
ADN y Odontología Forense: una eficaz interacción para la identificación humana

Briem Stamm AD^{1,2}, Carriego MT¹, Nicolotti ME³, Wirz LN³

¹Unidad Académica "Odontología Legal con Historia de la Odontología".
Facultad de Odontología, Universidad de Buenos Aires.

²Sección Odontología Legal y Forense, División Medicina Forense, Dirección de
Criminalística y Estudios Forenses, Gendarmería Nacional Argentina

³División Identificación por ADN, Dirección de Criminalística y Estudios Forenses, Gendarmería Nacional Argentina

Recibido: 15/03/2017

Aceptado: 23/05/2017

RESUMEN

La comparación de registros odontológicos es utilizada para la identificación en situaciones con gran destrucción o exposición prolongada al medio ambiente como incendios, severos traumas y/o desastres masivos, de los tejidos del cuerpo humano, donde otros métodos no resultan suficientes. Los dientes desempeñan un importante rol en el establecimiento de la identidad inequívoca en virtud de sus características de unicidad y elevada resistencia física y química. Se conoce la injerencia de los métodos de análisis de ADN en el contexto forense. El uso de los perfiles de ADN en odontología forense representa una alternativa válida en la identificación humana, al contener el material genético, propiedades distintivas para cada individuo. Los exámenes de ADN actualmente disponibles resultan de alta fiabilidad y se aceptan como pruebas legales en los tribunales. El presente artículo expone una revisión sobre la evolución de las técnicas de biología molecular y su interacción con los tejidos dentales, destacando su interés en los casos de investigación forense.

Palabras clave: Identificación humana; Perfiles de ADN; Odontología Forense; Diente

ABSTRACT

The comparison of dental records is used for identification in situations with great destruction or prolonged exposure to the environment such as fires, severe trauma and / or massive disasters, from the tissues of the human body, where other methods are not sufficient. Teeth play an important role in establishing an unequivocal identity by virtue of its characteristics of uniqueness and high physical and chemical resistance. The influence of DNA analysis methods in the forensic context is known. The use of DNA profiles in forensic dentistry represents a valid alternative in human identification, since genetic material contains distinctive properties for each individual. Currently available DNA tests are highly reliable and accepted as legal evidence in court. This article presents a review on the evolution of molecular biology techniques and their interaction with dental tissues, highlighting their interest in forensic investigation cases.

Keywords: Human Identification; DNA Profile; Forensic Odontology; Teeth

INTRODUCCIÓN

Se ha hecho referencia a la importancia de las técnicas inherentes a la odontología forense en la identificación humana, hecho particularmente destacado cuando se dispone de escasa información para efectuar el reconocimiento a través de las huellas dactilares y/o la inspección visual como ocurre en cuerpos con avanzado estado de descomposición, carbonizados o esqueletizados, víctimas de desastres masivos, incendios o explosiones, lo que ha erigido a los odontólogos en partícipes de los equipos interdisciplinarios de identificación, interactuando habitualmente con los genetistas forenses. Tradicionalmente la metodología desarrollada por los odontólogos forenses se sustenta en el cotejo de la información ante mortem (AM)

recuperada de las víctimas con aquellos datos post mortem (PM) resultantes de la autopsia médico legal (James, 2005). Si los datos ante mortem no están disponibles la identificación categórica se vuelve difícil, pudiendo aportar los perfiles de ADN información decisiva. A tal efecto, se puede realizar una correspondencia del ADN extraído de los dientes de un individuo no identificado con aquellas muestras de ADN de la víctima aportadas a través de muestras indirectas como sangre almacenada, cepillo de dientes, cepillo para el cabello, vestimentas, frotis vaginal, biopsia, o procedentes de sus familiares (Sweet Di Zinno, 1996). El presente artículo ofrece una revisión de la literatura respecto del análisis del ADN para la identificación humana, exponiendo una visión

general de la evolución en su tecnología, destacando la importancia de la biología molecular y su relación con la odontología forense.

Se ha explicado que todo tipo de organismo puede ser identificado mediante el examen de secuencias de ADN. Cada célula de un individuo lleva una copia del ADN de esa especie. Las huellas de ADN o la tipificación del ADN (perfilado), tal como es conocido en la actualidad, es utilizada en la identificación humana (Alvarez-Cubero et al., 2012). El perfil de ADN representa un estándar forense, con implicancias en el Fuero Penal, como así también aportando pruebas de vínculo biológico en todo el mundo (Budowle et al., 2005). Inicialmente la comunidad forense realizaba la determinación del perfil genético valiéndose del análisis de VNTRs, aunque este método requería una gran cantidad de material y de excelente calidad, de ahí que sus resultados no hayan sido lo suficientemente óptimos, especialmente cuando se disponía de un escaso número de muestras de material biológico o el mismo se hallaba degradado. Actualmente en la mayoría de los institutos forenses el estudio del ADN se realiza a través del análisis de STR, que han permitido obtener excelentes resultados para la identificación humana en razón de que presentan mayor polimorfismo (es decir más cantidad de alelos), menor tamaño (en pares de bases), mayor frecuencia de los heterocigotos (superior al 90%) y baja frecuencia de mutaciones (Alonso et al., 2005; Alvarez-Cubero et al., 2012).

TIPOS DE ADN

Los dos tipos de ADN que se utilizan son el genómico y el mitocondrial. El ADN genómico en el cuerpo humano se halla en el núcleo de cada célula y representa una fuente de ADN para la mayoría de los análisis forenses. Los dientes son excelentes proveedores de ADN genómico. El ADN mitocondrial se utiliza para determinación de linaje materno y puede resultar un óptimo proveedor de información aun cuando las muestras de ADN extraídas se encuentran degradadas (Manjunath et al., 2011).

ADN Y DIENTE

Se ha expresado que, en razón de la naturaleza resistente de los tejidos dentarios al ataque de factores ambientales como incineración, inmersión, trauma, mutilación, descomposición y acción microbiana, representan una excelente fuente de ADN. En la estructura del diente, la dentina y la pulpa pueden proveer importante cantidad de material genético (Alonso et al., 2005). La producción total de ADN genómico obtenida de una muestra dental puede variar de 6 µg a 50 µg (Manjunath et al., 2011). Se ha enfatizado que a través del procedimiento realizado mediante la PCR se puede contribuir a la diferenciación de un individuo respecto de otro con un alto nivel de confiabilidad y con alrededor de 1 ng (una millonésima de un gramo) del ADN (Zietkiewicz et al., 2012). Así, abundante cantidad de ADN de calidad puede extraerse de un diente, lo que representa una ostensible ventaja en el proceso de identificación (Butler, 2007). El

ADN puede tener una buena conservación en los tejidos dentarios y óseos durante un extenso período, habiéndose reportado casos de obtención de ADN en muestras con decenas de miles de años de antigüedad (Budowle et al., 2003).

Se ha hecho hincapié en la falta de estandarización a nivel internacional respecto al uso de protocolos forenses para la obtención del ADN de los dientes, aunque se sabe que existen diferentes guías de procedimiento donde se aconsejan buenas prácticas para la extracción, protección, manipulación y procesamiento de muestras genéticas. Se han publicado trabajos que remarcan el uso de protocolos inherentes al tratamiento de ADN del tejido óseo y que son transpolados a los dientes, a pesar de que ambos tejidos son bioquímicamente y morfológicamente diferentes (Dobberstein et al., 2008). En ese sentido, los protocolos para la obtención de ADN a nivel dentario preconizados por la Comisión Internacional de Personas Desaparecidas (ICMP) (Parsons et al., 2007), son idénticos a los utilizados para el hueso, con la diferencia de que la superficie externa es eliminada en los preparados de tejido óseo, no así en aquellos de índole dental.

Establecer protocolos de muestreo de ADN óptimos para los dientes requiere un correcto análisis y comprensión de su morfología y de la distribución de ADN dentro de ellos, como así también de una cabal comprensión de las modificaciones de tales tejidos durante el estadio post-mortem. Esta eficaz interpretación propenderá a una adecuada selección de la pieza dentaria. Es dable destacar que, desde el punto de vista anatómico, los dientes humanos se dividen en dos partes: la corona, porción expuesta en la cavidad oral y el tejido radicular o raíz dentaria, alojada en el hueso alveolar. Se ha demostrado que las raíces dentales, compuestas por cemento, dentina y pulpa, producen más ADN que a nivel de la corona (Pötsch et al., 2002; Stavrianos et al., 2010; Rohland, 2012), también constituida por dentina y pulpa, pero predominantemente por esmalte. Hay estudios que demostraron que, incluso en los dientes con pulpa presente, el rendimiento de ADN de la corona es todavía diez veces menor que el obtenido de las raíces (Higgins, 2011). El esmalte, tejido acelular que reviste la corona del diente, presenta la particularidad de ser altamente resistente a los agentes externos (Gaytmenn y Sweet, 2003) al estar conformado por un 96% de tejido mineral, aunque carece en su estructura de ADN. Empero, este tejido adamantino representa una eficaz barrera de protección para las células alojadas en el interior del diente de aquellas condiciones externas tales como calor, luz ultravioleta, humedad y agentes microbianos (Nanci, 2003). En contraste con el esmalte, la pulpa dental es altamente celular, ricamente vascularizada e inervada. El tejido conectivo contiene numerosos tipos de células, entre éstas los odontoblastos (que forman la dentina), fibroblastos, células de defensa como los histocitos y macrófagos, células plasmáticas, nerviosas, mesenquimales e indiferenciadas (Pinchi et al., 2011). Las células que se producen en mayor cantidad a nivel del tejido pulpar son los odontoblastos, aproximadamente 11.000 por mm² (Chiego, 2002) y los fibroblastos, que se han

estimado en 1000 por mm² (Vavpotic et al., 2009). Por lo tanto, la pulpa es una valiosa fuente de material genético. (Vertucci, y Anthony, 1986; Murray et al., 2002), aunque puede estar en cantidad limitada o incluso ausente en dientes afectados por alguna patología. La dentina se compone de 65% de mineral en forma de hidroxapatita carbonatada, macromoléculas orgánicas (principalmente colágeno), y agua (Malaver y Yunis, 2003). A nivel de la cámara pulpar, la dentina es un tejido estructuralmente único, anillado, densamente perforado, altamente mineralizado y conformado por túbulos paralelos (Nanci, 2003). Estos túbulos contienen procesos celulares y fibras nerviosas. Las mitocondrias también están presentes a lo largo de las fibras nerviosas que hacen a los túbulos ricos en ADN (Mornstad, 1999; Zaslansky et al., 2009). Se ha analizado en una investigación (Corte Real et al., 2008) que, sobre 10 dientes con tratamiento de conducto, es decir con la pulpa completamente eliminada, se han reportado rendimientos de ADN suficientes para generar perfiles STR nucleares completos en ocho de ellos. La terapia endodóntica se realiza en dientes con tejidos pulpares infectados e involucra la extirpación completa de la pulpa. Durante este tratamiento, la superficie pulpar de la dentina también es eliminada, irrigando reiteradamente todo el sistema del conducto radicular con hipoclorito de sodio (Corte Real et al., 2008). Estos regímenes de tratamiento hacen improbable que el material orgánico pueda sobrevivir a nivel de la dentina.

El cemento cubre las raíces de los dientes y es un tejido mineral, avascular, con una estructura laminada. Se compone de 45 a 50% de minerales inorgánicos (hidroxapatita), proteínas como el colágeno y una matriz no colágena. El cemento se clasifica en dos tipos, basado en la presencia o ausencia de células (cementocitos) [Haapasalo et al., 2012]. El cemento celular es fuente de ADN, ya que contiene cementocitos dentro de la matriz extracelular. El cemento celular es similar en composición física y química al hueso, aunque estructuralmente y funcionalmente diferente (Avery y Chiego, 2009). Es avascular, no contiene inervación y con menor cantidad de sales inorgánicas (Bosshardt, 2009). A diferencia del cemento óseo, no se somete a remodelación continua, sino que aumenta de espesor paulatinamente a lo largo de la vida (Kvaal et al., 1996). El cemento celular es predominante en la porción apical de las raíces (Avery y Chiego, 2009). Los cementocitos están conectados por canalículos que se dirigen hacia el ligamento periodontal, su fuente de nutrientes. Fuentes adicionales de ADN asociadas con cemento están representadas por inclusiones de tejidos blandos, residuos de sangre, vasos que atraviesan canales accesorios, tejidos periodontales y fragmentos de hueso atrapados entre las raíces de los molares.

En virtud de lo expuesto, la pulpa y el cemento representan los tejidos más valiosos como fuentes de ADN genómico en el diente y asimismo ambos tejidos junto con la dentina pueden proveer de ADN mitocondrial. El esmalte es importante en la preservación de la dentina y la pulpa, pero carece de ADN. El contenido total de ADN de los dientes varía considerablemente de un individuo a otro y también entre los dientes de un mismo individuo (Goncalves et al.,

2005; Spalding et al., 2005; Alkass et al., 2010). Algunos de los factores que podrían incidir en el contenido de ADN incluyen el tipo de diente, la edad cronológica del donante y el estado de salud del diente. Cada uno de estos factores influirá en las proporciones relativas del ADN presente en la corona, raíz, pulpa, dentina y en cemento.

TIPO DE DIENTE

Los dientes que conforman la dentadura humana se clasifican en cuatro tipos, incisivos, caninos, premolares y molares, que difieren en cuanto a forma y tamaño, aunque histológicamente poseen una estructura similar. Estudios que han comparado el contenido de ADN entre los diferentes tipos de dientes han demostrado que aquellos con mayor volumen de pulpa aportan la mejor fuente de ADN (De Leo et al., 2000; Yu y Abbott, 2007; Speller et al., 2012) en razón de tener más células. También se ha verificado que se recupera más ADN de los dientes multirradiculares respecto de aquellos con una sola raíz (Rubio et al., 2009; Speller et al., 2012), probablemente porque existe una superficie más extensa de la raíz y por ende mayor cantidad de cemento. Entonces es lógico pensar que la selección del diente para obtener la muestra debería ser sobre aquellos con mayor superficie de la raíz y volumen de tejido pulpar, siendo los molares los principales candidatos, hecho aconsejado en diferentes guías de procedimientos, como los publicados por Interpol en su Manual para Identificación de Víctimas en Catástrofes (IVC, 2014) o por la Comisión de ADN de la Organización Internacional del Recomendaciones de la Sociedad de Genética Forense (ISFG, 2007). En ausencia de molares, se esperaría que los premolares fueran los de elección, pero debe tenerse en cuenta que los caninos ostentan mayor tamaño en su cámara pulpar, aportando entonces potencialmente mayor cantidad de ADN. Otro aspecto a considerar reside en que aquellas piezas dentarias retenidas, es decir que no han erupcionado en la cavidad oral, además de ser plausibles de menor contaminación, se encuentran más protegidas por el hueso alveolar, por lo que representan un excelente reservorio de material genético (Nanci, 2003).

EDAD CRONOLÓGICA

Es menester considerar que conforme el aumento de la edad cronológica pueden presentarse una serie de cambios que afectan el contenido de ADN de los dientes. En ese sentido, la progresiva reducción del tamaño de la cámara pulpar, producido por la fisiológica deposición de la dentina, representa un aspecto endeble. La pulpa no sólo disminuye en volumen con el tiempo, sino también en cuanto a su celularidad, tornándose más fibrosa (Trivedi et al., 2002; Printz et al., 2007). Como parte del proceso de envejecimiento, la dentina aumenta en volumen y se vuelve progresivamente esclerótica. El proceso de esclerosis implica la oclusión de los túbulos dentinarios, con depósito de cristales de fosfato cálcico y posterior degeneración de los procesos odontoblasticos y de las fibras nerviosas asociadas (Bernick y Nedelman, 1975). A pesar de lo expuesto, hay estudios que han demostrado que incluso después de la

oclusión de los túbulos y la degeneración de su contenido, puede encontrarse ADN en la dentina. (Kinney et al, 2005). Un aspecto positivo lo constituye el hecho de que la cantidad de cemento aumenta con la edad (Ubelaker y Parra, 2011). Otros cambios que ocurren con el aumento de la edad podrían no afectar el ADN, aunque si modificar la preservación post-mortem del mismo, por ejemplo, cuando el esmalte se vuelve más mineralizado con el tiempo, aunque también se pierde por desgaste natural, disminuyendo la porosidad de la dentina por la oclusión de los túbulos (Corte Real et al., 2006). Por lo tanto, el avance de la edad puede conducir a una disminución en el contenido de ADN (Senawongse et al., 2008; Ubelaker y Parra, 2011) y un cambio en su distribución a través del diente. Pese a los factores apuntados, en individuos de mayor edad los molares todavía serían los dientes de elección.

PATOLOGÍA DENTAL

Las enfermedades dentales tienen un impacto negativo en el contenido de ADN (Pretty y Sweet, 2001). La caries dental, enfermedad microbiana, produce disolución y destrucción de los tejidos calcificados de los dientes. Esto facilita la entrada de bacterias en la pulpa tanto directamente como vía túbulos dentinarios, resultando en la muerte celular (Ubelaker y Parra, 2011). En respuesta a la caries, la pulpa se retrae y se deposita la dentina terciaria que presenta una estructura menos organizada que la primaria y secundaria, respectivamente, produciendo una deposición del odontoblasto a una velocidad rápida, pudiendo los cuerpos celulares encapsularse en el tejido mineralizado (Bertacci et al., 2007). Finalmente, la caries puede conducir a una pérdida completa de pulpa o incluso de la pieza dentaria. Otra patología prevalente en la cavidad oral es la enfermedad periodontal (Lee et al., 2007). La periodontitis o enfermedad periodontal es una inflamación inducida por la placa bacteriana, afectando las estructuras de soporte del diente (Hueso alveolar, ligamento periodontal y cemento). La acumulación de bacterias en las superficies de los dientes conduce a la inflamación crónica y a la producción de toxinas que destruyen los tejidos de soporte y perturban la normal inserción del diente. Durante el progreso de la enfermedad, el hueso alveolar se destruye conduciendo a una pérdida de inserción, a la reducción de la altura de la encía alrededor del diente y a la exposición de cemento en la cavidad oral, recubriéndose por placa y cálculo (Smith et al., 1993). En la enfermedad periodontal avanzada el cemento celular puede no verse afectado, pero cuando sí lo hace probablemente conduzca a una reducción de la disponibilidad de ADN debido a la pérdida física de cemento (como resultado del tratamiento para eliminar el tejido afectado) y a la destrucción de los cementocitos.

Las patologías dentales no sólo reducen la cantidad de ADN, sino que también incrementan el potencial de contaminación. Así, los dientes seleccionados para el análisis de ADN deberían estar intactos y libres de enfermedades, aunque existen reportes (Speller et al., 2012) que expresan que los dientes enfermos y/o con tratamiento dental todavía pueden producir suficiente ADN para su extracción y

posterior amplificación. Un molar restaurado que ha estado afectado por caries leve a moderada es probable que todavía sea de más valor que un diente del sector anterior como un incisivo o canino. Asimismo, el análisis radiográfico representa una eficaz herramienta para la selección de dientes, ya que permitiría una evaluación y pronóstico del proceso patológico, así como la evaluación de la integridad de la pulpa. Es importante tener en cuenta que una vez seleccionada la pieza dentaria se debe proceder a incluir la misma en un frasco o envase plástico cubriéndola con sal gruesa a los fines de una mejor conservación. Asimismo, el frasco debe ser rotulado y etiquetado para su identificación, preservación y posterior traslado (Fig.1), respetando la cadena de custodia, a los efectos de su ulterior análisis en el laboratorio de Genética Forense.

TOMA DE MUESTRAS

Respecto de la toma de muestra para la determinación del perfil genético a partir del diente, se han detallado diferentes métodos como por ejemplo la sección horizontal de la pieza dentaria a nivel de la unión cemento-esmalte o verticalmente hasta el ápice, es decir en el extremo final de la raíz. También se puede realizar el aplastamiento del diente y obtención de polvillo dentinario mediante el uso de instrumental rotatorio o sierra, que resulta bastante sencilla y relativamente de bajo costo (Daly et al., 1979). Otra metodología requiere de un molino criogénico (Fig. 2), denominándose al procedimiento molienda criogénica, que consisten la molienda del material al impactar contra una barra magnética. La muestra se deposita en un vial, es decir un tubo de policarbonato al que se le coloca una barra magnética, y al disponerlo dentro del equipo queda posicionado entre dos terminales de acero inoxidable. Se comienza con una etapa de pre-enfriamiento, donde el tubo con la muestra es sumergido en nitrógeno líquido con la



Fig. 1. Cadena de custodia

finalidad de darle dureza a la misma (Fig. 3). Posteriormente, se aplica un campo magnético con el objetivo de movilizar la barra entre los terminales de acero a alta frecuencia, logrando pulverizarla totalmente (Fig. 4 y Fig. 5), para, en una ulterior etapa, poder extraerse el material genético. El proceso de extracción de ADN se compone de 3 etapas diferentes: ruptura celular o lisis (que permite el uso de diferentes técnicas a efectos de lograr la destrucción de las membranas celulares), desnaturalización de las proteínas e inactivación (a través de un proceso de quelación y empleo de proteinasas), y finalmente la extracción y purificación apropiadamente dichas del ADN (Loreille, 2007) mediante extracción con solventes orgánicos. Las técnicas de extracción de ADN más utilizadas en Odontología Forense son a través de método orgánico (compuesto de fenol-cloroformo) que podría resultar laborioso, con mucha demanda de tiempo y con un índice quizá demasiado alto de errores si no se dispone de una muy buena cantidad de material genético. Otras técnicas se basan en el uso de Chelex 100 (más rápido y con escaso riesgo de eventual contaminación). En la actualidad se dispone de metodologías más rápidas y con mejor rendimiento y pureza de la muestra, entre los que se pueden mencionar las columnas de purificación y los robots automáticos de extracción y purificación (Fig. 6) que permite la extracción de muestras más puras y evitan error de contaminación entre muestras.

APLICACIONES DE PERFILES DE ADN EN ODONTOLOGÍA FORENSE

Los perfiles de ADN actualmente utilizados son aceptados como pruebas legales en los tribunales, en casos de investigación de la paternidad y de identificación. Se utilizan a tal efecto el análisis de STRs: Se describen como tramos cortos de ADN que se repiten en varios lugares en todo el genoma humano y se utiliza para evaluar regiones específicas (Loci) dentro del ADN nuclear (Butler; 2005). Cada individuo porta el 50 % de STR que fueron heredados del padre y el otro 50 % de la madre (Rohland, 2007). Se ha analizado que, aunque el ADN presente en restos antiguos, se encuentre muy degradado, ha resultado con mejor conservación en las muestras obtenidas de dientes que de tejido óseo (Alonso et al., 2001). Las mayores tasas de éxito de Identificación mediante el análisis de STR ha sido obtenido a través de muestras de hueso cortical de huesos de las piernas que soportan un mayor peso (fémur 86,9%) aunque los dientes intactos también exhibieron altas tasas de éxito (Dientes 82,7%) (Fondevilla et al., 2013).

Basado en los perfiles genéticos obtenidos a partir del análisis de STRs, el FBI desarrolló sistema CODIS, para permitir a los laboratorios forenses la creación de bases de datos de perfiles de ADN. Se ha calculado que la posibilidad de que dos individuos puedan tener el mismo perfil de ADN de 13 loci sea de aproximadamente uno en mil millones. Los Estados Unidos mantienen la mayor base de datos de ADN del mundo. A partir de 2017 el número mínimo de STRs que deben ser analizados se ha extendido a 20 loci (SNP Fact Sheet. Human genome project. U.S. Department of Energy genome Program's biological and environmental research



Fig. 2. Molino criogénico



Fig. 3. Introducción de la muestra en nitrógeno líquido



Fig. 4. Molienda criogénica

information system, 2011).

POLIMORFISMO DE UN SOLO NUCLEÓTIDO (SNPS)

Los SNPs son variaciones de la secuencia de ADN que ocurren cuando un único nucleótido (A, T, C o G) en la secuencia del genoma se altera. Por ejemplo, un SNP podría cambiar la secuencia de ADN: AAGGCTAA a ATGGCTAA (SNP Fact Sheet. Human genome project. U.S. Department of Energy genome Program's biological and environmental research information system, 2011). Los SNP son nuevos marcadores emergentes, de interés para su aplicación en medicina forense debido a su pequeño tamaño de amplificación, hecho de suma practicidad para analizar muestras degradadas, con menor tasa de mutación en comparación con los STR.

CONCLUSIÓN

El genoma humano permite obtener información sobre ascendencia, linaje, evolución, identidad o fenotipo, como así también determinar el sexo. La aplicación de la tecnología del ADN revolucionó los procedimientos de identificación forense, representando los dientes una excelente fuente de material genético en razón de su resistencia a la acción de aquellos agentes deletéreos que fustigan la integridad del cuerpo humano. En dicho contexto, los odontólogos forenses deberían concientizarse respecto de la importancia de la correcta selección de los dientes que se tomarán como muestra, así como de su posterior acondicionamiento, preservación y medidas tendientes a conservar la cadena de custodia. Los STRs se han constituido en una eficaz herramienta, especialmente en pruebas de paternidad, pero la aplicación de los SNPs permite avizorar nuevas tendencias en biología molecular. Se debería insistir en lograr la estandarización a nivel internacional de protocolos forenses para la obtención del ADN de los dientes, propiciando la interacción entre odontólogos y genetistas forenses respetando un lenguaje científico universal, acorde al actual mundo globalizado.

BIBLIOGRAFIA

Alonso A, Martín P, Albarrán C, García P, Fernández de Simon L, Jesús Iturralde M, Fernández-Rodríguez A, Atienza I, Capilla J, García-Hirschfeld J, Martínez P, Vallejo G, García O, García E, Real P, Álvarez D, León A, Sancho M. Challenges of DNA profiling in mass disaster investigation. *Croat Med J* 2005;46:540–548.

Alonso A, Andelinovic S, Martín P, Sutlovic D, Erceg I, Huffine E, de Simon LF, Albarran C, Definis-Gojanovic M, Fernandez-Rodriguez A, Garcia P, Drmic I, Rezić B, Kuret S, Sancho M, Primorac D. DNA typing from skeletal remains: evaluation of multiplex and megaplex STR systems on DNA isolated from bone and teeth samples. *Croat Med J* 2001;42:260–266.

Alkass K, Buchholz BA, Obtani S, Yamamoto T, Druid H,



Fig. 5. Polvillo dentario



Fig. 6. Robot automático de extracción y purificación

Spalding KL. Age estimation in forensic sciences: application of combined aspartic acid racemization and radiocarbon analysis. *Mol Cell Proteomics* 2010;9:1022–1030.

Alvarez-Cubero MJ, Saiç M, Martínez-González LJ, Álvarez JC, Eisenberg AJ, Budowle B, Lorente JA Genetic identification of missing persons: DNA analysis of human remains and compromised samples. *Pathobiology* 2012;79:228–238.

Avery J, Chiego D. *Essentials of Oral Histology and Embryology. A Clinical Approach*, 3rd ed. St Louis: Mosby Elsevier 2006.

Bernick S, Nedelman C. Effect of aging on the human pulp. *J Endod* 1975;1:88–94.

Bertacci A, Chersoni S, Davidson CL, Prati C. In vivo enamel fluid movement. *Eur J Oral Sci* 2007;115:169–173.

Bosshardt DD. Are cementoblasts a subpopulation of osteoblasts or a unique phenotype. *J Dent Res* 2005;84:390–406.

Budowle MW, Allard MR, Wilson R, Chakraborty R. *Forensics and*

- mitochondrial DNA: applications, debates, and foundations. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 2003;4:119–141.
- Budowle B, Bieber FR, Eisenberg AJ. Forensic aspects of mass disasters: strategic considerations for DNA-based human identification. *J Legal Med* 2005;7:230–243.
- Butler JM. *Forensic DNA Typing: biology, technology and genetics of STR markers*. San Diego: Academic Press 2005.
- Butler JM. Short tandem repeat typing technology used in human identity testing. *BioTechniques* 2007;43:2-5.
- Chiego, Histology of the pulp, in: *Oral Development and Histology*. Avery JK, Steele PF, Avery N (Eds.). New York: Thieme Medical Publishers 2002:190–212.
- Corte-Real F, Anjos MJ, Andrade L, Carvalho M, Serra A, Bento AM, Oliveira C, Batista L, Vieira DN, Gamero JJ. Genetic identification in endodontic treated tooth root. *Forensic Sci Int Genet* 2008;457–458
- Corte-Real F, Andrade A, Anjos L et al, The DNA extraction from the pulp dentine complex of both with and without carious. *Int Congress Ser* 2006; 1288:710-2.
- Daly CG, Kieser JB, Corbet EF, Seymour GJ. Cementum involved in periodontal disease: a review of its features and clinical management. *J Dent* 1979;7:185–193.
- De Leo D, Turrina S, Marigo M. Effects of individual dental factors on genomic DNA analysis. *Am J Forensic Med Pathol* 2000;21:411–415.
- Dobberstein RC, Huppertz J, von Wurmb-Schwark N, Ritz-Timme S. Degradation of biomolecules in artificially and naturally aged teeth: implications for age estimation based on aspartic acid racemization and DNA analysis. *Forensic Sci Int* 2008;179:181–191.
- Edson SM, Ross JP, Coble MD, Parson TJ, Barritt SM. Naming the dead —confronting the realities of rapid identification of degraded skeletal remain. *Forensic Sci Rev* 2004;16:63–90.
- Fondevila M, Phillips C, Santos C, Freire Aradas A, Vallone PM, Butler JM, Laren MV, Carracedo A. Revision of the SNPforID 34-plex forensic ancestry test: assay enhancements, standard reference sample genotypes and extended population studies. *Forensic Sci Int Genet* 2013;7:63–74.
- Gaytmenn R, Sweet D. Quantification of forensic DNA from various regions of human teeth. *J Forensic Sci* 2003;48:622–625.
- Goncalves PF, Sallum EA, Sallum AW, Casati MZ, de Toledo S, Nociti FH. Dental cementum reviewed: development, structure, composition, regeneration and potential function. *Braz Dent J* 2005;4.
- Haapasalo, Y. Shen, W. Qian, Y. Gao, Irrigation in endodontics, *Dent Clin North Am* 2010;54:291–312.
- Higgins D, Kaidonis J, Austin J, Townsend G, James H, Hughes T. Dentine and cementum as sources of nuclear DNA for use in human identification. *Aust J Forensic Sci* 2011;43:287–295.
- INTERPOL, *Disaster Victim Identification Guide*, 2013.
- James H, Thai tsunami victim identification overview to date. *J Forensic Odontostomatol* 2005;23:1–18.
- Kinney JH, Nalla RK, Pople JA, Breunig TM, Ritchie RO. Age-related transparent root dentine: mineral concentration, crystallite size and mechanical properties. *Biomaterials* 2005;26:3363–3376.
- Kvaal SI, Solheim T, Bjerketvedt D. Evaluation of preparation, staining and microscopic techniques for counting incremental lines in cementum of human teeth. *Biotech Histochem* 1996;71:165–172
- Lee YL, Liu J, Clarkson BH, Lin CP, Godovikova V, Ritchie HH. Dentin–pulp complex responses to carious lesions. *Caries Res* 2006;40:256–264.
- Loreille OM, Diegoli TM, Irvin JA, Coble MD, Parsons TJ. High efficiency DNA extraction from bone by total demineralization. *Forensic Sci Int Genet* 2007;1:191–195.
- Malaver PC, Yunis JJ. Different dental tissues as a source of DNA for human identification in forensic cases. *Croat Med J* 2003;44:306–309.
- Manjunath BC, Chandrashekar BR, Mahesh M, Vatchala Rani RM. DNA profiling and forensic dentistry — a review of the recent concepts and trends. *J Forensic Leg Med* 2011;18:191–197.
- Mornstad H, Pfeiffer H, Yoon C, Teivens A. Demonstration and semiquantification of mtDNA from human dentine and its relation to age. *Int J Leg Med* 1999;112:98–100.
- Murray PE, Stanley HR, Matthews JB, Sloan AJ, Smith AJ. Age-related odontometric changes of human teeth. *Oral Surg Oral Med Oral Path Oral Rad Endod* 2002;93:474–482.
- Nanci A. Dentine pulp complex, in: A. Nanci (Ed.), *Ten Cate's Oral Histology, Development, Structure and Function*. St Louis Missouri: Mosby 2003: 192–239.
- Nanci A. *Enamel: Composition, Formation and Structure*. St Louis, Missouri: Mosby 2003.
- Parsons TJ, Huel R, Davoren J, Kaczmarczyk C, Milos A, Selmanovic A, Smajlovic L, Coble MD, Rizvic A. Application of novel “mini-amplicon” STR multiplexes to high volume casework on degraded skeletal remains. *Forensic Sci Int Genet* 2007;1:175–179.
- Pinchi V, Torricelli F, Nutini AL, Conti M, Iozzi S, Norelli GA. Techniques of dental DNA extraction: some operative experiences. *Forensic Sci Int* 2011;204:111–114.
- Pötsch L, Meyer U, et al, Application of DNA techniques for identification using human dental pulp as a source of DNA. *Int J Legal Med*. 1992;105:139-43N.

- Pretty LA, Sweet D. *A look at forensic dentistry — part 1: the role of teeth in the determination of human identity*, Br Den J 2001;190:359–366.
- Prinz M, Carracedo A, Mayr WR, Morling N, Parson TJ, Sajantila A, Scheithauer R, Schmitter H, Schneider PM. *DNA Commission of the International Society for Forensic Genetics (ISFG): recommendations regarding the role of forensic genetics for disaster victim identification (DVI)*. Forensic Sci Int Genet 2007;1:3–12.
- Robland N. *DNA extraction of ancient animal hard tissue samples via adsorption to silica particles*. Methods Mol Biol 2012;840:21–28.
- Robland N, Hofreiter M. *Ancient DNA extraction from bones and teeth*. Nat Protoc 2007;2:1756–1762.
- Rubio L, Martínez LJ, Martínez E, Martín de las Heras S. *Study of short- and long-term storage of teeth and its influence on DNA*. J Forensic Sci 2009;54:1411–1413.
- Senawongse M, Otsuki M, Tagami J, Mjor LA. *Morphological characterization and permeability of attrited human dentine*. Arch Oral Biol 2008;53:14–19.
- SNP Fact Sheet. *Human genome project*. U.S. Department of Energy genome Program's biological and environmental research information system (BERIS). (Cited on 2011 Aug 9) available from: http://www.ornl.gov/sci/techresources/Human_Genome/faq/snps.
- Spalding KL, Buchholz BA, Bergman BL, Druid H, Frisen J. *Forensics: age written in teeth by nuclear tests*. Nature 2005;437.
- Speller CF, Spalding KL, Buchholz BA, Hildebrand D, Moore J, Mathewes R, Skinner MF, Yang DY. *Personal identification of cold case remains through combined contribution from anthropological, mtDNA, and bomb-pulse dating analyses*. J Forensic Sci 2012;57:1354–1360.
- Stamfelj G, Vidmar E, Cvetko D, Gaspersic. *Cementum thickness in multirrooted human molars: a histometric study by light microscopy*, Ann Anat 2008;190:129–139.
- Stavrianos C, Eliades A, Kokkas A. *The role of DNA in forensic odontology: part II*, Res J Med Sci 2010;4:309–314.
- Sweet D, DiZinno JA. *Personal identification through dental evidence-tooth fragments to DNA*. J Calif Dent Assoc 1996;24:35–42.
- Trivedi R, Chattopadhyay P, Kashyap VK. *A new improved method for extraction of DNA from teeth for the analysis of hypervariable loci*. Am J Forensic Med Pathol 2002;23:191–196.
- Ubelaker DH, Parra RC. *Radiocarbon analysis of dental enamel and bone to evaluate date of birth and death: perspective from the southern hemisphere*. Forensic Sci Int 2011;208:103–107.
- Vaupotic M, Turk T, Martincic DS, Balazic J. *Characteristics of the number of odontoblasts in human dental pulp post-mortem*. Forensic Sci Int 2009;193:122–126.
- Vertucci FJ, Anthony RL. *A scanning electron microscopic investigation of accessory foramina in the furcation and pulp chamber floor of molar teeth*. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1986;62:319–326.
- Yu C, Abbott PV. *An overview of the dental pulp: its functions and responses to injury*. Aus Dent J 2007;52:4–16.
- Zaslansky P, Zabler S, Fratzl P. *3D variations in human crown dentin tubule orientation: a phase-contrast microtomography study*, Dent Mater 2009;26:1–10.
- Zietkiewicz E, Witt M, Daca P, Zebracka-Gala J, Goniewicz M, Jarzab B. *Current genetic methodologies in the identification of disaster victims and in forensic analysis*. J App Genet 2012;53:41–60.

Dirección para correspondencia:
 Unidad Académica Odontología legal con Historia de la
 Odontología,
 Facultad de Odontología, Ciudad Autónoma de Buenos Aires
 Marcelo T de Alvear 2142, 1 (C 1122 AAH)
 Correo electrónico: diegoalan3@hotmail.com