. Number of studies comparing the mineralization time and developmental stages of homologous teeth are scarce; thus, further studies are required in this respect. Assessments in our study were made on panoramic radiographs. The null hypothesis was that no significant difference exists in the developmental stages of homologous teeth.

## Materials and Methods

### Data collection

This retrospective study selected 300 panoramic radiographs of 5 to 12-year-old Iranians obtained from Radiology Department of Hormozgan University of Medical Sciences from March 2019 to April 2020 according to ethical guidelines. Panoramic radiographs were taken using Cranex D extra-oral dental X-ray unit (Helsinki, Finland) by an oral and maxillofacial radiologist. All images were saved in DICOM format using Scanora Lite software.

Inclusion criteria for the sample was based on group of patients living in Bandar Abbas with chronological age between 5 to 12 years, without any specific dental disorders such as dysplasia or dentin and enamel hypoplasia, missing tooth, history of jaw fractures and lesions.

The research content does not involve patient privacy, so informed consent was obtained from the parents and the study was approved in the ethics committee of the university before undergoing imaging examinations and participating in the study.

### Scoring of the radiographs

All panoramic radiographs were viewed on a monitor and studied using Scanora Lite software. Each panoramic radiograph was coded so that the observers were blinded to the identity and gender of patients.

Two observers used the Demirjian's method for assessment of tooth development. The two observers were senior dental students instructed on how to use the Demirjian's method by two oral and maxillofacial radiologists. The developmental stage of teeth was classified from A to H according to the Demirjian's method (Figure1). Developmental stage of mandibular left and right first and second molars was determined accordingly and recorded in a spreadsheet.

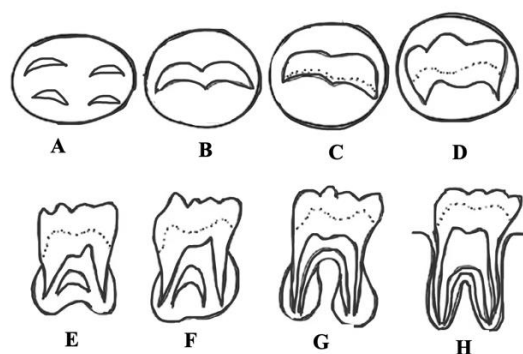


Figure 1. Representation of Demirjian method-The eight stages (A-H) of tooth development from initial mineralization to root completion

## Reproducibility

For the purpose of calibration of observers, twenty percent of the panoramic radiographs (60 OPGs) were randomly chosen using electronically generated random numbers and evaluated in a pilot study. The inter-observer reliability was obtained to be 0.83. The disagreements were resolved by discussion and the coefficient of agreement became 1. All panoramic radiographs were evaluated twice with a one-month interval (to decrease fatigue). The inter- and intra-examiner reliability were then calculated.

## Data Analysis

The obtained data was analysed using SPSS version 22 (SPSS Inc., Chicago, IL). Kappa coefficient was calculated to determine the intra- and inter-observer agreement. Wilcoxon signed Rank test was used for comparison between the left and right sides of the mandible. Moreover, Chi Square test was employed to evaluate the correlation between the developmental stages and age groups divided by gender.

## Results

300 panoramic radiographs (OPGs) belonging to individuals (160 males and 140 females) aged between 5 and 12 years (mean age = 8.38 years; standard deviation [SD] = 1.99) were analysed.

The distribution of gender and age of the study sample were summarized in table 1.

Table 1. Distribution of the sample by age and biological sex

		Number	Percentage
Sex	Male	160	53.3%
	Female	140	46.7%
Age	5 to 6	64	21.3%
	7 to 8	97	32.3%
	9 to 10	88	20.9%
	11 to 12	51	17.1%

The distribution of first and second molars in terms of frequency and percentages are summarized in table 2.

Table 2. Distribution of first and second molars

Tooth developmental stage	Right side first molar		Left side first molar		Right side second molar		Left side second molar	
	Frequency	Percentage	Frequency	Percentage	Frequency	Percentage	Frequency	Percentage
A	0	0%	0	0%	14	4.7%	11	3.7%
B	0	0%	0	0%	30	10.1%	26	8.8%
C	0	0%	0	0%	63	21.1%	71	23.9%
D	7	2.3%	7	2.3%	96	32.2%	95	32%
E	62	20.7%	63	21%	75	25.2%	74	24.9%
F	57	19%	56	18.7%	15	5%	15	5%
G	100	33.3%	97	32.3%	3	1%	3	1%
H	74	24.7%	77	24.7%	2	0.7%	2	0.7%

Using Wilcoxon signed rank test, out of 300 first molars, 296 (98.6%) were in the same developmental stage; only one first molar (0.3%) in the right side was one stage ahead of those in the left side, and 3 (1%) first molars in the right side were one stage behind of those in the left side. The difference between the first molars in the right and left sides was not significant and they were almost in the same developmental stage ( $P=0.625$ ) as summarized in Table 3.



Table 3. Frequency and percentage of agreement in the developmental stage of right and left first molars

Left side first molars \ Right side first molars	D		E		F		G		H		P-value
	Frequency	Percentage	Frequency	Percentage	Frequency	Percentage	Frequency	Percentage	Frequency	Percentage	
D	7	2.3%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0.625
E	0	0%	62	20.7%	0	0%	0	0%	0	0%	
F	0	0%	1	0.3%	56	18.7%	0	0%	0	0%	
G	0	0%	0	0%	0	0%	97	32.3%	3	1%	
H	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	74	24.7%	

Based on the results, out of 300 second molars, 284 (94.66%) were in the same developmental stage; 6 second molars (2%) in the right side were one stage ahead of those in the left side, and 10 (3.3%) second molars in the right side were one stage behind of those in the left side. The difference between the second molars in the right and left sides was not significant ( $P=0.454$ ) Table 4.

Table 4. Frequency and percentage of agreement in the developmental stage of the right and left second molars

Left side second molars \ Right side second molars		A	B	C	D	E	F	G	H
A	Frequency	11	0	0	0	0	0	0	0
	Percentage	3.7%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%
B	Frequency	1	23	2	0	0	0	0	0
	Percentage	0.3%	7.7%	0.7%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%
C	Frequency	1	7	63	2	0	0	0	0
	Percentage	0.3%	2.4%	21%	0.7%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%
D	Frequency	0	0	0	93	2	0	0	0
	Percentage	0.0%	0.0%	0.0%	31.3%	0.7%	0.0%	0.0%	0.0%
E	Frequency	0	0	0	1	73	0	0	0
	Percentage	0.0%	0.0%	0.0%	0.3%	24.6%	0.0%	0.0%	0.0%
F	Frequency	0	0	0	0	0	15	0	0
	Percentage	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	5.1%	0.0%	0.0%
G	Frequency	0	0	0	0	0	0	3	0
	Percentage	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	1.0%	0.0%
H	Frequency	0	0	0	0	0	0	0	3
	Percentage	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	1.0%
P-value		0.454							



### **Determining the frequency of developmental stages of the first and second homologous molars based on the age**

According to the results of chi-square test, there was a significant difference in developmental stage of right (Chi-Square = 410.146,  $P < 0.001$ ) and left first molars (Chi-Square = 400.003,  $P < 0.001$ ) between the age groups. Moreover, there was a significant difference in development of second right (Chi-Square = 398.070,  $P < 0.001$ ) and left (Chi-Square = 381.030,  $P < 0.001$ ) molars between the age groups.

### **Determining the frequency of developmental stages of the first and second homologous molars based on gender**

According to the results of chi-square test, there was not a significant difference in developmental stage of right first molars between two genders (Chi-Square = 9.191,  $P = 0.057$ ) as well as left first molars between two genders (Chi-Square = 8.140,  $P = 0.087$ ). However, this difference was significant among right second molars between two genders (Chi-Square = 16.098,  $P = 0.024$ ). Moreover, there was a significant difference in developmental stage of left second molars among males and females (Chi-Square = 16.493,  $P = 0.021$ ).

### **Determining the frequency of developmental stages of the first and second homologous molars based on the four distributed age groups for each gender (total 8 groups)**

According to the results of chi-square test, there is a significant difference in development of first right (Chi-Square = 416.517,  $P < 0.001$ ) and left molars (Chi-Square = 405.199,  $P < 0.001$ ) between the four distributed age group and gender. Moreover, there is a significant difference in development of right (Chi-Square = 449.731,  $P < 0.001$ ) and left (Chi-Square = 430.373,  $P < 0.001$ ) second molars between the four distributed age group and gender.

### **Discussion**

Skeletal maturity can be determined by using biological indicators such as height, weight, age, dental development, cervical vertebrae and finger and wrist bones, of which radiography of the fingers and wrist is the best and most reliable biological indicator (18, 19). However, this procedure requires a higher dose of radiation to prepare the wrist radiograph. Also, it imposes an additional cost on the patient. Accordingly, researchers are constantly striving to provide a safer and more reliable way to determine patients' skeletal

maturity. One of these methods is to determine the evolution of mandible molar in panoramic radiography of patients. Development of teeth is extensively used for assessment of growth and age estimation. Several methods are available for assessment of tooth development and the Demirjian's method is among the simplest and most practical methods for this purpose, which accuracy and validity have been confirmed in the Iranian race (20-24). Many researchers have used this method for assessment of dental development in different populations and have reported significant differences in dental development of different races. In a review study, Priyadarshini et al. compared different methods for assessment of dental age and reported that the Demirjian's method was the most efficient and simplest method for this purpose and is widely accepted worldwide. This method can be reliably standardized and has good intra- and inter-examiner reliability (25). This method is based on the assessment of mandibular teeth on panoramic radiographs since these teeth have less distortion on radiographs. In a study by Javadynejad et al, in 2008 on dental age estimation using panoramic radiography and Demirjian's method, the accuracy of this method for estimation of chronological age of children in Isfahan was assessed. Comparison of chronological age and estimated age did not show a statistically significant difference. Thus, they concluded that the Demirjian's method has high accuracy for estimation of age in children and this method can be used for determination of age especially in forensic medicine (24). In 2011, Bagherian et al. evaluated the accuracy of the Demirjian's method and difference in dental maturity of Iranian and Canadian children. According to the difference between the estimated dental age and the chronological age, it seems that the Demirjian's method is clinically applicable to the Iranian population (23).

Almeida et al. 2013 investigated the correlation between the mineralization of the second molars and the chronological age on Brazilian population. According to their findings, the dental development occurred earlier in females than in males, and there was no significant difference between the right and left second permanent molars (26). Also, Fins et al. 2017 found that the developmental stages of the permanent second molar was reached earlier in females than in males based on Portuguese population (27). Similarly, Duangto

et al. 2020 discovered that the developmental timing of permanent mandibular second molar in females was earlier than in males on Thai population (28).

Thus, this study aimed to assess the developmental stage of homologous mandibular first and second molars in 5 to 12-year olds using the Demirjian's method. The results of the current study showed that the difference in developmental stage of mandibular first molars was not significant in the right and left sides between two genders, but the second molars of the right and left sides were significantly different in terms of mineralization and developmental stage among females and males. Our results regarding the mandibular second molars are similar to those of previous studies (26-28) and in contrast with Zarabian et al, in 2018 who showed that the difference in developmental stage of mandibular second molars in the right and left side was not significant (29). Our findings showed there was a significant difference in the developmental stage of the first and second molars in the right and left side among different age groups. In order to compare the tooth development stages of homologues teeth using panoramic radiographs, the x-rays should have been taken during the time when teeth are under mineralization. The first permanent molars start to mineralize around birth and the crown is completed around three years of age (8). However, exposing young children to roentgen radiation, without individual indications, is not ethically acceptable (30). As discussed by Sahlstrand et al in 2013 and Zarabian et al in 2018, due to ethical issues panoramic radiographs cannot be taken of children in early stages of development of their first molars and this was a limitation of our study as well (29, 30). Therefore, existing panoramic radiographs of children from 5 to 12 years old, requested for other purposes were selected. In our selected age group, we could only assess the developmental stage of first and second molars. Another limitation of our study was selection of samples from a limited population presented to the Oral and Maxillofacial Radiology Department of Bandar Abbas University of Medical Sciences. Sampling from different populations may yield different results.

## Conclusion

A conclusion obtained from this study was that in the age group of 5 to 6 years, the development of the right second molar is later than the left side and there is a significant difference between the developmental stages

in both sides. However, when the age group of 5 to 6 years were separated by gender, no difference was observed in development of right and left second molars within individual group.

Therefore, we concluded that gender is an impactful factor on the growth process of the second molar on the left and right in this age group. Future studies are required to assess the difference in the developmental stages of teeth in the right and left sides using methods other than the Demirjian's method. Also, further studies on larger sample sizes selected from different populations are required to obtain more reliable results.

## **Declarations**

### **Ethics approval and consent to participates**

All the radiographs used for this study were retrieved from the archive according to ethical guidelines. All methods were carried out in accordance with relevant guidelines and regulations. Also, informed consent was obtained from the parents and the study was approved in the ethics committee of the Hormozgan University of Medical Sciences. All data were anonymised.

### **Consent for publication**

Not applicable

### **Availability of data and materials**

The datasets generated and/or analysed during the current study are available and can be requested from the corresponding author.

### **Acknowledgements**

The authors would like to thank the Research Deputy of Hormozgan University of Medical Sciences.

## References:

1. Bagić IČ, Sever N, Brkić H, Kern J. Dental age estimation in children using orthopantomograms. *Acta Stomatologica Croatica*. 2008;42(1):11-18.
2. Dhamo B, Kragt L, Grgic O, Vucic S, Medina-Gomez C, Rivadeneira F, et al. Ancestry and dental development: a geographic and genetic perspective. *Am J Phys Anthropol*. 2018;165(2):299-308.
3. Baker PT. Human biological variation as an adaptive response to the environment. *Eugen Q*. 1966;13(2):81-91.
4. Tobias PV. Anthropometry among Disadvantaged Peoples: Studies in Southern Africa in Biosocial Interrelations in Population Adaptation. *World Anthropology Paris*. 1975:287-305.
5. Smithers J, Smit B. Human adaptation to climatic variability and change. *Glob Environ Change*. 1997;7(2):129-46.
6. Roberts D. Climate and human variability, Cummings. Menlo Park, CA. 1978.
7. Moorrees CF, Fanning EA, Hunt Jr EE. Age variation of formation stages for ten permanent teeth. *J Dent Res*. 1963;42(6):1490-502.
8. Demirjian A, Goldstein H, Tanner JM. A new system of dental age assessment. *Hum Biol*. 1973:211-27.
9. AlQahtani SJ, Hector MP, Liversidge HM. Brief communication: the London atlas of human tooth development and eruption. *Am J Phys Anthropol*. 2010;142(3):481-90.
10. White TD, Black MT, Folkens PA. Human osteology: Academic press; 2011.
11. Frucht S, Schnegelsberg C, Schulte-Mönting J, Rose E, Jonas I. Dental Age in Southwest Germany A Radiographic Study. *J Orofac Orthop* 2000;61(5):318-29.
12. Demirjian A, Goldstein H. New systems for dental maturity based on seven and four teeth. *Ann Hum Biol*. 1976;3(5):411-21.
13. Esan TA, Yengopal V, Schepartz LA. The Demirjian versus the Willems method for dental age estimation in different populations: A meta-analysis of published studies. *PLoS One*. 2017;12(11):e0186682.
14. Chaillet N, Nyström M, Demirjian A. Comparison of dental maturity in children of different ethnic origins: international maturity curves for clinicians. *J Forensic Sci*. 2005 Sep;50(5):1164-74.
15. Baghdadi ZD, Pani SC. Accuracy of population-specific Demirjian curves in the estimation of dental age of Saudi children. *Int J Paediatr Dent*. 2012;22(2):125-31.
16. Celikoglu M, Cantekin K, Ceylan I. Dental age assessment: the applicability of Demirjian method in eastern Turkish children. *J Forensic Sci*. 2011;56: S220-S2.
17. Lee S-S, Kim D, Lee S, Lee U-Y, Seo JS, Ahn YW, et al. Validity of Demirjian's and modified Demirjian's methods in age estimation for Korean juveniles and adolescents. *Forensic Sci Int*. 2011;211(1-3):41-6.
18. Román PS, Palma JC, Oteo MD, Nevado E. Skeletal maturation determined by cervical vertebrae development. *Eur J Orthod*. 2002;24(3):303-11.
19. Imanimoghadam M, Heravi F, Khalaji M, Esmaily H. Evaluation of the correlation of different methods in determining skeletal maturation utilizing cervical vertebrae in lateral cephalogram. *J Mashhad Dent Sch*. 2008;32(2):95-102.
20. Pourtaji B, Nasiri A. Evaluation of relationship between chronological age and calcification stages of mandibular third molars in patients referring to a dento maxillofacial radiology centre in Zanjan. *J Adv Med Biomed Res*. 2017;25(111):104-14.

21. Sheykhi M, Ghodoosi A, Ghadipasha M, Safaiyan M. Radiographic survey of third molars development in relation to chronological age in Iranian population. *J Kerman Univ Med Sci* 2007;14(3):195-202.
22. Rai B, Kaur J, Jafarzadeh H. Dental age estimation from the developmental stage of the third molars in Iranian population. *J Forensic Leg Med*. 2010;17(6):309-11.
23. Bagherian A, Sadeghi M. Assessment of dental maturity of children aged 3.5 to 13.5 years using the Demirjian method in an Iranian population. *J Oral Sci*. 2011 Mar;53(1):37-42.
24. Javadinejhad S, Ghodousi A, Baharlouei M. Accuracy of age estimation from orthopantomograph using Demirjian's method. *Ir J Forensic Med*. 2008;14(3):137-42.
25. Priyadarshini C, Puranik MP, Uma S. Dental age estimation methods-A review: *Int J Adv Health Sci*; 2015;1(12):19-25
26. Almeida MS, Pontual Ados A, Beltrão RT, Beltrão RV, Pontual ML. The chronology of second molar development in Brazilians and its application to forensic age estimation. *Imaging Sci Dent*. 2013;43(1):1-6.
27. Fins P, Pereira ML, Afonso A, Pérez-Mongiovi D, Caldas IM. Chronology of mineralization of the permanent mandibular second molar teeth and forensic age estimation. *Forensic Sci Med Pathol*. 2017;13(3):272-7.
28. Duangto P, Janhom A, Iamaroon A. Age estimation using permanent mandibular second molar teeth in a Thai population. *Aust J Forensic Sci*. 2020;53:557 - 65.
29. Haghi AG, GHONCHEH Z. Difference in Developmental Stage of Homologous Mandibular Second and Third Molars in Seven to 11 Year Olds Using Panoramic Radiography and Demirjian's Method. *Iran J Pediatr Dent*. 2019; 14(1):55-66
30. Sahlstrand P, Lith A, Hakeberg M, Norén JG. Timing of mineralization of homologues permanent teeth—an evaluation of the dental maturation in panoramic radiographs. *Swed Dent J*. 2013;37(3):111-9.

