

**IDENTIFICACIÓN HUMANA Y  
ANÁLISIS DEL ADN EN PULPA  
DENTAL**

**JUAN FRANCISCO ORTIGOSA RUIZ**

## **INTRODUCCION**

**La Medicina Legal es la ciencia que tiene por objeto el estudio de las cuestiones que se presentan en el ejercicio profesional del jurista y cuya resolución se funda, total o parcialmente, en ciertos conocimientos médicos o biológicos previos<sup>1</sup>. La Medicina Legal se encuadra, pues, como una ciencia auxiliar del Derecho para poder resolver sobre cuestiones que exigen conocimientos específicos.**

**La importancia de la Medicina Legal podemos resumirla, siguiendo a Gisbert Calabuig, en los siguientes puntos:**

**1-NATURALEZA DE SU ACTUACION: Va del plano asistencial particular al plano social, al colaborar en la correcta administración de justicia en los aspectos que le son requeridos.**

**2-RESPONSABILIDAD DE SUS ACTUACIONES: Ya sea en el terreno moral o material. En efecto, del dictamen médico-legal puede depender la condena o absolución, el honor, la libertad o la fortuna de nuestros semejantes. La trascendencia del informe pericial es tal, que en ocasiones es determinante a la hora de decantar el fiel de la balanza de la Justicia.**

**3-OBLIGATORIEDAD:** La función médico-legal puede ser impuesta obligatoriamente a todo facultativo.

**4-ANTECEDENTES HISTORICOS<sup>2</sup>:** Desde los datos aislados y sin cohesión suficiente encontrados en las culturas remotas como las mesopotámicas (Código de Hammurabi), egipcia, hindú o china, hasta las culturas occidentales clásicas (Grecia y Roma), en todas ellas es posible hallar ejemplos en que el jurista debe ser auxiliado por peritos médicos para ejercer su función. Posteriormente la especialidad irá consolidándose a lo largo de la historia con aportaciones de diversos autores: BENIVIENI en el medievo; FRAGOSO, PARE, CODRONCHI y FEDELE en el Renacimiento; la obra de PAOLO ZACCHIA (1584-1659) como primera madurez de la especialidad; la influencia de MATEO JOSE BUENAVENTURA ORFILA (1787-1853) que marca el despegue social de la disciplina y, posteriormente, un aluvión de autores que contribuyeron al despegue científico de la Medicina Legal.

**5-CATEGORIA CIENTIFICA:** La Medicina Legal utiliza en su provecho las técnicas y procedimientos científicos más avanzados y, no en vano, el Cuerpo Nacional de Médicos Forenses posee, por su preparación, dedicación e imparcialidad, una reputada credibilidad.

**6-RESONANCIA ECONOMICA:** Las actuaciones periciales tienen repercusión económica, tanto en la valoración del daño corporal y otros aspectos de índole civil, como en algunas cuestiones relacionadas con el objeto de este trabajo: la

identidad de las personas.

Identificar a una persona, establecer su identidad, es determinar aquellos rasgos o conjunto de cualidades que la distinguen de todos los demás y hacen que sea ella misma<sup>3</sup>. El hombre, "medida de todas las cosas" desde el Renacimiento, es, como ser individual, depositario de derechos y deberes e interesa a la Justicia la correcta identificación del sujeto, tanto en la esfera civil como penal. Por otro lado, recordar que nacemos con una identidad y tenemos derecho a morir con ella<sup>4</sup>.

Los métodos identificativos en Medicina Legal son múltiples y en determinadas ocasiones es necesario el auxilio de la Odontología Forense o, si se prefiere, de la Estomatología Forense, término más amplio ya que su campo abarcaría no sólo el estudio de los órganos dentarios sino el de todo el aparato estomatognático<sup>5</sup>. En el presente trabajo se pretende hacer un somero repaso de las técnicas identificativas "clásicas" en Estomatología Forense para, posteriormente, revisar las aportaciones que pueden darse en este campo por las modernas técnicas de estudio y secuenciación del ácido desoxirribonucleico (ADN) y analizar cuál es el lugar que ocupan estas pruebas en la identificación humana.

## **1-OBJETIVOS**

**1.1- Se quiere realizar una revisión de la literatura acerca de los distintos métodos identificativos en odontología forense. Para ello se repasan las posibilidades que brindan los "métodos clásicos" y posteriormente se examinan con especial atención los estudios genéticos en material dental, así como el valor de estas técnicas en la esfera judicial.**

**1.2- Se pretende, también, proponer un protocolo sistemático de actuación que pueda ser de utilidad en los casos que el perito (médico forense u odontólogo) esté llamado a resolver cuestiones de identidad con el auxilio de técnicas y métodos propios de la odontología forense. Como en cualquier otro campo de la Medicina el sentido común es el que debe primar, así se empezarán con las técnicas más sencillas para pasar posteriormente, si el caso lo requiere, a los estudios más sofisticados.**

**La utilización de protocolos es, en ocasiones, tan importante como el correcto dominio de las técnicas ya que sistematizan el estudio e impiden que la mente del perito se engañe con particularidades perdiendo de vista el conjunto y nos ayudan a no olvidar ninguno de los detalles que debe ser considerado.**

## **2- MATERIAL Y METODOS**

**2.1- Se han revisado los tratados de medicina legal existentes en la biblioteca de la Clínica Médico-Forense de Barcelona, así como los de la biblioteca de la Facultad de Odontología de Barcelona. La sistemática seguida ha sido el protocolo usual de identificación en medicina legal (Diagnóstico de especie, raza, sexo, talla, edad y particularidades individuales) y se comparan los resultados de los distintos autores.**

**2.2- Para valorar el estado actual de las pruebas genéticas en material dental se realizó una búsqueda bibliográfica a través de la base de datos MEDLINE (R) SilverPlater 3.11 desde 1989 a 1994 cruzando como palabras clave los términos "Dental pulp", "DNA analysis" y "Forensic dentistry". El resultado de esta búsqueda fue relativamente catastrófico: únicamente se encontraron tres publicaciones que se ajustaran al objeto de este trabajo (aunque ello tiene el atractivo de ser un tema en el que todavía hay muchas cosas por decir). A esas tres publicaciones se añadieron dos más facilitadas por los Drs. GENÉ y CRESPILO de la Cátedra de Medicina Legal y del Instituto Nacional de Toxicología, respectivamente.**

**La disparidad de criterios en estos trabajos y la casuística escasa que presentan impide realizar un metaanálisis, esto es, combinar los resultados de los distintos estudios para incrementar su poder estadístico y aportar una revisión estructurada y crítica de la literatura médica existente. Por ello se ha optado por realizar una revisión en la que se resuma el estado actual del tema intentando explicar de manera sencilla el fundamento de estas técnicas y sus posibilidades en los distintos campos de la Medicina**

**Legal.**

### **3-IDENTIFICACION ESTOMATOLOGICA: HITOS HISTORICOS**

**CORREA cita a PAUL REVERE como precursor de la Estomatología Forense<sup>5</sup> al ser el primero en realizar una identificación dental. En los inicios de 1775, REVERE construyó una prótesis dental para el doctor JOSEPH WARREN, el cual fue muerto en la batalla de Bunker Hill de la Guerra de Independencia Norteamericana y que fue identificado gracias a la mencionada prótesis.**

**Hacia 1879 (1872, según BONNET<sup>6</sup>), el príncipe imperial LUIS NAPOLEON MONTIJO, fue asesinado por los zulúes en el Africa Austral y fue identificado por su odontólogo THOMAS W. EVANS al reconocer las obturaciones que él había realizado en los molares derechos del príncipe<sup>5,6</sup>.**

**En 1891, MERCIOLLE presentó en la Universidad de Lyon el caso del asesino de un barquero de San Petersburgo identificado por las marcas dentarias dejadas en una pipa.**

**En 1895 PABLO VALENCIA Y FORTS reconoció el cadáver, que después se demostraría perteneciente a JOSE MARTI; de él escribía: "al que tiene buena dentadura sólo le falta el segundo incisivo derecho del maxilar superior y las demás piezas son, en su mayoría puntiagudas; la cara es de forma oval". Esta descripción se comprobó posteriormente por una carta de Horacio S. Rubens dirigida a Gonzalo de Quesada, en ella dice: "Bazán también confirma la descripción de la falta del incisivo**



superior expuesta en la autopsia, pues él mismo extrajo dicho diente; por tanto, parece casi seguro que la pérdida de Martí es realidad". En 1907 se examinaron los restos de Martí por MONTERO ZAMBRANO y MASCARO y se compararon los resultados con el esquema bucal practicado por BAZAN, odontólogo de Martí, coincidiendo las observaciones.<sup>5</sup>

El incendio, en 1897, del BAZAR DE LA CHARITÉ en París ocasionó ciento veintiséis muertos que fueron identificados, en su mayor parte, por AMOEDO, DAVENPORT y BRAULT, odontólogos. Oscar Amoedo presentó en 1898 su tesis doctoral "L'art dentaire en Médecine Légale" y es considerado como el padre de la Odontología Forense.<sup>5,6,7</sup> El doctor Amoedo registró los procedimientos y observaciones de los dentistas y concluyó que era necesario un sistema internacional de trazo de diagramas de dentición y una sola nomenclatura.<sup>5</sup>

Posteriormente se han venido realizando identificaciones odontológicas en múltiples ocasiones. Así la literatura recoge, repetitivamente, los casos de Becker y Tapia, aclarado por VALENZUELA BASTARRICA; el caso de Sheneck, identificado por una prótesis dental; el de John Hamilton, identificado por el F.B.I. por su ficha dental, y un largo etcétera que acostumbra a convertir el capítulo de historia que precede a todo tratado de Odontología Forense en una sucesión de casos curiosos y anécdotas interesantes que los autores nos colocan allí como prueba de erudicción, o por costumbre y sin que esos capítulos formen un cuerpo ordenado de lo que sería la historia de la Odontología Forense. Ello es así porque la historia de la Odontología

## **IDENTIFICACION HUMANA Y ANALISIS DEL A.D.N. EN PULPA DENTAL 10**

Forense es la historia de la Medicina Legal y ésta, la del desarrollo de las ciencias médicas, de las que ambas se nutren. No es mi propósito, pues, seguir recopilando casos, y concluiré que el resto del camino ha sido el de la aplicación de los progresos médico-legales a los requerimientos de la justicia en una sociedad con crímenes abundantes y catástrofes frecuentes.

#### **4- AUTOPSIA BUCAL: REMOCION DE LOS MAXILARES.**

Las técnicas identificativas en Odontología forense requieren como primer paso el aislamiento de los maxilares. La extracción de los maxilares no es usual, así, LECHA-MARZO<sup>8</sup> (Cita obligada en la Medicina Forense española) en su Tratado de Autopsias y Embalsamamientos ni siquiera la describe y se limita a aconsejar que se consigne el "estado de la dentadura".

Para la remoción de los maxilares existen distintas técnicas:

**4.1-METODO DE LUNZ** (Figura 1): Se practican dos incisiones en ambas mejillas en forma de ángulo de apertura posterior. La incisión superior va desde la comisura al arco zigomático. La inferior va desde la comisura al ángulo mandibular. Retiradas las partes blandas de la mandíbula, se desmonta la articulación tèmpero-mandibular. Una variante es cortar las ramas ascendentes por encima del plano oclusal sin tocar las articulaciones tèmpero-mandibulares. Utilizando esta variante se perdería la información que pudiera darnos la articulación tèmpero-mandibular, aunque ganamos rapidez.

El maxilar se aísla con un corte de sierra que va desde la espina nasal anterior hasta llegar a las láminas verticales de los huesos palatinos y apófisis pterigoides del esfenoides<sup>9</sup>. Para ello se realiza una incisión en el vestíbulo superior, pudiendo evertir los planos faciales a fin de descubrir la espina nasal<sup>10</sup>.

**4.2-METODO DE KEISER-NIELSEN** (Figura 2): NOSSINTCHOUK<sup>10</sup> propone este método. Se practica una primera incisión en forma de herradura 2-3 centímetros bajo la base de la mandíbula, de un ángulo mandibular a otro. Una segunda incisión se practica bajo la superficie tisular, a lo largo de la superficie ósea externa del cuerpo mandibular hasta la base del vestíbulo inferior. Distalmente hay que seccionar la inserción del masetero en el cuerpo mandibular (El masetero tiene su inserción en el ángulo de la mandíbula, en la tuberosidad masetérica<sup>11, 12</sup>). Los tejidos del mentón y de la base de las mejillas son reclinados hacia arriba, hacia la zona maxilar superior, mostrándonos una visión vestibular de la mandíbula.

Si la lengua no fue retirada anteriormente (Al realizar la autopsia del cuello, por ejemplo), es conveniente realizar una incisión a lo largo de la cara interna del cuerpo mandibular.

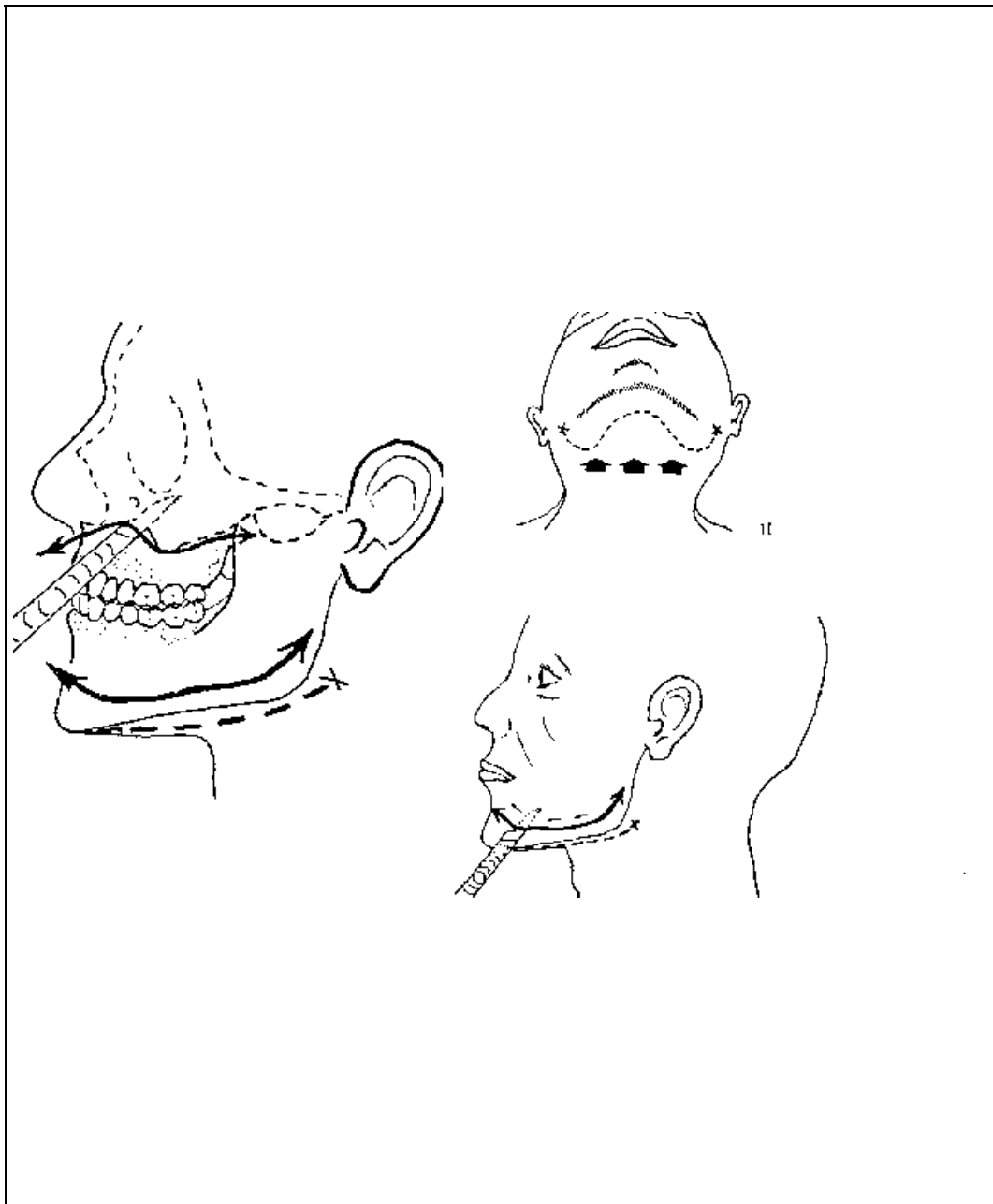
Seguidamente podemos realizar la desinserción témporo-mandibular, o bien seccionar ambas ramas ascendentes. La remoción del maxilar se realiza según lo descrito anteriormente.

**4-3- METODO DE LA F.D.I.** La COMISION DE EDUCACION Y PRACTICA DENTAL de la F.D.I. en sus "Pautas para los procedimientos de identificación dental"<sup>13</sup> propone algunas variaciones que merecen ser consideradas. Así, se aconseja la resección de la mandíbula tras la prolongación de la autopsia del tórax y cuello por el método de Virchow.

**El maxilar se secciona utilizando una sierra de GIGLI. Para ello nos colocamos detrás de la cabeza del cadáver, mientras que un ayudante repliega cuidadosamente labios y tejidos blandos, la sierra de GIGLI se coloca detrás de las tuberosidades, a ambos lados del maxilar y se mueve alternativamente, bajo tensión hacia el lado derecho e izquierdo hasta lograr el desprendimiento.**



**FIGURA 1: Incisiones laterales en la técnica de LUNZ.**



**FIGURA 2: Incisiones en la técnica de KEISER-NIELSEN (Tomado de NOSSINTCHOUK).**

## **5-NECROIDENTIFICACION DENTARIA: METODOS CLASICOS**

En Odontología Forense son clásicos dos tipos de estudios según la cantidad y calidad de la información de que dispongamos; así, en ocasiones utilizamos un método deductivo o, si se quiere, reconstructivo, esto es, a partir de las evidencias encontradas intentamos averiguar determinadas características del sujeto como puedan ser la especie, raza, sexo, etc. y en otras ocasiones utilizamos el método comparativo, esto es, analizamos la información post-mortem y la comparamos con registros previos. Seguidamente vamos a examinar algunos de estos aspectos que nos ayudarán en la identificación.

### **5.1 DIAGNOSTICO DE ESPECIE**

El diagnóstico se plantea en el caso de dientes aislados. Se trata de establecer si la pieza dentaria es humana o no. Los dientes humanos tienen como característica fundamental que la corona y la raíz están en un mismo plano, por lo que resultan como un tallo recto. Esta característica los diferencia de los del resto de animales. Sólo en el caso de especies muy próximas existe una cierta semejanza, sobre todo en caninos e incisivos de monos antropoides.

Puede ser de ayuda el examen microscópico mediante corte sagital y epiluminación (ULTROPACK). El diente humano tiene como características exclusivas



que los pliegues de esmalte son ondulados, paralelos y perpendiculares a la dentina. Su anchura media es de 5  $\mu$ , y su longitud es de 2 mm, y presentan estrías oscuras transversales a intervalos regulares de unas 4  $\mu$ . La unión amelodentinaria presenta un aspecto festoneado.<sup>9</sup>

Otros autores han intentado técnicas de precipitación por sueros anti-humanos (SAINT-PAUL y SARDA), o el más preciso método de inmunoprecipitación en gel según la técnica de OUCHTERLONY. Otros estudios utilizan técnicas de fijación del complemento y de inmunofluorescencia.<sup>14</sup>

## **5.2 RAZA**

El examen de los molares, sobre todo, permite diferenciar razas ortognatas (blancos), prognatas (negros) y las denominadas primitivas (aborígenes australianos, etc.)<sup>9</sup>. Las razas ortognatas presentan las cúspides distopalatinas de los molares superiores muy pequeñas en relación con las mesiopalatinas y entre ambas existe un marcado surco. El primer molar inferior conserva sólo una leve marca de la soldadura de la cúspide posterior. El segundo y tercer molar inferior no tienen una cúspide posterior diferenciada. Las razas prognatas tienen en sus molares superiores unas cúspides distopalatinas de buen tamaño y en los molares inferiores tienen cúspide posterior diferenciada. Para CASTILLA GONZALO, las razas primitivas poseen molares inferiores con características similares a los chimpancés.

Mediante la obtención de índices dentarios es posible dividir a los humanos en

tres grupos: microdontos (europeos, egipcios, polinesios), mesodontos (negros, indios, chinos) y megadontos (australianos), estos grupos resultan de la aplicación de fórmulas como la de FLOWER<sup>4,7,9</sup>:

*(Distancia mesial 1PMS-distal 3MS/Distancia basion-nasion) x 100*

En base a estos cálculos nos encontraremos con las siguientes posibilidades:

- < 43 : Microdontos (Europeos, egipcios)
- 43-43.9: Mesodontos (Chinos, negros)
- 44-45.9: Megadontos (Australianos)
- >46 : Hipermegadontos

REVERTE<sup>7</sup> cita un INDICE INFERIOR DE FLOWER que se calcula como el anterior pero tomando los premolares y molares inferiores:

- < 45 : Microdontos
- 45-47.9: Mesodontos
- > 48 : Megadontos

Otra posibilidad es utilizar la talla del sujeto como referencia<sup>4,7</sup>:

*Longitud media de todos los dientes/Talla del sujeto*

Otro elemento a estudiar es la forma del arco alveolar, esto es, aquellas formas que se presentan con más o menos frecuencia en los distintos grupos raciales<sup>4</sup>. Distinguimos la parabólica (blanca), elíptica (amarilla), elipsoide (negra) y rectangular (australianos).

El índice gnático es otro de los elementos de estudio que podemos utilizar para determinar el tipo racial<sup>5</sup>:

$$\text{INDICE GNATICO} = \left( \frac{\text{Distancia basion-huesos nasales}}{\text{Distancia basion-procesos alveolares}} \right) \times 100$$

Los resultados se resumen en la siguiente tabla:

<b>GRUPO RACIAL</b>	<b>INDICE GNATICO</b>
<b>Caucasoide</b>	<b>96 Ortognato</b>
<b>Mongoloide</b>	<b>99 Mesognato</b>
<b>Negroide</b>	<b>104 Prognato</b>
<b>Australiano</b>	<b>104 Prognato</b>

NOSSINTCHOUK propone el estudio cefalométrico, y en su obra nos describe

una erudita relación de puntos craneométricos, puntos faciales, planos craneológicos y medidas craneológicas, tras ello determina los siguientes índices craneanos<sup>10, 15</sup>:

**Indice craneal horizontal (ICH):**

$$ICH=(\text{Diámetro biparietal}/\text{Diámetro antero-posterior}) \times 100$$

**Este índice nos permite dividir los cráneos en tres grupos:**

**DOLICOCRANEOS ..... 64.9-74.9**

**MESOCRANEOS ..... 75.0-79.9**

**BRAQUICRANEOS ..... > 80.0**

**Indice facial superior (IFS):**

$$IFS=(\text{Distancia nasion-punto incisivo superior}/\text{Diámetro bizigomático}) \times$$

**100**

**Indice facial total (IFT), que nos permite estudiar la anchura de la cara:**

$$IFT=(Distancia\ nasion-gnation/Diámetro\ bizigomático) \times 100$$

**Indice nasal (IN):**

$$IN=(Anchura\ nasal/Altura\ nasal) \times 100$$

**Este índice nos permite clasificar los cráneos en:**

**LEPTORRINOS: IN inferior o igual a 46.9.**

**MESORRINOS: IN de 47.0-50.9.**

**PLATIRRINOS: IN de 51.0-57.9.**

**HIPERPLATIRRINOS: IN igual o superior a 58.0.**

**Indice mandibular (IM):**

$$IM=(Longitud\ total\ de\ la\ mandíbula/Anchura\ bicondilea) \times 100$$

**Así tendremos:**

**- Mandíbulas cortas o anchas, braquignatas, IM de 85.0.**

- Mandíbulas medias, mesognatas, IM de 85.0 a 89.0.
- Mandíbulas estrechas o largas, dolicoognatas, IM de 90.

*Indice de robustez mandibular:(Espesor del cuerpo mandibular/Altura del cuerpo)  
x100*

*Indice fronto-goníaco:(Anchura bizigomática/Anchura frontal mínima) x100*

*Indice zigo-goníaco:(Anchura bigoníaca/Anchura bizigomática) x100*

Además de los índices referidos se consideran tres medidas angulares:

**Angulo mentoniano:** Formado por la intersección de la tangente a la rama horizontal y de la línea pogonion-reborde incisivo inferior.

**Angulo bregmático de SCHWALBE:** Formado por la intersección de la línea glabela-inion y de la línea glabela-bregma.

**Angulo frontal de SCHWALBE:** Formado por la intersección de la línea glabela-inion y por la tangente a la curva del frontal que pasa por la glabela (El término "glabelle" que emplea NOSSINTCHOUK corresponde a lo que TESTUT<sup>12</sup> llama eminencia nasal media o glabela, si bien, este último término no se aceptaba en la vigésima edición del Diccionario de la Lengua Española de la R.A.E. Otros textos<sup>15, 16</sup>

utilizan indistintamente los términos glabella y eminencia nasal a pesar de la salvedad lingüística señalada).

Tras el estudio de estos caracteres craneanos, NOSSINTCHOUK establece los grupos australoide, melanodermo, xantodermo y leucodermo. El interés identificativo de todas estas mediciones debe considerarse con prudencia , aunque la Odontología Forense ha aprendido a no despreciar ningún tipo de evidencia.

### **5.3 SEXO**

Las piezas con dismorfismo sexual son los incisivos superiores. AMOEDO, citado por CORREA<sup>5</sup>, estudia el diámetro mesiodistal de los incisivos superiores y sus resultados se resumen en la tabla siguiente:

<b>INCISIVOS SUPERIORES (En mm)</b>						
	<b>Centrales</b>		<b>Laterales</b>		<b>Diferencias</b>	
<b>Diámetro</b>	♂	♀	♂	♀	♂	♀
<b>Medio</b>	8.95	8.31	6.69	6.54	2.25	1.89
<b>Máximo</b>	11.00	9.80	8.50	8.30	4.00	3.00
<b>Mínimo</b>	7.50	7.10	5.10	5.40	0.90	1.00

Estos datos se deben tomar con las prevenciones usuales, al menos hasta que no se realicen estudios más extensos y no se posean datos para cada grupo racial específico.

BUHTZ y EHRHARDT, y posteriormente NICOLAS, se ocupan del estudio dimensional del órgano dentario en ambos sexos y concluyen algo, aparentemente, obvio: Los dientes de las mujeres son más pequeños que los de los hombres, siendo este signo una observación estadística y sin valor para la individualización<sup>10</sup>. LEEUVEN, estudiando forma y dimensiones dentales, llega a la misma conclusión, la imposibilidad de determinar el sexo en base a estas características.



Otros autores como SALMON-LEFEBVRE han estudiado la diferente implantación de los dientes según el sexo con resultados poco concluyentes

Es clásica la utilización del llamado Índice de AITCHINSON (Índice Incisivo) para poder diferenciar el sexo<sup>4,7</sup>:

$$IA = (\text{Diámetro M-D ICS} / \text{Diámetro M-D ILS}) \times 100$$

Se acepta que valores inferiores a 150 corresponden a varones y los superiores a 150 a mujeres. Estas diferencias podrían variar en función de un factor racial.

Otro carácter utilizado por AITCHINSON es el diámetro vestibulo-lingual de los premolares y molares, en los que los valores son mayores en el hombre que en la mujer.

Entre las diferencias óseas encontradas por AITCHINSON destacan:

- El ángulo mandibular es más abierto en la mujer.
- Escotadura sigmoidea poco pronunciada con una apófisis coronoides más embotada en el hombre.
- Arco zigomático más fuerte en el varón.
- Crestas supraorbitarias más importantes en el hombre.
- Relieves frontales más marcados en la mujer.

- Mastoides más voluminosas en el varón.
- Capacidad craneana más grande en el varón.

SCHRANZ y BARTHA estudiaron en 1963 las diferencias sexuales morfológicas de la dentadura humana y encontraron las siguientes diferencias:

- El diámetro vestibulo-lingual de los dientes es más pequeño en la mujer.
- El incisivo central superior tiene un diámetro mesio-distal mayor que el canino en la mujer, mientras que en el hombre esas dimensiones son iguales.
- La diferencia de las dimensiones mesio-distales entre incisivos centrales y laterales es más grande en la mujer que en el hombre, en concordancia con lo postulado por AITCHINSON.

Estos autores encontraron, también, diferencias en la frecuencia de presentación de diversas anomalías como hipoplasias, supernumerarios, agenesias y fusión de raíces, entre un sexo y otro aunque el valor identificativo de estos caracteres es bastante incierto.

Otra línea de investigación ha sido la de buscar diferencias en la composición de los materiales orgánicos e inorgánicos del órgano dentario según el sexo. Así,

**GALIPPE** encuentra diferencias en el valor de materia orgánica de los tejidos dentarios según la edad y el sexo y **CHANAY** ha dosificado la cantidad de elementos metálicos, encontrando tasas de potasio y cobre más elevadas en hombres que en mujeres. **BERENHOLC**, en 1972, estudió las diferencias bioquímicas en la dentadura humana. Para él, sólo el canino presenta diferencias, según el sexo, en su composición mineral, encontrándose en el varón mayor cantidad de calcio y magnesio y en la hembra más fósforo.

Debe citarse la determinación del sexo cromatínico, si disponemos de mucosa bucal. Se realiza un raspado de la mucosa, por ejemplo con un depresor lingual de madera y extendemos el producto sobre un portaobjetos. Se fija con alcohol-éter durante un período de 30 minutos a 24 horas (Según distintas técnicas) y se tiñe por los métodos de **PAPANICOLAU**, **PAPAMILTIADES** o **FEULGEN**. La cromatina de **BARR** aparece en el 40-60% de los núcleos celulares cuando se trata de mujeres y muy raramente en los hombres (0-5% de los núcleos)<sup>17, 18</sup>. El estudio de la cromatina de **BARR** puede realizarse también en pulpa dental.

Otros autores proponen el estudio de la cronología de la erupción dentaria para la determinación del sexo<sup>19, 20</sup>. La erupción de la segunda dentición es más precoz en la mujer que en el varón, estimándose esta diferencia en unos cuatro meses<sup>9, 17</sup>.

**PENNAFORTE** estudió 100 ortopantomografías (50 de cada sexo) evaluando seis parámetros:

- Diferencia entre anchura de incisivo central y lateral superiores.
- Angulo goníaco.
- Altura de hueso mandibular.
- Anchura bigoníaca.
- Anchura bicondilar.
- Distancia de la espina de Spix a la crista temporalis.

**Los resultados se resumen en la siguiente tabla:**

<b>MEDIDAS</b>	<b>♂</b>	<b>♀</b>
<b>Diferencia anchura incisivos superiores</b>	<b>≥ 2mm</b>	<b>&lt; 2mm</b>
<b>Angulo goníaco Derecho</b>	<b>≥ 121°</b>	<b>&lt; 121°</b>
<b>Angulo goníaco Izquierdo</b>	<b>≥ 125°</b>	<b>&lt; 125°</b>
<b>Altura hueso mandibular</b>	<b>≥ 30mm</b>	<b>&lt; 30mm</b>
<b>Anchura bigoníaca</b>	<b>≥ 103mm</b>	<b>&lt; 87mm</b>
<b>Anchura bicondilar</b>	<b>&gt; 125mm</b>	<b>&lt; 105mm</b>
<b>Distancia espina Spix-Crista temporalis</b>	<b>&gt; 11,5mm</b>	<b>≤ 11,5mm</b>

Para FRONTX el estudio de los parámetros de PENNAFORTE permiten obtener el 80% de éxito en la determinación del sexo. Si añadimos un carácter sexual óseo, como la talla del individuo, el porcentaje se eleva hasta el 88% de los sujetos, de los cuales en el 43% con una seguridad superior al 95%.

CORREA propone el estudio de la bóveda palatina y la morfología mandibular como coadyuvantes para determinar el sexo, procedimiento que también recoge

WHITTAKER<sup>5, 21</sup>.

#### **5.4 TALLA**

UBALDO CARREA ha elaborado un método matemático que nos permite calcular la talla del sujeto a partir de las dimensiones dentales. CARREA, como BONWILL, parte de los diámetros mesiodistales de un incisivo central, lateral y canino inferiores, cuya suma en milímetros constituye un arco de circunferencia que abarca a estos tres dientes. La cuerda de este arco es la medida fundamental del llamado diagrama dentario propuesto por CARREA<sup>17</sup>. CARREA la llama Radio-cuerda inferior. Considera que la talla humana debe estar entre dos medidas, una máxima proporcional al arco y otra mínima proporcional al radio-cuerda:

$$Talla Max. (cm) = (\text{Arco} \times 6 \times 10 \times 3.1416) / 2$$

$$Talla Min. (cm) = (\text{Radio-cuerda} \times 6 \times 10 \times 3.1416) / 2$$

$$\text{Radio-cuerda} = \text{Arco} \times 0.954$$

La talla del varón se acercaría a la talla máxima, mientras que la de la mujer se acercaría a la mínima<sup>9</sup>.

**VICENTE BLOISE en sus "Relaciones Odontométricas" desarrolló las ideas de BLACK acerca de la proporcionalidad de los dientes en la arcada. En las siguientes tablas se resumen sus hallazgos.**

**Tabla de diámetros mesio-distales (mm) (BLACK)**

<b>Maxilar superior</b>	<b>IC</b>	<b>IL</b>	<b>C</b>	<b>1PM</b>	<b>2PM</b>	<b>1M</b>	<b>2M</b>	<b>3M</b>
<b>Máximo</b>	<b>10</b>	<b>7</b>	<b>9</b>	<b>8</b>	<b>8</b>	<b>12</b>	<b>10</b>	<b>11</b>
<b>Medio</b>	<b>9</b>	<b>6.4</b>	<b>7.6</b>	<b>7.2</b>	<b>6.8</b>	<b>10.7</b>	<b>9.2</b>	<b>8.6</b>
<b>Mínimo</b>	<b>8</b>	<b>5</b>	<b>7</b>	<b>7</b>	<b>6</b>	<b>9</b>	<b>7</b>	<b>7</b>

<b>Maxilar Inferior</b>	<b>IC</b>	<b>IL</b>	<b>C</b>	<b>1PM</b>	<b>2PM</b>	<b>1M</b>	<b>2M</b>	<b>3M</b>
<b>Máximo</b>	<b>6</b>	<b>6.5</b>	<b>9</b>	<b>8</b>	<b>8</b>	<b>12</b>	<b>11</b>	<b>12</b>
<b>Medio</b>	<b>5.4</b>	<b>5.9</b>	<b>6.9</b>	<b>6.9</b>	<b>7.1</b>	<b>11.2</b>	<b>10.7</b>	<b>10.7</b>
<b>Mínimo</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>6.5</b>	<b>11.7</b>	<b>10.8</b>	<b>8</b>



**Proporcionalidad de cada diente en la arcada (BLOISE)**

Dientes	IC	IL	C	1PM	2PM	1M	2M	3M	TOTAL
<hr/>									
Max. Sup.	13.74%	9.77%	11.6%	10.99%	10.38%	16.33%	14.07%	13.12%	= 100%
<hr/>									
Max. Inf.	8.33%	9.10%	10.64%	10.64%	10.95%	17.28%	16.50%	16.50%	= 100%

**Proporcionalidad de los dientes anteriores**

Dientes	IC	IL	C	TOTAL
<hr/>				
Max. Sup.	39.130%	27.826%	33.043%	= 100%
<hr/>				
Max. Inf.	29.669%	33.417%	37.915%	= 100%

Esta proporcionalidad nos permite aproximar la talla de un individuo contando únicamente con un diente como indicio. En el caso que este indicio sea un diente superior, VALDERRAMA y CARREA han hallado que los dientes del maxilar superior son 1.5R-C (Radios-Cuerda) mayores que los inferiores, por lo que podremos utilizar las fórmulas propuestas por CARREA<sup>9, 17, 22</sup>.

En una observación personal tuve ocasión de aplicar el método propuesto por CARREA como intento de aproximación a la talla de un cadáver que se pretendía identificar. Se trataba de un varón de unos 55-60 años, de raza blanca, que sufrió un atropello ferroviario con estallido craneal y pérdida de masa encefálica y de todos los elementos óseos que constituyen la bóveda craneal y el macizo facial. Presentaba, entre, otras lesiones, fractura bilateral de tibia y peroné. El sujeto no estaba identificado y su aspecto era irreconocible. Se contaban con registros de las huellas dactilares, pero este dato es poco útil si el individuo no tenía antecedentes penales o estaba incluido en los archivos policiales de delincuentes. Interesaba, entre otras cuestiones, conocer la talla del sujeto, dato que no se podía conocer por la simple medición del cadáver dada la gran mutilación sufrida. En este caso, y dado que se habían perdido las piezas anteriores, se tomó el diámetro mesiodistal del segundo molar inferior (10 mm en ambas arcadas). Se utilizaron las tablas de proporcionalidad de los dientes en la arcada y, aplicando las fórmulas anteriores se encontró que la talla se aproximaría a los 160,10 cm. Este dato permitió relacionar el caso con una denuncia por desaparición de un individuo de 1,60 m de estatura, aproximadamente. La identificación se realizó al comparar las huellas dactilares del carnet de identidad del desaparecido con las del cadáver.

A pesar del resultado positivo en este caso serían necesarios estudios en nuestra población para establecer la verdadera validez del método.



**IDENTIFICACION HUMANA Y ANALISIS DEL A.D.N. EN PULPA DENTAL 36**

Nacimiento	9/10coron	9/10coron	9/10coron	9/10coron	7/10coron	1/2corona	1/2corona
1 Mes	Corona calcific.	Corona calcif.	Corona calcif.	Corona calcif.			
2 Mes					termina corona		
6 Mes	Termina 1/3 cerv.radic.	Idem	Idem	Idem		Termina corona	
7 Mes	Erupción				Acaba 1/3 cervical raíz		Termina corona
9 Mes		Termina 1/3 medio R	Erupción 9 mes	Erupción 10 mes			
12 Mes	Termina 1/3 medio R	Erupción	Termina 1/3 medio R.	Termina 1/3 medio R.		Termina 1/3 cervical R	
14 Mes				Termina calcific.	Termina 1/3 medio R.	Erupción	Termina 1/3 cervical R.
18 Mes	Termina calcific.	Termina calcific.	Termina calcific.		Erupción	Termina 1/3 medio R.	
24 Mes							Termina 1/3 medio R.
26 Mes					Termina calcific.		Erupción
30 Mes						Termina calcific.	
36 Mes							Termina calcific.
4 Año	Comienza resorción		Comienza resorción				

**IDENTIFICACION HUMANA Y ANALISIS DEL A.D.N. EN PULPA DENTAL 37**

5º Año	Comienza 1/3 medio	Comienza resorción	Comienza 1/3 medio	Comienza resorción			
6º Año	Comienza 1/3 cervical	Comienza 1/3 medio	Comienza 1/3 cervical	Comienza 1/3 medio			
7º Año	Caída	Comienza 1/3 cervical	Caída	Comienza 1/3 cervical		Comienza resorción	
8º Año		Caída		Caída		Comienza 1/3 medio	Comienza resorción
9º Año					Comienza resorción	Comienza 1/3 cervical	Comienza 1/3 medio
10º Año					Comienza 1/3 medio	Caída	Comienza 1/3 cervical
11º Año					Comienza 1/3 cervical		Caída
12º Año					Caída		
<b>EDAD</b>	<b>71-81</b>	<b>72-82</b>	<b>51-61</b>	<b>52-62</b>	<b>Canino</b>	<b>Primer molar</b>	<b>2º Molar</b>

<b>DENTICION PERMANENTE</b>
-----------------------------

<b>EDAD</b>	<b>Incisivo central</b>	<b>Lateral</b>	<b>Canino</b>	<b>Primer premolar</b>	<b>2º PM</b>	<b>Primer molar</b>	<b>2º Molar</b>	<b>Tercer molar</b>
6º Sem. intrauter.	Lámina dental	Idem	Idem	Idem	Idem	Idem	Idem	Idem
15º Sem						<b>Organo</b>		

**IDENTIFICACION HUMANA Y ANALISIS DEL A.D.N. EN PULPA DENTAL 38**

						delesmalte		
16 Sem.	Organo delesmalte	Organo delesmalte	Organo delesmalte	Organo delesmalte	Organo delesmalte			
17 Sem						Bulbo dentario		
18 Sem.	Bulbo dentario.	Bulbo dentario.	Bulbo dentario.	Bulbo dentario.	Bulbo dentario.	Saco dentario		
20 Sem.						Oclusión saco		
21 Sem.	Saco dentario.	Saco dentario.	Saco dentario.	Saco dentario.	Saco dentario.			
25 Sem.						Comienza calcif.		
Nacimiento.						Superf. oclusal		
3er.Mes							Órgano delesmalte	
9 Mes.	Oclusión saco dentario	Idem	Idem	Idem	Idem			
12 Mes.	Comienza calcif.	Comienza calcif.				Termina 1/3 oclusal	Bulbo dentar.	
14 Mes.							Saco dentar.	
18 Mes.							Oclusión saco	
24 Mes.	1/4 de	1/5 de				Mitad de		

**IDENTIFICACION HUMANA Y ANALISIS DEL A.D.N. EN PULPA DENTAL 39**

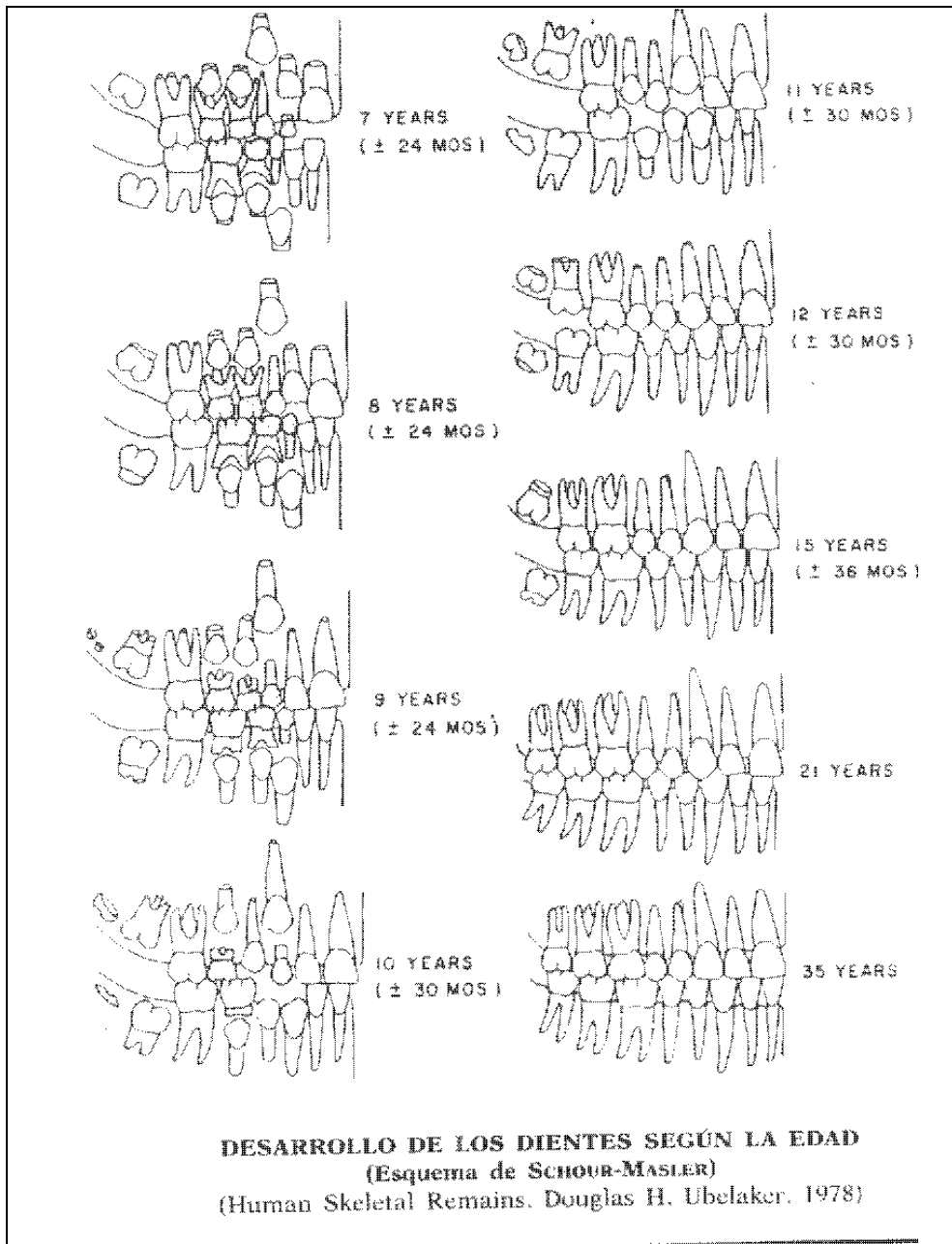
	corona	corona				corona		
26 Mes.			Comienza calcif.					
36 Mes.	2/4 de corona	2/5 de corona	1/5 de corona	Comienza calcif.		Termina 1/3 medio		Órgano delesmalte
4 Año.	3/4 de corona	3/5 de corona	2/5 de corona	Termina 1/3 oclusal	Comienza calcif.	Termina corona	Comienza calcif.	
5 Año.	Termina corona	4/5 de corona	3/5 de corona	Termina 1/3 medio	Termina 1/3 oclusal	Termina 1/3 cervic.	Superficie oclusal	
6 Año.	Termina 1/3 cervical R.	Termina corona	4/5 de corona	Termina corona	Termina 1/3 medio	Erupción	Termina 1/3 oclusal	Bulbo dentar.
7 Año.	Erupción	Termina 1/3 cervical R.	Termina corona		Termina corona	Termina 1/3 medio	Termina 1/3 medio C.	Saco dentar.
8 Año.	Termina 1/3 medio R	Erupción		Termina 1/3 cervic.			Termina corona	Oclusión saco
9 Año.		Termina 1/3 medio R.	Termina 1/3 cervical R		Termina 1/3 cervical	Termina calcif.		Comienza calcif.
10 Año.	Termina calcif.			Erupción			Termina 1/3cervical	Termina 1/3 oclusal
11 Año.		Termina calcif.	Termina 1/3medioR		Erupción			Termina 1/3 medio
12 Año.			Erupción	Termina calcif.			Erupción	Termica corona
13 Año.					Fin calcif.			

**IDENTIFICACION HUMANA Y ANALISIS DEL A.D.N. EN PULPA DENTAL 40**

14 Años.			Termina calcif.				Termina calcif.	Termina 1/3 cervi- cal R.
16 Años.								Termina 1/3 medio R
18 Años.								Erupc.
20 Años.								Termina calcif.
<b>EDAD</b>	<b>Incisivo central</b>	<b>Lateral</b>	<b>Canino</b>	<b>Primer premolar</b>	<b>2º PM</b>	<b>Primer molar</b>	<b>2º Molar</b>	<b>Tercer molar</b>

**FIGURA 3: Cronología de la dentición.**





**FIGURA-4**

**BODECKER, señaló que con la edad el diente sufría distintos cambios: abrasión del esmalte, crecimiento de dentina secundaria, aposición de cemento en la raíz y retracción gingival consecuyente a enfermedad periodontal<sup>4</sup>.**

**En el adulto es de utilidad el método de GUSTAFSON (1950), estudiado también por DALITZ (1962) y MILES (1963). GUSTAFSON, además de los procesos señalados por BODECKER, valora la rizolisis y el aumento de la transparencia del diente. Estudia, por tanto, seis procesos evolutivos<sup>23</sup>:**

- 1- Abrasión.**
- 2- Parodontosis.**
- 3- Dentina secundaria.**
- 4- Aposición de cemento.**
- 5- Reabsorción de la raíz.**
- 6- Transparencia de la raíz.**

**Para cada proceso confecciona una escala con valores que van de cero a tres.**

<b>ABRACION</b>	<b>DENTINA SECUNDARIA</b>
<b>0- No hay abrasión.</b>	<b>0- No hay dentina secundaria.</b>
<b>1- Abrasión del esmalte.</b>	<b>1- Un poco.</b>
<b>2- Abrasión hasta dentina.</b>	<b>2- Media pulpa ocupada por dentina secundaria.</b>
<b>3- Abrasión hasta la pulpa.</b>	<b>3- Toda la pulpa ocupada por dentina secundaria.</b>
<b>CEMENTO</b>	<b>ENFERMEDAD PERIODONTAL</b>
<b>0- No hay aposición de cemento.</b>	<b>0- Normal.</b>
<b>1- Ligera aposición.</b>	<b>1- Ligera retracción.</b>
<b>2- Moderada.</b>	<b>2- Hasta media raíz.</b>
<b>3- Gran aposición.</b>	<b>3- Gran retracción.</b>
<b>REABSORCION RADICULAR</b>	<b>TRANSPARENCIA DE LA RAIZ</b>
<b>0- No hay reabsorción.</b>	<b>Valorada también de 0 a 3.</b>
<b>1- Ligera.</b>	
<b>2- Moderada.</b>	
<b>3- Gran reabsorción.</b>	

Cada diente recibe una puntuación (de 0 a 3) por cada proceso. El valor de la puntuación media de los dientes examinados se lleva a la tabla de correlación de GUSTAFSON y en el punto donde se produce la intersección con la línea de regresión,

indica la edad con un error de  $\pm 5$  años<sup>4, 6, 7,8, 9, 17, 23</sup>. Las Figuras 5 y 6 ilustran estos conceptos. El método de GUSTAFSON valora una serie de parámetros que no sólo son influidos por la edad, sino que presentan una gran variabilidad por distintas causas: la abrasión no es sólo fisiológica, sino que varía con la dieta o el bruxismo; la periodontitis está influida por los hábitos higiénicos y, por otro lado, en la periodontitis juvenil podemos encontrar pérdida ósea en jóvenes; la dentina secundaria varía en función de la capacidad de regeneración y defensa ante una agresión y es variable de un individuo a otro; la aposición de cemento radicular también varía en función del trauma oclusal; la reabsorción radicular puede influenciarse por infecciones y traumatismos que pueden causar rizolisis. Parece ser que la transparencia radicular es el método más fiable para determinar la edad en el adulto y el que menos se influye por otras circunstancias personales o ambientales.

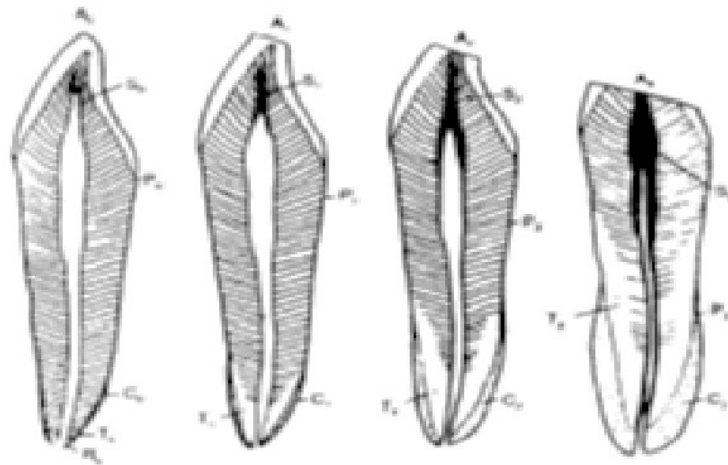
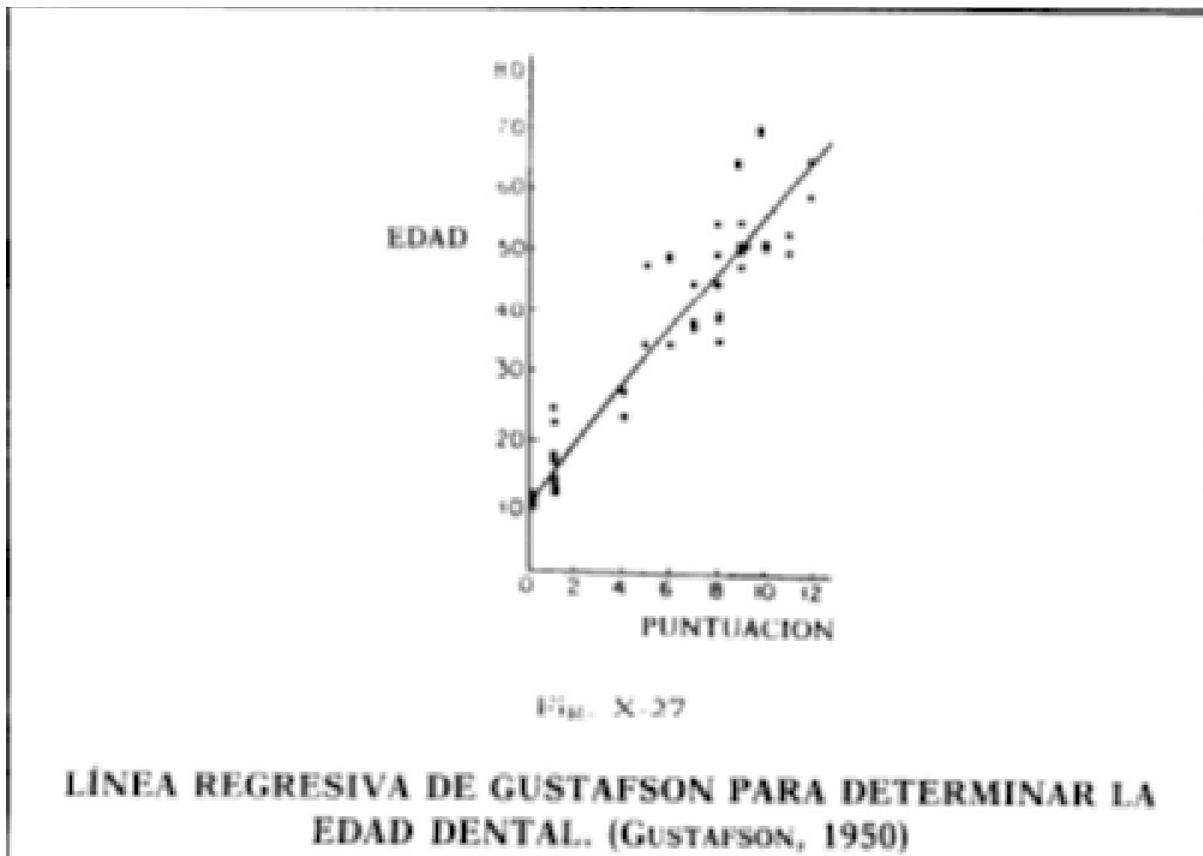


Fig. X-26

**ESQUEMA DE LOS CRITERIOS DE GUSTAFSON PARA ESTIMAR LA EDAD EN EL DIENTE (de 0-3)**

- |   |   |   |                          |
|---|---|---|--------------------------|
| A | abrasión  | T | transparencia de la raíz |
| S | deposición secundaria de dentina                    | R | reabsorción de la raíz   |
| P | paradentosis (migración de la membrana periodontal) |   |                          |
- (GUSTAFSON, 1950)

**FIGURA 5: Modificaciones del diente en la edad adulta**  
**(GUSTAFSON)**



**FIGURA-6**

Aparte del método de GUSTAFSON, citado hasta la saciedad en todos los textos que se refieren a la Odontología Forense, NOSSINTCHOUK recoge otros métodos interesantes en la determinación de la edad a través de las evidencias dentales:

- **METODO INTUITIVO DE MILES:** Preconiza un método intuitivo que evita recurrir a la curva de GUSTAFSON. Los criterios de estudio de este método son la abrasión, el estado de los tejidos de sostén y el espesor del cemento. Los resultados son válidos para sujetos de menos de 35 años y muy discordantes para sujetos de 40 a 70 años.

- **TECNICA DE LA SUPERFICIE PULIDA DE EMERY:** Esta técnica comprende un estudio macroscópico del diente, in situ o aislado; estudio de la superficie pulida por abrasión siguiendo el eje mayor del diente y un estudio de la lámina delgada conforme al método de GUSTAFSON. Los resultados con este método son superponibles al método de GUSTAFSON.

- **TECNICAS COMPLEMENTARIAS DE LA DE GUSTAFSON:** El estudio de los canaliculos dentinarios (LAMENDIN) utilizando el microscopio electrónico de barrido concluye que no es posible establecer una relación constante entre las modificaciones en los canaliculos dentinarios y las variaciones de edad<sup>24, 25</sup>. Otra técnica está basada en la colorimetría radicular e intenta correlacionar las variaciones de tinción radicular y las variaciones de edad.

- **TECNICA DE SHIRO-ITO:** En esta técnica se estudian las variaciones fisiológicas de los constituyentes de la corona, el esmalte, la dentina y la pulpa. Después de la preparación de los dientes en cortes delgados, la superficie de cada constituyente se mide y podemos definir un índice dento-coronario según la fórmula:

$$Y = \frac{\text{Superficie Esmalte} + \text{Superf. cavidad pulpar coronaria}}{\text{Superficie de la dentina coronaria}} \times 100$$

Este índice se correlaciona negativamente con la edad. Además es diferente para cada grupo de dientes. Una edad X, desconocida, puede ser estimada aplicando una de las ecuaciones siguientes:

- Para todos los dientes:

$$X = 0.38Y + 75.55 (\pm 7.3 \text{ años})$$

- Grupo incisivo:

$$X = 0.41Y + 78.88 (\pm 6.7 \text{ años})$$

- Grupo premolar:

$$X = 0.52Y + 89.89 (\pm 8.6 \text{ años})$$

- Grupo molar:

$$X = 0.25Y + 67.22 (\pm 6.9 \text{ años})$$

HAERTIG y DURIGON han comparado los métodos de GUSTAFSON y de SHIRO-ITO concluyendo que el método de GUSTAFSON es más rápido y más preciso.

Existen estudios que establecen una relación entre altura y anchura de la cámara pulpar y la edad, aunque este método no es un método fiable para determinar la edad<sup>26</sup>.

## **5.6 INDIVIDUALIDAD**

Cada individuo posee en su dentadura suficientes particularidades para establecer su identidad. Si contamos con una dentadura completa tenemos 32 piezas con cinco superficies, es decir, 160 superficies que pueden tener lesiones, estigmas



profesionales, obturaciones, reconstrucciones protésicas, en definitiva características distintivas que ayudarán en la identificación. Para que todos estos datos puedan aportar información identificadora es necesaria la comparación de estos Registros post-mortem con informaciones previas a la muerte del sujeto, con Registros ante-mortem, no siempre existentes. La importancia de la Ficha Odontológica que se realiza como método identificativo en determinadas profesiones de riesgo es innegable. Otras veces deberemos conseguir la Historia Clínica y Dental realizada por el odontólogo que presuntamente atendió en vida al sujeto a identificar, si ello es posible. En ocasiones podemos servirnos de la comparación entre estudios radiológicos ante-mortem y post-mortem, siendo de destacar, en estos casos la importancia de los estudios ortopantomográficos por la cantidad de información que proporcionan<sup>21, 27</sup>.

Para concluir este repaso de los métodos clásicos en Odontología Forense citaré dos tipos de estudios menos extendidos, habida cuenta de las limitaciones que presentan por la destrucción de los tejidos blandos por efecto de la putrefacción post-mortem: la PALATOSCOPIA y la QUEILOSCOPIA.

La palatoscopia es el estudio de las rugosidades palatinas, las cuales son individuales, inmutables, perennes y diversiformes. En 1924 ARMANDO LOPEZ DE LEON publicó en Guatemala un libro titulado "Odontología Criminal" en el que dedica especial atención a las rugosidades palatinas, posteriormente TROBO HERMOSA, CARREA, BELTRAN y BASAURI, entre otros han tratado el tema y se ha propuesto una clasificación de las rugas y distintos métodos de codificación del llamado palatograma con fines identificatorios<sup>4, 5, 6, 7, 9, 17</sup>.

La queiloscopya es el estudio de las impresiones de los labios (líneas, estrías, fisuras) que según las aportaciones de distintos autores difieren de una persona a otra y pueden ser utilizadas en identificación humana. Gozan de las características de individualidad, especificidad, invariabilidad, inmutabilidad y posibilidad de clasificación<sup>4, 28, 29</sup>.

La importancia de estos dos métodos está limitada en identificación cadavérica, como ya se ha dicho, por los cambios producidos por la putrefacción y por la inexistencia, generalmente, de registros previos que permitan la comparación. La queiloscopya tiene un mayor interés en criminalística, en la identificación de sujetos a través de huellas labiales.

#### **6- ESTUDIOS GENETICOS EN ODONTOLOGIA FORENSE.**

Los métodos analizados en el capítulo anterior utilizan, en los casos más favorables, la comparación de registros ante-mortem y post-mortem como método identificativo. En muchas ocasiones esto no es posible por la inexistencia de registros previos a la muerte. En otras ocasiones los resultados de los estudios tiene un valor meramente orientativo con márgenes de error muy elevados.

Hoy, parece evidente que toda la información de un individuo, y por tanto sus características identificativas se encuentran en su código genético. En la década de los 30 se introdujo el estudio de los marcadores genéticos eritrocitarios en material biológico distinto a la sangre fresca obtenida por punción venosa<sup>30</sup>. Posteriores avances,

con la aplicación de cada vez más marcadores polimórficos hicieron que el grado de individualización aumentara al tiempo que se introducían los marcadores eritrocitarios, los marcadores plasmáticos, los marcadores enzimáticos y los marcadores leucocitarios. Los estudios del sistema HLA en muestras de sangre fresca consiguen una gran individualización. HUGUET et al. decían en 1987<sup>30</sup> que el estudio del polimorfismo del ADN permitiría en un futuro identificar al individuo por sí mismo. Hoy ya es aquel futuro.

Los marcadores genético-moleculares son un conjunto de caracteres que poseen una herencia mendeliana simple (Para cada uno de estos caracteres, el individuo tiene dos alelos, uno materno y otro paterno), son discontinuos, con penetrancia y expresividad totales, casi siempre presentes en el nacimiento o antes y no influenciados por el ambiente<sup>31</sup>. El problema es que el número de marcadores no sanguíneos es realmente escaso (Únicamente la amilasa, esterasa, proteínas estructurales y carácter secretor en la saliva; el pepsinógeno en orina y las carboximetil-queratinas en el pelo) y, por tanto, su aplicación en relación al tema que nos ocupa es realmente escasa.

En 1985, JEFFREY publica sus estudios sobre la utilización del ADN en la identificación forense, siendo estos trabajos de gran trascendencia en identificación humana, en criminalística y en investigación de la paternidad<sup>32</sup>.

El ADN, soporte del código genético se encuentra presente en todas las células del organismo; su localización es en el núcleo celular, aunque también encontramos ADN en las mitocondrias (ADN mitocondrial), con características y utilidades forenses

distintas al ADN génico<sup>31, 32, 33, 34, 35</sup>.

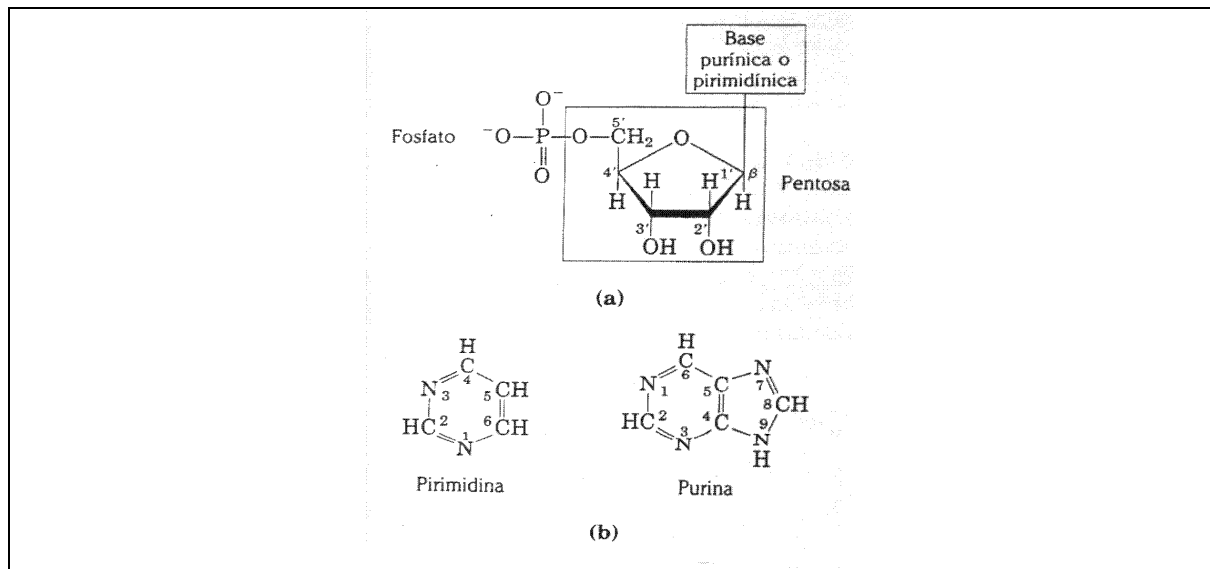
El genoma humano está formado por 6000 millones de pares de bases distribuidas desigualmente en 23 pares de cromosomas. Este ADN génico se divide en dos tipos: ADN codificante, formado por los fragmentos que contienen la secuencia primaria de los aminoácidos de las proteínas codificadas por ellos (genes), y ADN no codificante, que son regiones a las que hoy no se les atribuye capacidad codificante alguna<sup>35, 36, 37, 38</sup>. En este último grupo destacan los fragmentos formados por un número variable de repeticiones en tándem (VNTR) debido a su gran variabilidad genética interindividual y, por tanto, su gran diversidad entre las personas (Polimorfismo)<sup>35</sup>. En este capítulo se tratará del ADN y de como estudiar estos VNTR, así como de otras pruebas biológicas de interés en Odontología Forense.

### **6.1-ADN**

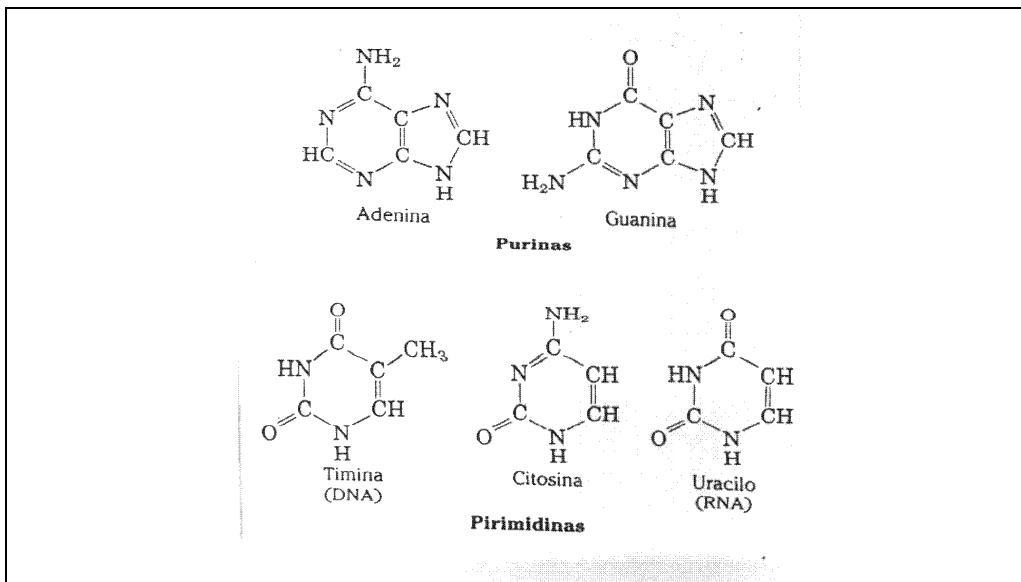
En "PRINCIPIOS DE BIOQUIMICA" (Un texto clásico para los estudiantes de ciencias biomédicas), LEHNINGER nos dice que los ácidos nucleicos son los depositarios del guión de la historia que tiene lugar en la célula. En efecto, tanto el ácido desoxirribonucleico (ADN) como el ribonucleico (ARN) son los depositarios moleculares de la información genética. La estructura de cada una de las proteínas, y en último término de cada uno de los componentes celulares, es producto de la información programada en la secuencia de nucleótidos de los ácidos nucleicos de la célula<sup>39</sup>.

Los ácidos nucleicos son polímeros de nucleótidos. Los nucleótidos están

formados por tres componentes característicos, una base nitrogenada, una pentosa y un fosfato. El ADN contiene dos bases purínicas principales (también encontramos otras menos frecuentemente) la adenina (A) y la guanina (G), y dos bases pirimidínicas principales, la citosina (C) y la timina (T) (a diferencia del ARN que posee uracilo en vez de timina).



**FIGURA-7: (a) Estructura general de los nucleótidos con la numeración convencional de las pentosas. (b) Los compuestos de los que derivan los nucleótidos y ácidos nucleicos. (De "Principios de Bioquímica" de A. LEHNINGER).**

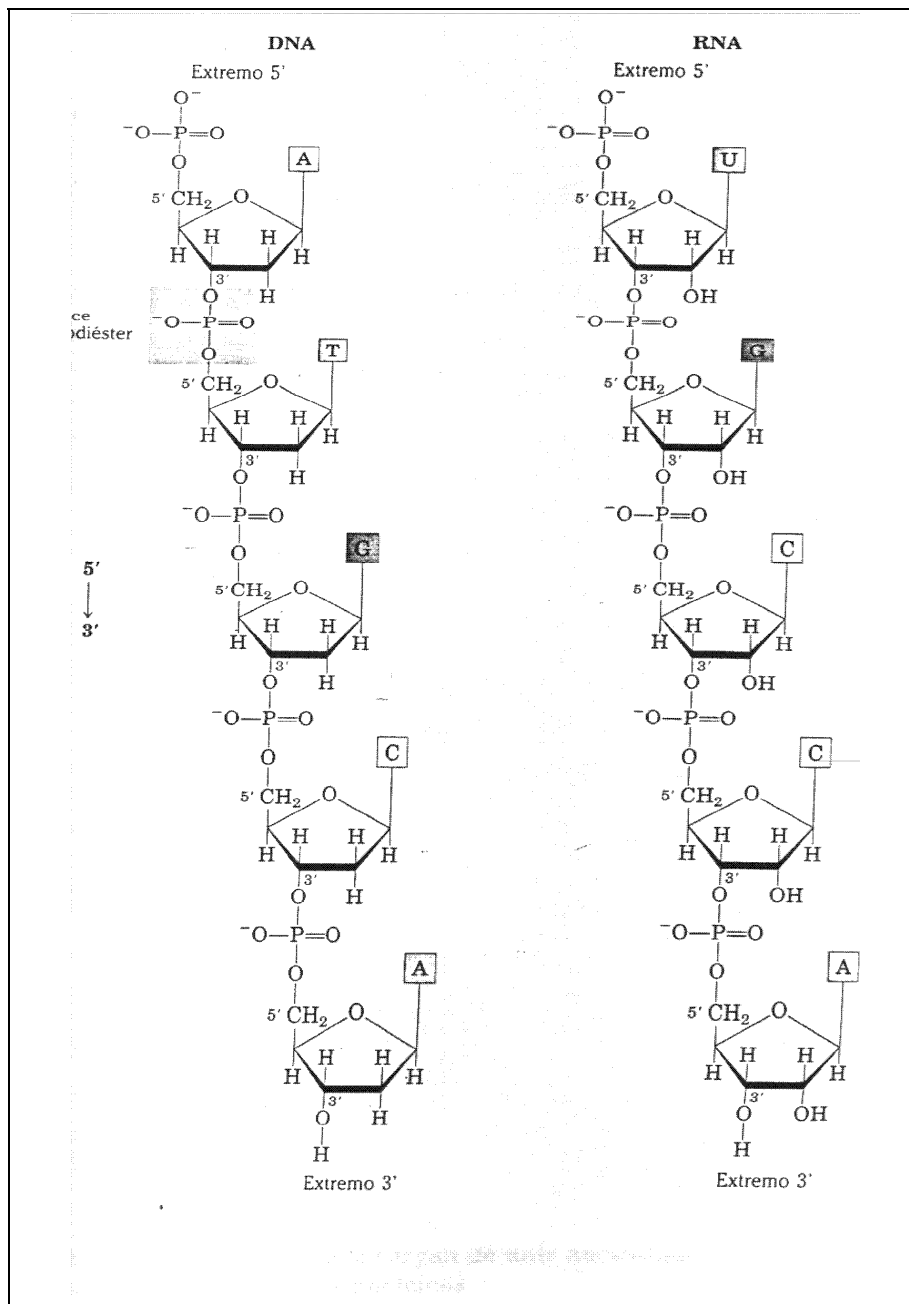


**FIGURA-8: Las bases purínicas y pirimidínicas principales en los ácidos nucleicos. ("Principios de Bioquímica". A. LEHNINGER).**

La pentosa del ADN es la 2'-desoxi-D-ribosa. Los nucleótidos sucesivos del ADN están unidos covalentemente mediante puentes de grupo fosfato. El grupo hidroxilo en 5' de un nucleótido está unido al grupo hidroxilo en 3' del siguiente nucleótido por un enlace fosfodiéster. Así el esqueleto covalente del ADN consiste en unidades alternas de grupos fosfato y residuos de pentosa, mientras que las bases son grupos laterales unidos al esqueleto a intervalos regulares. Los esqueletos covalentes del ADN son hidrofílicos. Los grupos hidroxilo de los residuos de azúcar forman enlaces de hidrógeno con el agua. Los grupos fosfato tienen un pK cercano a cero y están completamente ionizados y, por tanto, cargados negativamente a pH 7; en consecuencia, el ADN es un ácido.

Todos los enlaces fosfodiéster de las cadenas de ADN tienen la misma orientación

a lo largo de la secuencia, por lo que la cadena lineal del ácido nucleico tiene una polaridad específica y extremos 3' y 5' diferenciados. La secuencia de bases está escrita en la dirección 5' → 3'. Las secuencias largas de A, T, G y C codifican en el ADN la información genética<sup>39, 40</sup>. En la figura n° 9 se refleja el esqueleto covalente del ADN y del ARN.



**FIGURA-9: Estructuras del esqueleto covalente del ADN y del ARN ("Principios de Bioquímica". A. LEHNINGER)**

Las bases nitrogenadas interactúan entre sí mediante interacciones hidrofóbicas de apilamiento (que incorporan una combinación de interacciones de van



der Waals y del tipo dipolo-dipolo) y mediante enlaces de hidrógeno. Estos enlaces de hidrógeno permiten la asociación complementaria de dos, y en ocasiones de tres, cadenas de ácido nucleico. Los patrones de formación de enlaces de hidrógeno más importantes son los definidos por WATSON y CRICK en 1953, según los cuales, en el ADN A se enlaza específicamente con T y G se enlaza con C. El apareamiento específico de las bases permite la duplicación de la información genética por la síntesis de cadenas de ácido nucleico complementarias a las ya existentes.

Como sucede en las proteínas, en los ácidos nucleicos distinguimos distintas estructuras que veremos seguidamente.

La estructura primaria de los ácidos nucleicos es su estructura covalente y secuencia de nucleótidos. Cualquier estructura regular y estable adoptada por algunos o todos los nucleótidos puede ser considerada como estructura secundaria, mientras que se denomina estructura terciaria al plegamiento complejo de grandes cromosomas en el nucleóide bacteriano o en la cromatina eucariota.

En 1953 WATSON y CRICK, basándose en los trabajos de CHARGAF y de FRANKLIN y WILKINS postularon un modelo tridimensional para la estructura del ADN formado por dos cadenas helicoidales de ADN formando una doble hélice dextrógira en donde, además, las hebras son antiparalelas (sus enlaces fosfodiéster 5', 3' tienen direcciones opuestas). Ambas cadenas no son, evidentemente, idénticas sino complementarias.

El flujo de información genética va desde el ADN hasta el ARN y las proteínas<sup>40</sup>. La síntesis del ARN a partir de ADN molde es la llamada transcripción, mientras que la síntesis de una proteína a partir de un molde de ARN es la llamada traducción.

Los cromosomas eucarióticos contienen una sola molécula de ADN de doble hélice. Por otro lado, el ser humano posee 23 pares de cromosomas presentes en todos los núcleos celulares.

## **6.2-ADN Y CIENCIAS FORENSES**

Para que el estudio del ADN pueda ser de utilidad en Medicina Legal ha de cumplir una serie de requisitos. Concretamente:

-El ADN se transmite siguiendo las leyes de Mendel. Por tanto, en un núcleo celular de cualquier persona, la mitad del ADN procede del padre y la otra mitad de la madre.

-El ADN tiene gran estabilidad en el medio ambiente, siendo posible su aislamiento e identificación en células con días, meses o años de antigüedad. Se ha aislado ADN en momias con varios miles de años, incluso, DESALLE, del Departamento de Entomología del neoyorquino Museo Americano de Historia Natural ha logrado amplificar el fragmento 16S de un ADN mitocondrial ribosomal aislado de una termita fosilizada en ámbar hace 25 o 30 millones de años<sup>41</sup>.

-Su presencia en todos los núcleos celulares facilita la obtención de indicios en criminalística y es útil con fines identificatorios.

-Las cadenas de ADN presentan zonas en que los pares de bases se repiten de una forma secuencial y determinada, específicas en longitud y localización para cada persona. Tal como JEFFREY lo enunció en 1985: "Las regiones minisatélites hipervariables que están dispersas en el genoma humano muestran fragmentos de restricción de longitud polimórfica (RFLP) debido a las diferencias alélicas en el número de repeticiones en serie contenidas en el núcleo de una determinada región o fragmento de ADN"<sup>32</sup>.

Por todo lo anterior se ha considerado al ADN como una huella dactilar genética (genetic fingerprint) en un claro intento literario de confundir la parte con el todo, ya que hasta las huellas dactilares están determinadas genéticamente<sup>32, 33, 35, 36, 38, 39, 41, 42</sup>.

La posibilidad de conseguir la identificación de una persona mediante el ADN se

basa en el estudio de los fragmentos de restricción de longitud polimórfica. Estos fragmentos de restricción presentan una longitud variable, lo que se debe, bien a una mutación en la secuencia de bases que ha de reconocer la enzima restrictora (polimorfismo mutacional puntual o polimorfismo de las dianas de restricción), o bien, a una alteración de la longitud de la secuencia de ADN por inserción o delección de un número determinado de pares de bases (polimorfismo de longitud o polimorfismo de inserción/delección). Los polimorfismos de longitud se asocian a regiones hipervariables, zonas de ADN donde los pares de bases se repiten en tandem un determinado número de veces; a estas zonas se les denomina minisatélites o satélites, los cuales son válidos para la identificación del individuo.

El polimorfismo resulta de las diferencias alélicas en el número de repeticiones (tal vez a causa de errores en la mitosis y meiosis); en general aparecen sistemas multialélicos mostrando índices de heterozigosidad muy elevados.

Polimorfismo genético se define como el carácter mendeliano que existe en una población determinada y presenta, como mínimo dos alelos, donde el alelo que se presenta con menor frecuencia, es superior al 0.5% (otros autores ponen este límite entre el 0.1% y el 1%)<sup>41, 43, 44, 45, 46, 47</sup>.

Con el empleo de sondas específicas (fragmentos de ADN cuya secuencia conocemos y que es complementaria para un minisatélite determinado) se puede lograr, tras la hibridación, la identificación empleando un revelador adecuado.

### **6.3-TECNICAS ANALÍTICAS**

El proceso de análisis del ADN consiste en la extracción del ADN genómico, la digestión con endonucleasas de restricción, la electroforesis en geles de agarosa, la transferencia a membranas de nylon o nitrocelulosa, la hibridación con una sonda marcada y el revelado, que dependerá del tipo de marcado de la sonda (métodos isotópicos y no isotópicos)<sup>42, 46</sup>.

De modo genérico se describe a continuación el método analítico para,

posteriormente, comentar las particularidades propias de las muestras dentales.

### **6.3.1-OBTENCION DEL ADN**

En general, para la purificación del ADN interesa un tejido en que la relación ADN/otras moléculas biológicas sea elevada, por tanto se utilizan, idealmente, las células sanguíneas nucleadas (leucocitos), aunque la técnica es válida para otros tipos celulares. Se siguen los siguientes pasos:

a/ **HOMOGENEIZACION:** Obtenemos núcleos enteros y el resto de componentes citoplasmáticos.

b/ **CENTRIFUGACION SUAVE:** Para que los núcleos precipiten y los restos citoplasmáticos queden en el sobrenadante.

c/ **RESUSPENSION DE LOS NUCLEOS.**

d/ **ESTALLIDO DE LOS NUCLEOS:** Shock osmótico para liberar la cromatina (ADN, ARN y proteínas). Existe un aumento súbito de la viscosidad de la solución coincidiendo con la ruptura de la membrana nuclear quedando la cromatina desnaturalizada libre en el medio.

e/ **ELIMINACION DE ARN Y PROTEINAS** de la solución ya que son contaminantes indeseables. Para ello, el método más usado es la extracción fenólica (fenol-cloroformo) que aprovecha la propiedad del ADN de ser muy hidrofílico al presentar muchos grupos fosfato en su exterior<sup>39, 40, 46</sup>.

f/ **CUANTIFICACION DE LA CONCENTRACION DE ADN:** El método más usual es por lectura espectrofotométrica.

### **6.3.2 DIGESTION DEL ADN CON ENZIMAS DE RESTRICCION.**

Se utilizan enzimas de restricción del tipo II que reconocen secuencias específicas

de 4 ó 6 nucleótidos con simetría de giro de 180° y rompen por la misma diana dejando fragmentos con extremos conocidos. Es decir, estas enzimas proporcionan una forma de cortar el ADN de cualquier origen en secuencias específicas, produciendo, por tanto, una población heterogénea de fragmentos de extremos idénticos.

Existen endonucleasas de restricción de tipo I, II y III. Las de tipo I cortan el ADN en lugares al azar, que pueden estar a 1000 pares de bases o más de la secuencia de reconocimiento. Los enzimas de tipo III cortan el ADN a unos 25 pares de bases de la secuencia de reconocimiento. Los de tipo II, aislados por primera vez por HAMILTON SMITH son más simples y cortan el ADN en la misma secuencia de reconocimiento<sup>39, 42, 46, 48</sup>.

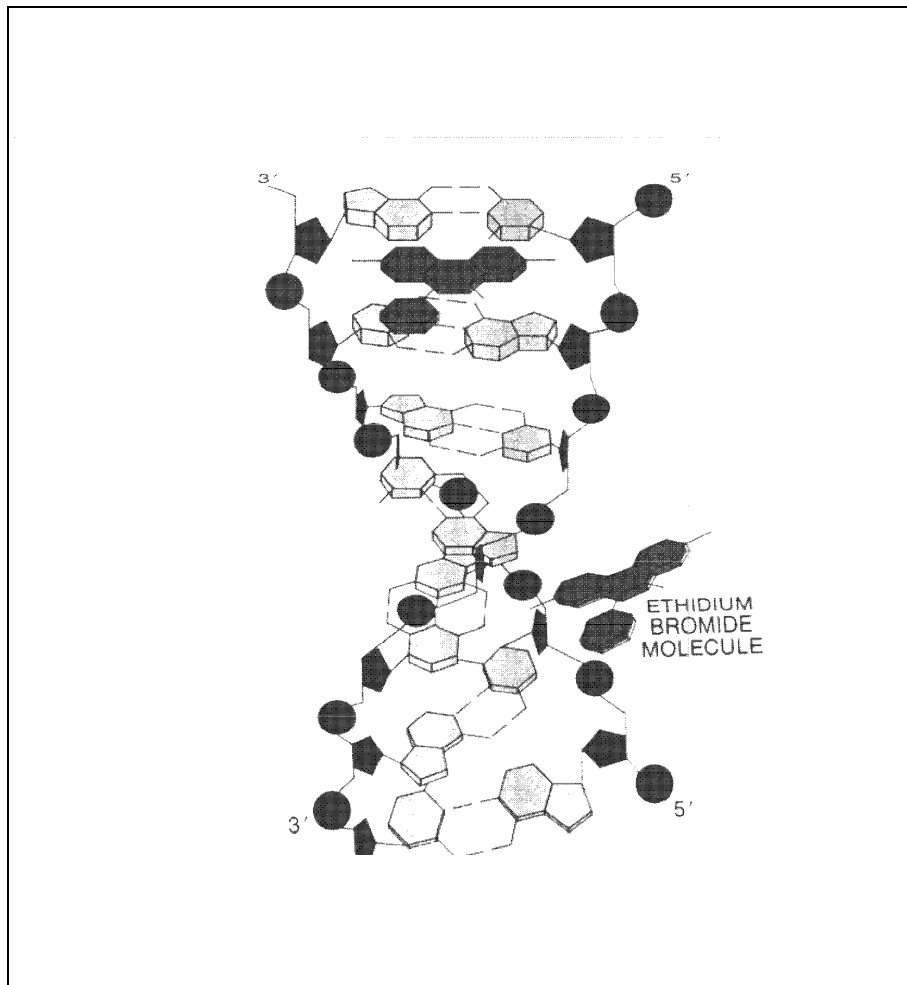
### **6.3.3 SEPARACION ELECTROFORETICA DEL ADN DIGERIDO.**

En 1970 NATHANS introdujo la electroforesis en gel de poliacrilamina como método simple y rápido para separar los fragmentos de restricción del ADN. Ya se ha dicho que el ADN es un ácido y que los grupos fosfato tienen un pK cercano a cero y están completamente ionizados y, por tanto, cargados negativamente a pH 7<sup>39</sup>. Si colocamos fragmentos de ADN en un campo eléctrico éstos migrarán hacia el polo positivo y se alejarán del negativo, migrando más o menos en razón inversa a su tamaño.

Con posterioridad, SAMBROOK y col. introdujeron dos variaciones; sustituyeron el gel de poliacrilamina por gel de agarosa y, para visualizar los fragmentos una vez finalizada la electroforesis, al preparar el gel se le añade Bromuro de Etidio que se intercala entre las dos cadenas de ADN y al iluminar con luz ultravioleta observamos las bandas por fluorescencia. Esta técnica es extraordinariamente sensible, pudiéndose detectar cantidades de ADN del orden de los 5 ng (0.005 µg)<sup>37, 42, 46, 49</sup>.

Las muestras en el gel se colocan unas al lado de las otras. Así, en estudios de

paternidad se colocan en el orden madre-hijo-supuesto padre, mientras que en atentados sexuales colocaríamos muestras de ADN de la víctima-muestra de toma vaginal-ADN de presuntos culpables. Con fines identificatorios, y para el caso que nos ocupa, colocaríamos ADN del material dental objeto de estudio junto al obtenido de familiares o padres. Es decir, realizaríamos una especie de investigación de paternidad en que la fuente de material genético es el diente. En ambos extremos se coloca la muestra de un marcador de talla, de un genoma del que conocemos su mapa de restricción (Sus dianas para uno o varios enzimas de restricción conocidos). Este marcador se utiliza para poder calcular la longitud de los fragmentos de ADN problema<sup>46, 48</sup>.



**FIGURA 10- Intercalación del Bromuro de Etidio en la hélice de ADN.**

#### **6.3.4 DESNATURALIZACION DE LOS FRAGMENTOS DE ADN**

Para poder hibridar los fragmentos de ADN con la sonda complementaria hemos de romper la doble hélice de ADN de modo que queden libres las dos cadenas simples. Aparte de distintas sustancias el calor es una técnica sencilla y económica de desnaturalización del ADN.

**6.3.5 TRANSFERENCIA A UN FILTRO DE NITROCELULOSA:** Se coloca un filtro de nitrocelulosa o nylon encima del gel. A través de una solución tampón se establece una corriente de capilaridad ascendente, transfiriéndose las cadenas de ADN

monocatenario del gel al filtro, uniéndose el ADN irreversiblemente al filtro de nitrocelulosa por enlaces covalentes al sufrir éste un proceso de calentamiento durante un tiempo determinado.

La técnica empleada es el SOUTHERN BLOTTING. Consiste en poner sobre el gel la membrana de nylon o nitrocelulosa, y sobre ésta papel de filtro grueso y un peso entre 0.5 y 1.5 Kg. Una vez realizada la transferencia se deja secar a temperatura ambiente para introducirla luego en un horno a 80° con lo consigue la fijación definitiva de la membrana.

### **6.3.6 HIBRIDACION**

Es la colocación del filtro de nitrocelulosa en una solución que contenga la sonda específica, de tal modo que si existe en el filtro una secuencia altamente complementaria a la sonda se formará en el lugar un híbrido (cadena dúplex).

Hay que considerar que no toda la superficie del filtro retiene ADN, lo cual es un problema, ya que la sonda específica se unirá preferentemente a los lugares vacíos del filtro antes que a su secuencia de ADN complementaria. Para evitar esto se realiza una prehibridación, es decir, bloqueamos los lugares de unión inespecíficos, para ello se añade a la membrana de nylon un ADN inespecífico (aquel que contenga una secuencia de nucleótidos no-complementarios con las sondas que se pretendan usar). Todo el área del filtro donde no existía ADN quedará bloqueada por el ADN inespecífico. Tras la prehibridación podremos realizar la hibridación. Primero se pone el filtro en contacto con una solución de ADN inespecífico para que busque su secuencia complementaria e hibride. Seguidamente disponemos ya del filtro en condiciones para realizar la hibridación con la sonda específica, que sólo se unirá a una secuencia del filtro altamente complementaria a ella. Acabada la hibridación, el filtro se lava y sólo quedan fijados en él los fragmentos de ADN que se han hibridado con la sonda específica<sup>42, 46, 48,</sup>



### **6.3.7 REVELADO**

El revelado se realiza según el sistema de marcaje de la sonda específica. La sonda se acostumbra a marcar de forma radioactiva y con  $P^{32}$  con una marca uniforme e interna por la técnica de NICK TRANSLATION (Introducción al azar de nucleótidos marcados, uno de los nucleótidos está marcado y con ayuda de una polimerasa se unirá a la sonda). Otro sistema de marcaje es mediante alguna sustancia que se ponga de manifiesto tras una reacción colorimétrica (biotina o peroxidasa)<sup>42, 50</sup>.

Se utiliza el  $P^{32}$  por sus cualidades de:

- Alta energía con un poder de penetración elevado y un corto espacio de exposición de la película.

- Alta sensibilidad: aunque existan pocas moléculas marcadas en el medio, se detectarán.

- Vida muy corta (aproximadamente un mes). Es una cualidad ambivalente, beneficiosa en cuanto a contaminación, perjudicial en cuanto a caducidad.

Debido a la peligrosidad de la manipulación de este isótopo se ha intentado utilizar el  $S^{35}$ , de características bastante aceptables y no tan peligroso.

Para la detección de los recombinantes (Sonda+secuencia de ADN hibridado) se utiliza la autorradiografía o la fluorografía. El resultado aparecerá como bandas a diferentes alturas. El tamaño de los fragmentos lo obtendremos por comparación con un ADN patrón que hemos procesado en paralelo y del que se conoce el tamaño de sus bandas. Para calcular la longitud de los fragmentos nos podemos ayudar de un programa informático. Las técnicas de secuenciación automática facilitan el trabajo al reducir las operaciones manuales de laboratorio y al recoger el propio secuenciador los datos del análisis, quedando almacenados y estando disponibles para ser estudiados por

medio del software del que dispone el aparato, disminuyendo los errores derivados de la introducción manual de datos<sup>33, 42, 46</sup>.

#### **6.4 ANALISIS GENETICOS EN MATERIAL DENTAL.**

Las técnicas de análisis de ADN están suficientemente contrastadas. Su aplicación en el material dental plantea los problemas de obtención de la muestra, cantidad de la muestra y conservación.

La cámara pulpar es como una caja fuerte que preserva el material informativo, empero, el material que nos puede proporcionar información no se encuentra únicamente en pulpa, también en dentina y cemento encontramos ADN, veremos, seguidamente las particularidades derivadas de la recogida de la muestra.

PINCUS, citado por HAYAKAWA<sup>51</sup>, abre los incisivos centrales con un ligero golpe de martillo y retira el tejido pulpar con pinzas. ENSTRÖM y ÖHMAN, citados también por HAYAKAWA, utilizan discos diamantados para seccionar longitudinalmente el diente. SMITH y cols.<sup>52</sup> en un intento de protocolizar el manejo del material genético dental estudian cuatro técnicas:

**-APLASTAMIENTO DE TODO EL DIENTE.** Aparece como una técnica sencilla. De esta manera obtenemos, no sólo el ADN existente en pulpa, sino también el ADN de dentina y cemento. Como objeciones a esta técnica están la destrucción de las facetas oclusales y de las evidencias en ellas existentes y la problemática de la inhibición de la PCR (Reacción en cadena de la polimerasa).

**-ACCESO ENDODONTICO CONVENCIONAL.** La dificultad, en este caso, dependerá de la morfología cameral y radicular; por lo tanto es una técnica tan complicada como una endodoncia. Otra desventaja añadida es el hecho de que al practicar la apertura cameral perdemos datos de la superficie oclusal útiles para posteriores estudios.

**-SECCION VERTICAL DEL DIENTE.** Esta técnica tiene dos desventajas; por

un lado una limitación anatómica, ya que las raíces no son rectas en la mayoría de los casos y, además hay dientes con más de una raíz; por otro lado, también destruimos evidencias que pueden estar presentes en las facetas oclusales.

**-SECCION HORIZONTAL EN LA ZONA MAS CERVICAL DE LA RAIZ, bajo la línea amelocementaria. Con esta técnica tenemos un fácil acceso al material pulpar y conservamos los hallazgos que pueda haber en la corona. Posteriormente existen tres variantes de esta técnica:**

**-Sección horizontal del diente y extirpación del tejido pulpar coronal y radicular con técnicas endodónticas.**

**-Sección horizontal y extirpación del tejido pulpar coronal junto a una extirpación del tejido pulpar radicular mediante apicectomía.**

**-Sección horizontal, extirpación del tejido pulpar coronal y aplastamiento de la mitad radicular del diente, de esta manera se consigue, también, el ADN de dentina y cemento.**

El trabajo de SMITH y cols.<sup>52</sup> concluye que el método empleado para obtener el ADN no afecta el análisis posterior de éste, aunque existen estudios (WILLIAMS y cols. citados por SMITH) que demuestran la posibilidad de contaminación de las muestras por endonucleasas de ADN bacteriano y por inhibidores de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), presentes en la superficie del diente, en las técnicas que usan el aplastamiento del diente o raíces y que, por tanto, pueden ocasionar la posterior inhibición de la PCR<sup>52</sup>. En el trabajo de YAMADA y cols. se llega a la misma conclusión, y, para estos autores se obtiene más ADN intacto de la pulpa dental que de todo el diente<sup>53</sup>. La posibilidad de contaminación de la muestra con ADN bacteriano o del propio manipulador hace necesario un exquisito cuidado en la manipulación de los especímenes.

La cantidad de ADN varía según los estudios, así, PÖTSCH y cols. encuentran de

6 a 50 µg de ADN<sup>54</sup>. En el trabajo de SMITH y cols.<sup>52</sup>, encuentran entre 173,6 y 11,2 µg de ADN total, correspondiendo a 39,06 y 0,67 µg de ADN humano. Estas cantidades son suficientes para poder estudiar el ADN de las muestras (Son enormes en comparación con las 5 ng de los que hablábamos más atrás<sup>37, 42, 46, 49</sup>. 1 ng = 0,001 µg).

En el estudio de YOKOI y cols.<sup>55</sup> se reconoce ADN correctamente por encima de 0,3 ng.

En los casos en que la cantidad de muestra es escasa, es posible su amplificación mediante la aplicación de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR). El método de la PCR se basa en la utilización de oligonucleótidos sintéticos o primers que hibriden específicamente con las dos hebras complementarias de ADN, las cuales flanquean la región de interés. La amplificación se consigue al realizar una serie de ciclos repetitivos que consisten en : La desnaturalización del ADN molde o templado, la hibridación de los primers con el templado y la síntesis de ADN complementario mediante la ADN polimerasa. Tras realizar 20-30 ciclos de este proceso se pueden obtener varios millones de copias de la secuencia de interés<sup>39, 56</sup>.



muy corto comparado con los 16569 pares de bases del genoma mitocondrial completo o con los 3000 millones de pares de bases del genoma nuclear haploide. Esto es importante de cara a la utilidad de muestras postmortales: Es muy improbable, por puro azar, que se degrade un fragmento tan corto en todos los ADN mitocondriales de todas las mitocondrias a la vez.<sup>41</sup>

En cuanto al tiempo de conservación de la muestra, ya se ha dicho que estas técnicas pueden aplicarse a especímenes muy antiguos. En aquellos estudios en los que se variaron las condiciones ambientales de conservación se concluyó que este factor no influyó en la obtención de ADN humano de alto peso molecular de pulpa dental<sup>52, 53, 54, 57</sup>.

En los distintos estudios, la antigüedad de las muestras dentales fue de hasta 15 años en el trabajo de PÖTSCH y cols. o 19 años en el de SCHWARTZ y cols. aunque debe recordarse la comunicación de DESALLE (Citado por LORENTE), que ha logrado amplificar el fragmento 16S de un ADN mitocondrial ribosomal de una termita fosilizada en ámbar hace 25 o 30 millones de años, o los trabajos de PÄÄBO (Citado también por LORENTE) que consiguió amplificar ADN mitocondrial de una momia de unos 7000 años.<sup>41</sup>

## **6.5 ANALISIS DE RESULTADOS E INFORME MEDICO-LEGAL**

El objeto teórico de este trabajo es la identificación humana, especialmente utilizando el material genético de los tejidos dentarios y el único método que se puede seguir para ello es el método comparativo: Comparar el ADN con el ADN del propio individuo (situación altamente improbable), o compararlo con al ADN de los supuestos padres o parientes muy próximos. En definitiva, realizar un "Estudio de Paternidad" de ese material genético.

En los estudios de paternidad se parte siempre del postulado de que la dotación genética del individuo proviene la mitad del padre y la otra mitad de la madre. Es decir, cualquier rasgo presente en el hijo debe provenir del padre, de la madre o de ambos a la

vez. Esta afirmación simple es rigurosamente cierta, aunque cuando estudiamos el polimorfismo del ADN estamos estudiando algunos factores polimórficos y no tenemos una visión completa del genoma humano. Obtenemos un fenotipo para cada sonda, en el que los distintos RFLP obtenidos se valoran exactamente igual a los distintos alelos que se obtienen mediante separación electroforética en los marcadores proteicos y enzimáticos.<sup>58</sup> Decir que un determinado rasgo, o una secuencia de ADN de un individuo pertenece al padre y tal otro a la madre, no aclara nada ya que no nos excluye la posibilidad de que no pertenezca a otra persona. Existe, pues una variabilidad de las características observadas o dispersión<sup>59</sup>.

Dada esta dispersión no se puede llegar a una conclusión unívoca y segura, por lo tanto, la dispersión conduce a una incertidumbre, que en la mayoría de los casos sólo posibilita la toma de decisiones. En estos casos tendremos que ayudarnos de la estadística. La definición de WALD (Citado por SACHS) de estadística arranca precisamente de estos conceptos: "La estadística es un compendio de métodos que nos permiten tomar decisiones racionales en los casos de incertidumbre"<sup>59</sup>.

Seguidamente se valorarán tres puntos importantes relativos al análisis de resultados y el informe médico-legal:

- Importancia del estudio de las poblaciones humanas.
- Los parámetros estadísticos en la investigación biológica de la identidad.
- Valoración médico-legal de la identidad.

#### **6.5.1 IMPORTANCIA DEL ESTUDIO DE LAS POBLACIONES HUMANAS EN MEDICINA-LEGAL**

La población humana actual somos el resultado de un origen común y unas circunstancias biológicas, migratorias, sociales, históricas y políticas<sup>47</sup> actuando a lo largo del tiempo (Tomaremos esta afirmación como cierta a pesar de las reservas que

pudiéramos tener sobre el origen común de la especie humana<sup>60</sup> ya que, para lo que se expondrá a continuación, este aserto o su falsedad no tienen ninguna importancia). De este modo se han producido numerosas poblaciones humanas con importantes diferencias en cuanto a aspectos antropológicos y culturales. Algunas de estas características diferenciales pueden ser utilizadas en los campos de la identificación, la criminalística y la investigación de la paternidad. Se hace necesario, por ello, conocer la presencia real de estas características diferenciales en la población.

Los estudios genéticos poblacionales toman como axiomática la Ley de HARDY-WEINBERG o Equilibrio de HARDY-WEINBERG: "Consideremos una población de gran tamaño, en la que no operen factores tales como la mutación o selección, para un locus determinado. Si los individuos de dicha población se cruzan entre sí al azar (panmíticamente), el valor de las frecuencias alélicas se mantiene, indefinidamente, de generación en generación, en tanto sigan manteniéndose los cruzamientos al azar"<sup>61, 62,</sup>  
<sup>63</sup>.

Los factores perturbadores de la Ley de HARDY-WEINBERG (Mutación, selección, migración de genes, deriva genética, apareamientos electivos o endogamia)<sup>47</sup> no tienen casi influencia en los estudios de identidad, paternidad o criminalística, ya que sólo se tienen en cuenta dos generaciones (padres/hijos). De esta manera, gracias al equilibrio de HARDY-WEINBERG podemos predecir la estructura genotípica de la población a través de los valores de las frecuencias alélicas.<sup>61</sup>

#### **6.5.2 PARAMETROS ESTADISTICOS EN LA INVESTIGACION BIOLOGICA DE LA IDENTIDAD**

Este punto guarda completa similitud con los estudios estadísticos utilizados en la investigación biológica de la paternidad por lo que en ocasiones nos referiremos a a



paternidad o identidad sin distinguir entre ellas en lo referente al tratamiento estadístico de la información.

En los estudios de paternidad, y simplificando al máximo, una vez obtenido el material genético se realizan dos operaciones de cada una de las tres muestras: una resta y una comparación. En primer lugar se resta al hijo todo el material que comparte con su madre y, posteriormente, se comprueba si el supuesto padre posee el material genético que le queda al hijo tras la primera resta, material que ha heredado, forzosamente, de su padre biológico.<sup>58</sup> Si formulamos una simple ecuación del tipo:

$$\text{HIJO} = \text{PADRE} + \text{MADRE}$$

observamos que las posibilidades de identificación de un individuo pueden ser las mismas que las de resolver una ecuación de primer grado:

$$\text{X} = \text{PADRE} + \text{MADRE}$$

$$\text{HIJO} = \text{X} + \text{MADRE}$$

$$\text{HIJO} = \text{PADRE} + \text{X}$$

En todos estos supuesto partimos siempre del principio de que el padre es el padre biológico y la madre es la madre biológica ya que, como en matemáticas, es imposible adivinar el valor de X en una sola ecuación con dos incógnitas; para ello deberíamos formular un "sistema de ecuaciones", cosa no del todo imposible si contamos con datos de familiares (abuelos, hermanos, tíos)<sup>64</sup>. Otra posibilidad es, en caso de desconocer a uno de los progenitores, comparar las otras dos muestras e informar al juez del grado de proximidad genética y del porcentaje de error que existe al atribuir a ese individuo una identidad con esos datos.

Tanto en estudios de paternidad como en los de identidad sólo pueden darse dos situaciones: compatibilidad o incompatibilidad; en la práctica la cuestión no es tan simple, ya que debemos contestar preguntas como: ¿Qué garantía existe de que un individuo no excluido sea realmente el que buscamos? o ,en caso de exclusión: ¿Qué

garantías tendríamos de que ésta no sea producto de un error técnico o biológico?. Para contestar a la primera pregunta definimos dos parámetros: la probabilidad de exclusión a priori y la probabilidad de paternidad.

- Probabilidad de exclusión a priori: Es, de hecho, el potencial de exclusión teórico de un laboratorio. Es la probabilidad favorable de que con el uso de unos sistemas determinados puedan excluirse los falsos padres, o dicho de otra manera, el porcentaje de presuntos padres falsamente imputados cuya paternidad quedaría excluida en base a ese marcador.

La probabilidad de exclusión a priori es un valor porcentual. La Sociedad Internacional de Hemogenética forense recomienda el valor de 99,9% como mínimo aceptable.<sup>58, 64</sup> Si la probabilidad de exclusión a priori es muy alta y el individuo no puede ser excluido, la posibilidad de que el sujeto no sea el que buscamos es muy pequeña, pero ello no es suficiente, por lo tanto tendremos que calcular la probabilidad de paternidad.

- Probabilidad de paternidad: Las bases del cálculo de esta probabilidad están en el Teorema de BAYES que define el cálculo de las probabilidades condicionadas: Si  $A_1, A_2, \dots, A_n$  son sucesos incompatibles entre sí y suponemos que la unión de todos los  $A_i$  es el suceso seguro; entonces, el Teorema de BAYES se enuncia así:

Sea E un suceso aleatorio que sólo se puede dar con probabilidad no nula ( $P(E) > 0$ ) en combinación con alguno de los  $A_i$ . Entonces, la probabilidad del suceso  $A_i$ , cuando se ha producido E, viene dada por:<sup>59, 63, 65</sup>

$$P(A_i/E) = P(A_i) \cdot P(E/A_i) / [P(A_1) \cdot P(E/A_1) + \dots + P(A_n) \cdot P(E/A_n)]$$

$$P(A_i/E) = P(A_i) \cdot P(E/A_i) / \sum_{i=1}^n P(A_i) \cdot P(E/A_i)$$

Basándose en este teorema, en 1938, ERIK ESSEN-MÖLLER<sup>58, 64</sup> formula la ecuación que lleva su nombre:

$$W = (Y/X+Y) \times 100$$

En ella se relaciona la probabilidad de transmitir el alelo paterno por parte del supuesto padre (X) y la frecuencia del alelo en la población general (Y). (W) indica la probabilidad de que el hecho de la paternidad haya sucedido realmente (Como se observa, la ecuación de ESSEN-MÖLLER no es más que la definición estadística de probabilidad: "casos favorables partido por casos posibles").

Una vez se conocen los valores de W, o los valores X e Y para cada marcador el cálculo de la probabilidad total acumulada es sencillo:

$$W_{\text{acumulativa}} = X_a \cdot X_b \dots X_n / (X_a \cdot X_b \dots X_n + Y_a \cdot Y_b \dots Y_n)$$

Actualmente existen programas informáticos que facilitan estos cálculos, pudiéndose recurrir a las Cátedras de Medicina Legal de Barcelona y Santiago que han desarrollado estos programas en nuestro país, o en los casos complicados al Prof. Dr. BAUR (Institut für Medizinsche Dokumentation und Statistik, S. Freud StraBe, D-5300, Bonn- Venusberg, FRG), o al Prof. Dr. HUMMEL (Institut für Blutgruppenserologie, Hermann Herder StraBe 11, D-7300 Freiburg, FRG) (Citados por CARRACEDO y cols.) quienes poseen los programas más completos en este campo<sup>64</sup>.

El valor de W se suele expresar porcentualmente entre 0 y 100% o bien en forma de los llamados predicados verbales de HUMMEL:

$W \geq 99,73\%$	"prácticamente probada"
$W \geq 99 \dots < 99,73\%$	"extremadamente probable"
$W \geq 95 \dots < 99\%$	"muy probable"
$W \geq 90 \dots < 95\%$	"probable"
$W > 50 \dots < 90\%$	Paternidad más probable que la no paternidad
$W \leq 0,27\%$	"prácticamente excuida"
$W \leq 1 \dots > 0,27\%$	"extremadamente improbable"
$W \leq 5 \dots > 1\%$	"muy improbable"
$W \leq 10 \dots > 5\%$	"improbable"
$W \leq 50 \dots > 10\%$	No paternidad más probable que paternidad.

El grado de certeza racional en la determinación positiva de la paternidad queda establecido en el valor de probabilidad de paternidad igual o superior al 99,73%, cifra nada fácil de alcanzar y que precisa, en muchas ocasiones, más sistemas que para obtener el 99,9% de exclusión a priori<sup>58,66</sup>.

La segunda pregunta planteada hacía mención a los errores técnicos y a los errores biológicos.

**ERRORES TECNICOS:** Pueden ser infinitos. En general los errores van hacia la no-identificación, hacia la incompatibilidad. A fin de minimizar estos errores se propone la repetición sistemática (tres veces) de todos los pasos del proceso en que ello es posible.

**ERRORES BIOLOGICOS:** Son difíciles de detectar. Los errores de este tipo más comunes son por la existencia de genes silentes y provocan la aparición de aparente incompatibilidad.

Por ello, a la hora de valorar las exclusiones utilizamos las reglas de LANDSTEINER:

**1º REGLA DE LANDSTEINER:** Todo carácter presente en el hijo y que no posee la madre debe proceder del padre; si el supuesto padre no lo posee, procede la exclusión. Sería una exclusión directa o de primer orden. Prácticamente no existe otra causa de error que una mutación.

**2º REGLA DE LANDSTEINER:** Es la imposibilidad de homocigosis contraria, es decir, padre e hijo no pueden ser homocigotos distintos para un mismo locus. Aquí sí que pueden influir los alelos silentes aparentando una falsa incompatibilidad. Estas exclusiones son las llamadas indirectas o de segundo orden.

Hay, pues, que ser cautos al valorar toda incompatibilidad basada en la segunda regla. En general, en todos los casos en que aparezca una sola exclusión debe calcularse la probabilidad de paternidad ignorando el sistema incompatible; si la probabilidad es muy baja puede valorarse la exclusión, pero si es muy alta, lo más probable es que se trate de un error técnico o biológico. Si ésto es así, deberemos ampliar el estudio a nuevos marcadores que confirmen la exclusión o aumenten la probabilidad de paternidad<sup>58,66</sup>.

### **6.5.3 EL INFORME MEDICO-LEGAL**

El resultado final de todo estudio de paternidad o identificación debe plasmarse en un informe que será el que presentemos ante el juez. En ese informe el perito informa al juez de la identidad o paternidad o de su exclusión en términos de probabilidad, se le da un valor para que tome una decisión.

La situación ideal sería poder informar con toda certeza quién es el individuo. Evidentemente, es imposible tener toda la certeza, por lo que informamos de cuánta certeza tenemos.

El juez valora la prueba biológica en función de las circunstancias y necesidades

propias del caso. Así, para una demanda de paternidad se exigen probabilidades de paternidad superiores al 99,73% mientras que en asuntos de identificación y criminalística no es necesaria una probabilidad tan elevada. La causa de esta disparidad está precisamente en la valoración de las necesidades y circunstancias del caso y en sus consecuencias. En la identificación de un sujeto en criminalística o en la instrucción de unas diligencias por muerte de un individuo, la identificación es una investigación más dentro del conjunto de la instrucción y, aunque puede ser la base de una línea de investigación, nada impide que en un futuro se replantee la identidad y se encaucen las investigaciones en otro sentido. En estos casos el juez instructor pretende conocer unos hechos (un homicidio, una violación, etc.) y la identidad es sólo una parte de los mismos. En los casos de paternidad, la confirmación de la misma o su exclusión son el eje central de la demanda y, por tanto, la seguridad de las afirmaciones debe ser mayor.

Debe señalarse que en multitud de ocasiones aceptamos como ciertos dictámenes con probabilidades mucho menores a las que se consiguen con el uso de estas pruebas biológicas. Así, BALTHAZARD (Citado por VILLANUEVA y CASTILLA)<sup>3</sup>, decía que para poder encontrar dos sujetos que en sus dactilogramas de un dedo presentasen total identidad, analizando diecisiete puntos característicos (En general se identifica a un individuo si se encuentra identidad en 17 puntos característicos) sería necesario examinar 1.717.986.918 individuos. Esta cifra queda pequeña si la comparamos con las que nos aportan las pruebas biológicas, un individuo entre un billón o más.

**APENDICE**

**PROTOCOLO DE ESTUDIO ODONTOLOGICO FORENSE**

- El examen dental debe ser tan completo como sea posible y siempre partiendo de lo general a lo particular.

- La situación ideal sería que un odontólogo (o un forense entrenado en esta materia) examine el cadáver o restos cadavéricos y otro recoja los datos. Posteriormente se cambian los papeles y se examina el mismo caso. De esta manera se reducen los errores.

**1- LEVANTAMIENTO DEL CADAVER**

Sin valorar aquí la importancia que en medicina forense tiene esta diligencia, al odontólogo forense le interesa sobremanera la ubicación de la evidencia dental en el lugar de los hechos y asegurarse de que toda evidencia o indicio sean recogidos.

**2- EXAMEN DEL CADAVER O RESTOS**

**2.1- EXAMEN FACIAL**

- Color
  - Forma
  - Características distintivas: Pelo, piel, nariz, ojos
- orejas, cicatrices, labios (Interesante, aquí, tomar una impresión en papel de la mucosa labial).

**2.2- BOCA**

- Mucosa
- Paladar
- Lengua

- Rebordes alveolares (Recoger la presencia de torus, exóstosis, etc.)

### **2.3- DIENTES**

- Oclusión
- Desgaste
- Color
- Condición oral
- Cálculo
- Dientes presentes
- Dientes ausentes (Distinguir las pérdidas vitales y las no vitales)
- Prótesis

### **2.4- CADA DIENTE INDIVIDUALMENTE**

- Posición
- Color
- Anatomía distintiva
- Lesiones dentales
- Restauraciones: superficies, material, características especiales.

(No olvidar la posibilidad de que los dientes hayan sido desplazados a regiones adyacentes).

## **3- ESTUDIO RADIOLOGICO**

Ideal el poder disponer de un ortopantomógrafo, aunque puede ser sustituido por aparatos de radiografía convencional.

## **4- IMPRESIONES DE LAS ARCADAS**

Se realizan en alginato (preferentemente) o en siliconas. Posteriormente se vacían en yeso-piedra.



Estos modelos nos servirán para estudios posteriores y son de gran valor para la identificación palatoscópica y posterior conservación de las rugas palatinas.

## **5- DETERMINACIONES ODONTOLOGICAS. ODONTOMETRIA Y ANTROPOMETRIA**

### **5.1- ESPECIE**

- Examen al ULTROPACK
- Inmunoprecipitación
- Fijación del complemento
- Inmunofluorescencia

### **5.2- RAZA**

- Indices de FLOWER
- Índice gnático
- Índice craneal horizontal
- Índice facial superior
- Índice facial total
- índice nasal
- Índice mandibular
- Índice de robustez mandibular
- Índice fronto-goníaco
- Índice zigo-goníaco
- Angulo mentoniano
- Angulo bregmático de SCHWALBE
- Angulo frontal de SCHWALBE

### **5.3- SEXO**

- Índice incisivo de AITCHINSON
- Cromatina de BAAR

### **5.4- TALLA**

- Cálculo del radio-cuerda inferior
- Utilización de las tablas de proporcionalidad de los dientes de V. BLOISE si no disponemos de los dientes adecuados para el cálculo del radio-cuerda inferior

#### **5.5- EDAD**

- Cronología eruptiva
- Método de GUSTAFSON
- Método de SHIRO-ITO

#### **6- SEROLOGIA Y PRUEBAS GENETICAS**

- ABO
- ADENOSIN-DESAMINASA
- ADENILATOKINASA
- FOSFOGLUCOMUTASA
- 6-FOSFOGLUCONATO-DEHIDROGENASA
- ESTUDIO DEL POLIMORFISMO DEL ADN

**BIBLIOGRAFIA**

- 1- Gisbert JA. Medicina legal. En: Gisbert JA, ed. Medicina legal y toxicología, 4ª.ed. Barcelona: Salvat, 1991; 3-7.
  
- 2- Corbella J. Historia de la Medicina legal. En: Gisbert JA, ed. Medicina legal y toxicología, 4ª.ed. Barcelona: Salvat, 1991; 8-12.
  
- 3- Villanueva E, Castilla J. Identificación del sujeto vivo. En: Gisbert JA, ed. Medicina legal y toxicología, 4ª.ed. Barcelona: Salvat, 1991; 1001-10.
  
- 4- Cerón J. Identificación odontológica. En: Diligencia de inspección ocular, identificación y levantamiento del cadáver[Centro de Estudios Judiciales, Cursos, vol 7]. Madrid: Publicaciones del Ministerio de Justicia, 1991; 131-145.
  
- 5- Correa AI. Estomatología forense. México: Trillas, 1990.
  
- 6- Bonnet E. Medicina legal, 2ª.ed. Buenos Aires: López Libreros,1980.
  
- 7- Reverte JM. Antropología forense. Madrid: Publicaciones del Ministerio de Justicia, 1991.
  
- 8- Lecha A. Tratado de autopsias y embalsamamientos. Madrid: Plus-Ultra, 1924.

9- Castilla J. Odontología forense. En Gisbert JA, ed. Medicina legal y toxicología, 4ª ed. Barcelona: Salvat, 1991; 1121-30

10- Nossintchouk RM. Evaluation de la race, du sexe, de l'âge. En: Nossintchouk RM, ed. Manuel d'odontologie médico-légale. París: Masson, 1991; 83-119.

11- Testut L, Latarjet A. Tratado de anatomía humana, vol 1. Barcelona: Salvat, 1979; 121.

12- Fernet H, Staubesand J. Atlas de anatomía humana Sobotta/Becher, vol 1. Barcelona: Toray, 1979.

13- Swinburn PF. Pautas para los procedimientos de identificación dental. Grupo de trabajo 7 de la Comisión de Educación y Práctica Dental De la Federación Dental Internacional. Londres: Federation Dentaire Internationale, [198?].

14- Péret R. Critères d'identification biologique dentaire. En: Nossintchouk RM, ed. Manuel D'odontologie médico-légale. París: Masson, 1991; 65-70.

15- Canut JA. Ortodoncia clínica. Barcelona: Salvat, 1988; 130-131.

16- Mascaró JM, ed. Diccionario médico, 2ª ed. Barcelona: Salvat, 1974.

17- Briñón EN. Odontología legal y práctica forense. Buenos Aires: Purizón, 1984.

18- Gisbert JA. Matrimonio. En: Gisbert JA, ed. Medicina legal y toxicología, 4ª ed. Barcelona: Salvat, 1991; 476-489.

19- Sims BG. Paediatric forensic odontology. En: Mason JK, ed. Paediatric forensic medicine and pathology. Londres: Chapman and Hall Medical, 1989; 100-115.

20- Evans KT, Knight B. Forensic radiology. Oxford: Blackwell Scientific Publication, 1981.

21- Whittaker DK, MacDonald DG. A colour atlas of forensic dentistry. Londres: Wolfe Medical, 1989.

22- Gisbert JA. Medicina legal y toxicología, 3ª ed. Valencia: Saber, 1985.

23- Gustafson G. Age determination on teeth. J. Am. Dent. Ass. 1950; 41-45.

24- Lamendin H. Appréciation de l'âge par la méthode de Gustafson "simplifiée". Le Chirurgien Dentiste de France 1988; 427:43-48.

25- Lamendin H, Cambray JC. Étude de la translucidité et des canalicules: intérêt en odonto-stomatologie légale. Revue d'Odonto-Stomatologie 1978; 2: 111-119.

26- Prapanpoch S, Dove SB, Cottone JA. Morphometric analysis of the dental pulp chamber as a method of age determination in humans. Am J Forensic Med Pathol 1992; 13(1): 50-55.

27- Happonen RP, Laaksonen H, Wallin A, Tammissalo T, Stimson PG. Use of orthopantomographs in forensic identification. Am J Forensic Med Pathol 1991; 12(1): 59-63.

28- Oviedo O, Renato A. Determinación de la identidad por medio de las impresiones labiales. Revista Española de Medicina Legal 1988; XV(54,57): 67-75.

29- Suzuki K, Tsuchihashi Y. Personal identification by means of lip prints. J Forensic Med 1970; 17: 52-57.

30- Huguet E, Gené M, Corbella J. Utilidad de los marcadores genéticos en la identificación cadavérica. En: Libro de resúmenes de las Primeras Jornadas Anuales de la Sociedad Española de Medicina Legal y Forense. Orfila-1. Alicante, 3-4 de abril de 1987. Publicaciones del Seminario Pere Mata de la Universidad de Barcelona.

31- Carracedo A, Rodríguez MS. Procedimientos de investigación de la paternidad. Marcadores genético-moleculares. Técnicas de estudio de los diferentes marcadores empleados. En: Huguet E, Carracedo A, Gené M, eds. Introducción a la investigación biológica de la paternidad. Barcelona: PPU, 1988; 39-51.

32- Jeffreys AJ, Wilson V, Thein SL. Individual-specific "finger-prints" in human DNA. Nature 1985; 316: 76-9.

33- Wilson MR, Lorente JA, Lorente M, Holland M, Villanueva E. Pautas de utilización del ADNmt en medicina forense y bioantropología. Jano 1994; XLVI(1068): 59-64.

34- Lorente JA, Lorente M, Villanueva E. Estructura y funciones de la mitocondria y del ADN mitocondrial: su papel en la patología humana. Jano 1994; XLVI(1068): 51-4.

35- Lorente M, Lorente JA, Villanueva E. La medicina clínica ante los indicios criminales biológicos y la identificación genética. Med Clin(Barc) 1994; 102: 113-5.

36- Epplen J. Simple repeat loci as tools for genetic identification. En: Herrmann B, Hummel S, eds. Ancient DNA. Nueva York: Springer-Verlag, 1994: 13-30.

37- Micklos D, Freyer G. DNA science. A first course in recombinant DNA

technology. Burlington: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1990: 164-7.

38- Ross AM, Harding HW. DNA typing and forensic science. *Forensic Sci Int* 1989; 41: 197-203.

39- Lehninger A, Nelson D, Cox M. Principios de bioquímica, 2ª ed. Barcelona: Omega, 1993.

40- Stryer L. Bioquímica. Barcelona: Reverté, 1979.

41- Lorente JA, Wilson MR, Lorente M, Holland M Sensabaugh GF, Budowle B et al. Identificación médico-forense con ADN mitocondrial. *Jano* 1994; XLVI(1070): 57-61.

42- Villanueva E, Lorente JA. Aplicaciones del ácido desoxirribonucleico (DNA) en Medicina legal. En: Gisbert JA, ed. *Medicina legal y toxicología*, 4ª ed. Barcelona : Salvat, 1991; 1044-1050.

43- McConkey EH. Human genetics. The molecular revolution. Boston: Jones and Bartlett, 1993.

44- Berg P, Singer M. Tratar con genes. El lenguaje de la herencia. Barcelona: Omega, 1994.



**45- Huguet E, Gené M, Medallo J, March M. Aplicaciones del polimorfismo del DNA en criminalística. En: Libro de Conferencias de las Primeras Jornadas Catalanas de Medicina Forense. Barcelona,24-25 de noviembre de 1989.**

**46- March M, Ercilla G. Polimorfismo del ADN. En: Huguet E, Carracedo A, Gené M, eds. Introducción a la investigación biológica de la Paternidad. Barcelona: PPU, 1988; 161-170.**

**47- Huguet E. Importància de l'estudi de les poblacions humanes en medicina legal. En: Libro de Conferencias de las Segundas Jornadas Catalanas de Actualización en Medicina Forense. Barcelona, 12-13 de noviembre de 1993.**

**48- Suzuki D, Griffiths A, Miller J, Lewontin R. Introducción al análisis genético. 4ª ed. Madrid: McGraw-Hill, 1993.**

**49- Williams BL, Wilson K. Principios y técnicas de bioquímica experimental. Barcelona: Omega, 1981.**

**50- Lewin B. Genes IV. Nueva York: Oxford University Press, 1990.**

**51- Hayakawa T. Pulp composition. En: Lazzari EP. Handbook of experimental aspects of oral biochemistry. Boca Raton: CRC Press, 1983.**

52- Smith BC, Fisher DL, Weedn VW, Warnock GR, Holland MM. A systematic approach to the sampling of dental DNA. *Journal of Forensic Sciences* 1993; 38(5):1194-1209.

53- Yamada Y, Yamamoto K, Yoshii T, Ishiyama I. Analysis of DNA from tooth and application to forensic dental medicine. *Nippon Hoigaku Zasshi* 1989; 43(5): 420-3.

54- Pötsch L, Meyer U, Rothschild S, Schneider PM, Rittner Ch. Application of DNA techniques for identification using human dental pulp as a source of DNA. *Int J Leg Med* 1992; 105: 139- 143.

55- Yokoi T, Aoki Y, Sagisaka K. Human identification and sex determination of dental pulp, bone marrow and blood stains with a recombinant DNA probe. *Z Rechtsmed* 1989; 102(5): 323-30.

56- Estivill X, Nunes V. Principios del análisis genético. En: Rozman C, ed. *Medicina interna*, 12ª ed. Barcelona: Doyma, 1992; 1171-1185.

57- Schwartz TR, Schwartz EA, Mieszerski L, McNally L, Kobilinsky L. Characterization of deoxyribonucleic acid (DNA) obtained from teeth subjected to various environmental conditions. *Journal of Forensic Sciences* 1991; 36(4): 979-990.

58- Huguet E, Carracedo A. Investigación de la paternidad. En: Gisbert JA, ed. *Medicina legal y toxicología*, 4ª ed. Barcelona: Salvat, 1991; 1033-1043.

**59- Sachs L. Estadística aplicada. Barcelona: Labor, 1978.**

**60- Lorente JA, Stoneking M, Lorente M. Los orígenes del ser humano: Siguiendo la ruta biomolecular del ADN mitocondrial. Jano 1994; XLVI (1070): 45-52.**

**61- Caeiro LB, Canabal O. Aspectos genético-poblacionales. En: Huguet E, Carracedo A, Gené M, eds. Introducción a la investigación biológica de la paternidad. Barcelona: PPU, 1988: 52-65.**

**62- Prats J, Antich J. Conceptos generales de genética. En: Rodés J, Guardia J, eds. El manual de medicina. Barcelona: Masson-Salvat, 1993; 2414-2427.**

**63- Estivill X. Consejo genético y diagnóstico. En: Rozman C, ed. Medicina interna, 12ª ed. Barcelona: Doyma, 1992; 1228-1242.**

**64- Carracedo A, Huguet E, Barros F. Parámetros estadísticos en la investigación biológica de la paternidad. Exclusión y prueba positiva de paternidad. En: Huguet E, Carracedo A, Gené M, eds. Introducción a la investigación biológica de la paternidad. Barcelona: PPU, 1988; 171-188.**

**65- Armitage P, Berry G. Estadística para la investigación biomédica. Barcelona: Doyma, 1992.**

**66- Huguet E, Gené M, Medallo J, March M, Carracedo A, Concheiro L, et al. Problemática práctica de la exclusión y la valoración positiva de la paternidad. En: Libro de conferencias de las Segundas Jornadas Anuales de la Sociedad Española de Medicina Legal y Forense.Orfila-2. Barcelona, 8-9 de abril de 1988. Publicaciones del Seminario Pere Mata de la Universidad de Barcelona.**

**JUAN FRANCISCO ORTIGOSA RUIZ**

**Institut de Medicina Legal de Catalunya**

**Médico Forense de Sabadell (Barcelona)**

**Licenciado en Odontología**

**CORRESPONDENCIA**

**[juanfrancisco.ortigosa@telefonica.net](mailto:juanfrancisco.ortigosa@telefonica.net)**

**[juanfrancisco.ortigosa@xij.gencat.net](mailto:juanfrancisco.ortigosa@xij.gencat.net)**