



ORIGINAL

Identificación de cadáveres por medios odontológicos y la bioquímica dentaria: revisión sistemática.

IDENTIFICATION OF CORPSES BY DENTAL MEANS AND DENTAL BIOCHEMISTRY: A SYSTEMATIC REVIEW.

Ciro Musetta A.¹, Carrillo M.F.², García Navarro A.³

1 Graduado en odontología, Universidad Europea de Valencia, Valencia; Spain.

2 Departamento de cirugía, Ciencias Médicas y Sociales, Universidad de Alcalá, Madrid, Spain.

3 Profesora contratada Doctor Universidad Europea de Valencia, Valencia, Spain.

RESUMEN: La odontología forense ofrece un método rápido y efectivo en la identificación fundado en rasgos dentales a través de la realización de evaluaciones bioquímicas y de biología celular. El objetivo de esta investigación fue realizar una revisión sistemática respecto a la identificación forense a través medios odontológicos y la bioquímica dentaria. Respecto a material y método, se realizó una revisión sistemática usando el sistema PRISMA revisando la información científica a través de bases de datos como Pubmed, Medline complete, Dentistry & Oral Science Source y Scopus. La búsqueda se realizó entre los años 2012 y 2022, con palabras clave validadas en el diccionario MEsH las cuales se combinaron usando el operador booleano AND entre dental identification AND forensic dentistry y esta última combinada con DNA profiling of dental structures, dental mitochondrial, advanced glycation, aspartic acid racemization y epigenetics. Los resultados mostraron un número total de ocho artículos, evaluados a través de las guías CASPe de Lectura Crítica de la Literatura Médica para validar el sesgo. Las conclusiones mostraron que los parámetros bioquímicos usados en las publicaciones revisadas basadas en el envejecimiento fisiológico de los tejidos dentarios son de gran utilidad en la determinación de la edad del cadáver y así su identificación.

PALABRAS CLAVE: Parámetros bioquímicos, odontología forense, biología molecular, edad dentaria.

ABSTRACT: Forensic odontology offers a rapid and effective method of identification based on dental traits through biochemical and cell biology evaluations. The objective of this research was to carry out a systematic review regarding forensic identification through dental means and dental biochemistry. Regarding material and method, a systematic review was carried out using the PRISMA system, reviewing scientific information through databases such as Pubmed, Medline complete, Dentistry & Oral Science Source and Scopus. The search was carried out between the years 2012 and 2022, with keywords validated in the MEsH dictionary which were combined using the Boolean operator AND between dental identification AND forensic dentistry and the latter combined with DNA profiling of dental structures, dental mitochondrial, advanced glycation, aspartic acid racemization and epigenetics. The results showed a total number of eight articles, evaluated through the CASPe guidelines for Critical Reading of Medical Literature to validate bias. The conclusions showed that the biochemical parameters used in the reviewed publications based on the physiological aging of dental tissues are very useful in determining the age of the cadaver and thus in its identification.

KEY WORDS: Biochemical parameters, forensic odontology, molecular biology, dental age.

1. INTRODUCCIÓN.

1. Odontología forense.

Se considera como la rama de la odontología general relacionada estrechamente con la medicina y el derecho

que interviene en la identificación de cadáveres cuando estos no son identificables por otro medio, en vista que las unidades dentarias tienen características especiales y únicas en cada individuo y son estructuras que permanecen incólumes aun después que se pierdan otros tejidos del cuerpo humano (1). Los dientes, además, son muestras

excelentes para análisis bioquímicos (2) a través del envejecimiento(3,4).

En España esta ciencia comienza a tener vigencia certificada en el año 2006, cuando se crea en Madrid la Asociación Española de Antropología y Odontología Forenses como una asociación paralela a la FASE (Forensic Anthropology Society of Europe), que agrupa a gran parte de los miembros de la IALM (International Association of Legal Medicine) envueltos en el estudio y la práctica de la Antropología Forenses en Europa (5).

1.2. Odontología forense y métodos bioquímicos.

A partir de ciertos identificadores en dientes, se pueden reconstruir un perfil biológico para la identificación humana al dar información respecto a: la ascendencia, origen geográfico, sexo, ocupación, hábitos, patología pasada o presente y la edad, que es el parámetro más importante (1). La determinación de la edad se estima a través del proceso natural de envejecimiento que conduce a modificaciones de tejidos y órganos en distintos niveles bioquímicos (3). Las técnicas utilizadas son la racemización del ácido aspártico (6), las mutaciones del ADN mitocondrial (7-9), la epigenética (10), los enlaces cruzados de colágeno (11), los productos de glicación avanzada (AGE) (12) o el acortamiento de los telómeros (13-24).

Varios estudios trabajaron con estos parámetros bioquímicos, tal es el caso del estudio de Mörnstad et al., (23), en el año 1999 en el que informaron un descenso del ADNmt en dentina de terceros molares con la edad y el de Zapico y Ubelaker (9), en el año 2016, estudiaron en los terceros molares la eficiencia de amplificación de HV2 a través del PCR en dentina y pulpa, en tiempo real. Además, Bekaert et al (10), en el año 2015 al evaluar dichas técnicas en el tejido dentario informando la presencia de distintos niveles de metilación en genes asociados a la edad como son PDE4C, ELOVL2 y EDARADD.

2. OBJETIVOS.

a) realizar una revisión sistemática respecto a la identificación forense a través medios odontológicos y la bioquímica dentaria como elementos importantes en la identificación de cadáveres y b) Identificar la asociación entre la identificación forense y las estructuras dentales en

la identificación de cadáveres; describir los parámetros bioquímicos que se utilizan en la odontología forense para la identificación de cadáveres.

3. MATERIAL Y MÉTODO.

Esta revisión sistemática se realizó siguiendo la guía PRISMA (Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses) (27).

Los criterios de elegibilidad se fundamentaron en: a) Identificación de la pregunta de investigación por el sistema P.I.C.O y b) por los criterios de inclusión los cuales abarcaron a los estudios prospectivos o retrospectivos que incluyen todo lo referente la identificación forense a través medios odontológicos y la bioquímica dentaria como elementos importantes en la identificación de cadáveres que hubiesen sido publicadas entre los años 2012 y 2022, en idiomas inglés y español.

La búsqueda de la información se realizó a través de las bases de datos Pubmed, Medline complete, Dentistry & Oral Science Source y Scopus. La estrategia de búsqueda se llevo a cabo usando las siguientes palabras clave o descriptores: “forensic”, “dental identification”, “dental biochemistry”, “dental mitochondrial”, “DNA profiling”, “advanced glycation”, “aspartic acid racemization”, “epigenetics”. Luego se llevó a cabo la combinación de las distintas con estas palabras y el operador boleano “AND” debiendo aparecer en el título o en el resumen.

El proceso de selección de los artículos fue mediante un cribado en tres pasos: primero se determinaron los artículos elegibles según la congruencia del título y fueron eliminados los artículos duplicados, en la segunda fase se analizaron los abstract/resúmenes de los artículos seleccionados en la primera fase y finalmente, en la tercera fase se analizó el texto completo de los artículos que tenían un abstract congruente con la pregunta de investigación (figura 1)

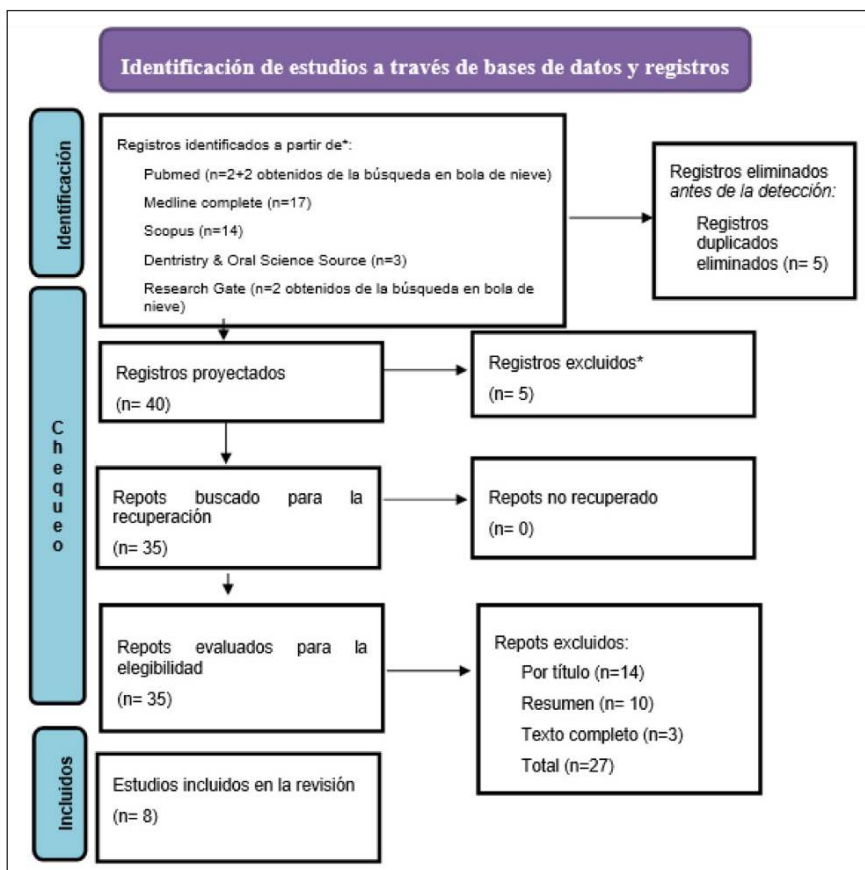


Figura 1. Diagrama de flujo o Flowchart.

4. RESULTADOS.

Luego del cribaje realizado a los artículos encontrados solo ocho cumplieron con los criterios de inclusión para ser analizados. Todos fueron ensayos clínicos y la valoración de sesgo se llevó a cabo usando la CASPe de Lectura Crítica de la Literatura Médica (28). La síntesis de resultados informo de acuerdo con los objetivos específicos: 1° Análisis de isótopos en el diente: dos de los estudios seleccionados trataron este parámetro usando para su determinación el análisis del ¹⁸Oxígeno y del ⁸⁷Sr/⁸⁶Sr en esmalte de incisivos laterales y 1° molar (29) y por el análisis de isótopos estables de carbono estable (¹³C) e isótopos de nitrógeno (¹⁵N) en dentina de 2° molar (30).

2.Patrones de metilación del ADN: tres estudios trataron este parámetro usando para su determinación: a) proceso de

metilación del ADN de CpG específicos ubicados en los genes ELOVL2, FHL2 y PENK en cemento, dentina y pulpa dentaria (31); niveles de metilación de sitios CpG específicos ubicados en los genes ELOVL2, ASPA y PDE4C y longitud relativa de los telómeros usando dentina (32); y c) trabajaron con los niveles de metilación de sitios CpG específicos ubicados en los genes ASPA, PDE4C, ELOVL2 y EDARADD usando dentina por un lado y por otro muestras de sangre de personas vivas y fallecidas (10).

3. Productos de glicación: en dos estudios usando para su determinación a) análisis de pentosidina y ácido D-aspártico, cromatografía de gases (GC) usando dentina radicular (33); b) contenido de furosina y/o pentosidina en dentina y clavícula del mismo cadáver (34). 4. Odontología forense y bioquímica: un solo estudio que evaluó la densidad mineral, radiación monocromática micro-CT de rayos X (MR-μCT), CMR (contacto microrradiografía) con referencia de cuña escalonada de aluminio en dentina (35).

Tabla 1. Resultados de los artículos analizados.

Análisis de isótopos en el diente:

Autor	Muestra: número y tipo de dientes usados para el estudio	Edad y sexo	Tejido dentario	Tipo de prueba bioquímica utilizada para la identificación forense
Font et al., 2015 (29)	Muestra WW2_024/12: 2 incisivos laterales izquierdos inferiores; y 2 incisivos inferiores derechos; primero y segundos incisivos inferiores derechos; Muestra WW2_025/10: 1º molar superior derecho	Masculino	Esmalte	-Análisis del $\delta^{18}\text{O}$ Oxígeno - Análisis $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$
Nagamine et al., 2019 (30)	Muestra: 32 2º molares inferiores	Masculino y femenino	Dentina radicular	-Análisis de isótopos estables de carbono estable (^{13}C) -Análisis de isótopos de nitrógeno (^{15}N)

Patrones de metilación del ADN.

Autor	Muestra: número de dientes usados para el estudio	Edad y sexo	Tejido dentario	Tipo de prueba bioquímica utilizada para la identificación forense
Giuliani et al., 2016 (31)	Muestra: 21 dientes	Edad: entre 17 y 77 años	Cemento, dentina y pulpa	· Metilación del ADN de CpG específicos ubicados en los genes ELOVL2, FHL2 y PENK.
Márquez-Ruiz et al., 2019 (32)	Muestra: 65 muestras dentales	Individuos entre 15 y 85 años; sexo femenino y masculino	Dentina	· Niveles de metilación de sitios CpG específicos ubicados en los genes ELOVL2, ASPA y PDE4C · Longitud relativa de los telómeros
Bekaert et al., 2015 (10)	Muestra 1: 29 dientes; Muestra 2: 206 muestras de sangre de personas fallecidas y vivas	Muestra 1: Personas entre 19 y 70 años; Muestra 2: entre 0 y 91 años); sexo femenino y masculino	Dentina	· Niveles de metilación de sitios CpG específicos ubicados en los genes ASPA, PDE4C, ELOVL2 y EDARADD

Productos de glicación.

Autor y año	Muestra: número de dientes usados para el estudio	Edad/sexo	Tejido dentario	Tipo de prueba bioquímica utilizada para la identificación forense
Greis et al., 2017 (33)	Muestra: 64 dientes En solo 23 dientes se utilizó el ácido D- aspártico	Edad entre 15 y 65 años	Dentina radicular	<ul style="list-style-type: none"> · Analisis de pentosidina y acido D- aspártico · Cromatografía de gases (GC)
Valenzuela et al., 2018 (34)	<i>Muestra 1:</i> 32 muestras de dentina de donantes vivos; <i>Muestra 2:</i> 15 elementos compuestos por un diente y un trozo de clavícula del mismo cadáver	<i>Muestra 1:</i> entre 14 y 80 años; <i>Muestra 2:</i> entre 18 a 85 años	Dentina	<ul style="list-style-type: none"> · Contenido de furosina y/o pentosidina

Odontología forense y bioquímica.

Autor	Muestra: número de dientes usados para el estudio	Edad y sexo	Tejido dentario	Tipo de prueba bioquímica utilizada para la identificación forense
Sekimizu et al., 2018 (35)	Muestra: 44 dientes humanos de 26 pacientes	22 hombres, 2 mujeres y 2 de sexo desconocido entre los 19 y 88 años	Dentina	<ul style="list-style-type: none"> · Densidad mineral · radiación monocromática micro-CT de rayos X (MR-μCT) · CMR (contacto microrradiografía) con referencia de cuña escalonada de aluminio

5. DISCUSIÓN.

La odontología forense desempeña un rol principal en la identificación de individuos fallecidos desconocidos, principalmente en situaciones de desastres, tales como, terremotos, incendios, inundaciones, etc., debido a que la estructura dentaria, un tejido mineralizado importante, aunado al óseo, resisten más a la degradación y putrefacción con los efectos tafonómicos (2).

El papel importante de esta ciencia ha llevado actualmente al avance en estudios en el campo de la bioquímica y biología molecular en diversos tejidos; nuevos marcadores han surgido y han sido propuestos, para su utilización en la identificación de características generales de cadáveres, entre ellos se encuentran la racemización del ácido aspártico, los entrecruzamientos de colágeno, la

composición química de los dientes y la glicosilación avanzada de proteínas (10).

La edad, es una de las características generales para la identificación de cuerpos, la cual puede ser estimada en la odontología forense. Las técnicas para alcanzar este objetivo se fundamentan en el proceso fisiológico del envejecimiento, el cual es bien sabido que produce cambios en las proteínas tisulares, en lo que respecta a la racemización de L-ácido aspártico en D-ácido aspártico (AAR) y los productos finales de la reacción de Maillard (AGEs): pentosidina, N-carboximetilisina (CML), piralina y furosina, los cuales se van acumulando en las proteínas durante toda la vida en los diferentes tejidos, tales como, dentina, cristalino, cartilago costal, disco intervertebral y piel (31).

De esta manera, Greis et al, en 2017 determinaron el contenido de pentosidina en muestras de dentina radicular

de 64 dientes sanos; así como, en dientes cariados (33) incluyendo uno diabético, "rosados" (4), sometidos al calor (4) y dientes a diferentes tiempos de almacenamiento; además, en 23 de ellos se estableció el grado de racemización del ácido aspártico (AAR). Hubo una relación fuerte entre la concentración de pentosidina en dentina y la edad cronológica ($r= 0,94$) en dientes sanos. La estimación de la edad con ambos métodos (AGEs y AAR) no mostraron diferencias entre la edad real y estimada.

Los factores confusores para la estimación de la edad cuando se emplea la AAR son la caries y el calor (en casos de cadáveres calcinados). Los autores concluyeron que la estimación de la edad por la combinación de estas dos técnicas en muestras de dentina es sólo una orientación, ya que no impide la influencia de la presencia de los factores confusores más relevantes. En este mismo orden de ideas, Valenzuela et al, 2018 (34), midieron las modificaciones en marcadores de glicación no enzimática (furosina y pentosidina) en 32 muestras de dentina de donantes vivos mayores de 14 años y muestras de un diente y clavícula de 15 donantes fallecidos mayores de 18 años, para identificar con la edad posibles diferencias entre las tasas de recambio en tejidos mineralizados.

El estudio reportó concentraciones más elevadas de furosina en ambos tejidos; esto es debido a que este marcador es un indicador del producto Amadori, formado en la fase inicial de la reacción Maillard, mientras que la pentosidina se acumula menos, porque es un producto de la fase tardía. Así mismo, las concentraciones de los dos marcadores se incrementaron con la edad en ambos tejidos. Se observaron mayores cantidades de furosina y pentosidina en el tejido dentario. Hubo una fuerte correlación entre la edad cronológica y los dos marcadores en ambos tejidos. Con estos resultados, se pudiera inferir, que fueron diferentes a los del estudio de Greis et al (33), porque no hubo factores confusores y solo se usaron los AGEs.

Así mismo, se ha evidenciado que, los cambios más resaltantes en el tejido dentario durante el envejecimiento ocurren en la dentina, con la formación de una dentina secundaria, producto del desgaste de la dentina radicular y atrición de la corona dental, que se incrementa a medida que avanza la edad, lo que conlleva a una cristalización de apatita y una remineralización por los cristales de fosfato de calcio en los túbulos dentinarios. Todo esto condujo a que Sekimizu et al (35), realizara un estudio, para estimar la edad en una muestra de 44 dientes de donantes vivos, mediante la observación no destructiva de la dentina hipercalcificada, usando micro-radiación monocromática-CT de rayos X (MR- μ CT).

Hubo una tendencia hacia el aumento de dentina

hipercalcificada con diferencia significativa entre los grupos de 10-30 años y 40-60 años, mientras que no se observó entre este grupo etario y mayores de 70 años. Se mostró una tasa de concordancia de densidad mineral del 90 % o más en todas las muestras; así mismo, hubo correlación positiva entre la hipercalcificación de la dentina con la edad y también con el tiempo transcurrido; aunque el incremento fue menor a partir de los 40 años. En el grupo mayores de 60 años, el área de dentina hipercalcificada ocupó el 70 % o más de la raíz. Los resultados sugieren que se puede estimar la edad mediante esta técnica.

Cualquier método utilizado para estimar la edad entre la biológica y cronológica con precisión se reduce en adultos, debido a la diferencia existente que se hace cada más grande, a medida que se incrementa con la edad, por lo que, el creciente conocimiento en el campo de la epigenética ha permitido identificar la asociación entre la edad y los cambios generados en la metilación del ADN en regiones específicas del genoma, lo que se traduce en otro método, para estimar la edad cronológica. La metilación del ADN consiste en una transformación química, en la cual las células eucariotas, poseen un grupo metilo en la posición 5 de la base nitrogenada citosina, que es seguido por un nucleótido de guanina, definido como sitio CpG (34).

Se sabe que, los dientes son una de las mejores fuentes de ADN de muestras de cadáveres, debido a su estructura y localización, por lo que están protegidos de la descomposición post mortem. El patrón de metilación de ADN se ha asociado con la edad cronológica en diversos tejidos, tales como, pulmón, riñón, sangre, aunque este patrón varía según el tipo de gen de una manera definida, dependiendo del tejido. El ADN de individuos fallecidos de larga data puede retener patrones *in vivo* de metilación de los dinucleótidos; no obstante, la desaminación hidrolítica de citosina a uracilo lleva a modificaciones en la secuencia de este ADN. Por consiguiente, Giuliani et al., en 2016 (31), analizó los patrones de metilación del ADN de los sitios CpG de los genes ELOVL2, FHL2 y PENK en 22 dientes de sujetos vivos. Los tres modelos matemáticos analizados se obtuvieron de las capas del cemento, pulpa y dentina, mostrando mayor correlación con la edad en cada amplificación evaluada; sin embargo, la pulpa predijo la edad con mayor exactitud, al igual que el cemento; no así con el patrón extraído de la dentina, lo que podría ser debido a su composición.

Aunque la pulpa se correlacionó mejor con la edad, es la que menos se conserva en los dientes antiguos, ya que durante la descomposición post mortem sufre cambios estructurales, por lo que el cemento podría ser la capa para utilizar, para la estimación de la edad en ADN antiguo.

Como se ha mencionado anteriormente, los niveles del

patrón de metilación del ADN se han asociado con la edad, es decir, los cambios se acumulan hasta la adultez y disminuyen durante el envejecimiento. La hipermetilación de los dinucleótidos CpG se relaciona con genes que no se expresan en el tejido sanguíneo, mientras que la hipometilación con genes altamente expresados. Se ha observado que la mayoría de los estudios al utilizar marcadores CpG, muestran correlaciones lineales con la edad cronológica; no obstante, para el marcador ELOVL2, esto no ocurre de esta manera; por consiguiente, Bekaert et al., en 2015 (10), seleccionaron cuatro genes asociados con la edad (ASPA, PDE4C, ELOVL2 y EDARADD), para determinar los niveles de metilación de CpG en 206 muestras de sangre de personas fallecidas (n:169) y vivas (n:37), entre 0–91 años, mediante la comparación de modelos de regresión lineales y no lineales; además, evaluaron la precisión de la predicción en diferentes grupos de edad y, analizaron los CpG en 29 muestras de dentina, extraídos de terceros molares, en sujetos entre 19 y 70 años. Los resultados evidenciaron que el modelo de regresión cuadrática fue el más preciso entre la edad real y estimada de 3,75 años (R²:0,95); no hubo diferencia entre sexos, ni entre vivos y fallecidos. Con la muestra de dientes, resultó un promedio de 4,86 años (R²: 0,74), concluyendo que estos marcadores pueden predecir la edad en muestras de tejido sanguíneo, tanto en individuos fallecidos, como vivos.

El patrón de metilación de ADN se considera como el biomarcador más predictivo de la edad, por ello, Márquez-Ruiz et al., (32) en 2020 midieron los niveles de metilación de los sitios de CpG de los genes ELOVL2, ASPA, and PDE4C y la longitud relativa de los telómeros, para determinar su asociación con la edad en 65 muestras de dientes de donadores entre 15 y 85 años y evaluar la precisión de ambos biomarcadores en conjunto o de manera individual. No hubo diferencia significativa en los niveles de metilación, ni en la longitud de los telómeros por sexo. Se mostró correlación positiva entre los genes ELOVL2 y PDE4C y la edad, mientras que hubo una correlación inversa entre la longitud de los telómeros y la edad cronológica. Este estudio concluyó que, la longitud de los telómeros tiene un uso limitado como biomarcador complementario en la estimación de la variable edad en muestra de dientes, al evaluarse por separado.

Otra técnica para estimar la edad es el uso de isótopos estables, sustancias con propiedades químicas similares, pero diferentes en cuanto al número de neutrones en su núcleo. Aunque, se emplean habitualmente en investigar los cambios ambientales y cadenas de alimentos, se han utilizado en el análisis de tejido óseo (¹³C y ¹⁵N), debido a que las fibras colágenas presentes en él forman parte del remodelamiento, es decir, hay destrucción y regeneración del hueso; sin embargo, los dientes no pasan por este proceso, lo que significa que sus fibras colágenas no cambian desde que se forman (36). Es por esto por lo que,

Nagamine et al., (30) en 2020, evaluaron la factibilidad de estimar la edad y verificar el sexo en 32 muestras de dentina radicular de molar mandibular de Japoneses, nacidos entre 1891 y 1964, usando los isótopos ¹³C y ¹⁵N, concluyendo que ambos isótopos estimaron la edad, pero no el sexo, esto podría ser debido a que la dieta, tanto en hombres como en mujeres, es similar, porque la globalización y los patrones alimentarios del mundo occidental han invadido la cultura japonesa, adoptándolos.

Así mismo, Font et al., (29) en 2015 usaron los isótopos estroncio (⁸⁷Sr/⁸⁶Sr) y oxígeno (¹⁸O), para la identificación del origen geográfico de cadáveres de soldados del II Guerra Mundial, mediante dientes incisivos inferiores y primer molar superior derecho. El estudio de isótopos concluyó que la composición de isótopos del esmalte dental para ambas víctimas, eran comparables a las aguas minerales y a la geología de la costa sur de Gran Bretaña, por lo que los cuerpos pertenecían a soldados de ese país.

6. CONCLUSIONES.

El análisis de los dientes permite identificar numerosos rasgos del individuo, ayudando a reconstruir el perfil biológico en vista que son excelentes elementos para realizar análisis bioquímicos y así se ha demostrado en esta revisión sistemática. El perfil de ADN se ha usado de manera tradicional para identificar al ser humano, pero los adelantos en bioquímica y biología molecular permiten el uso de los cambios bioquímicos producto del envejecimiento fisiológico de los tejidos dentarios como nuevas herramientas en la identificación de cadáveres. Marcadores como la racemización del ácido aspártico, los entrecruzamientos de colágeno, la composición química de los dientes y la glicosilación avanzada de proteínas se han venido usando cada vez más.

7. BIBLIOGRAFÍA.

1. BERMAN G, BUSH M, BUSH P, FREEMAN A, LOOMIS P, MILLER R. Dental identification. In D. R. Senn, R. A. Weems, editors. Manual of forensic odontology, 5th ed. 2013. Boca Raton: CRC Press; 2013. p. 81-87
2. ADSERIAS-GARRIGA J, ZAPICO S. Identificación humana por medios odontológicos y la bioquímica del diente como muestra. Rev Int Antropol Odontol Forense. 2020; 3(1):17-30.
3. ADSERIAS-GARRIGA J, THOMAS C, UBELAKER D, ZAPICO S. When forensic odontology met biochemistry: Multidisciplinary approach in forensic human identification Archives of Oral Biology, 2018; 87:7-14.

4. WITAS HW, TOMCZYK J, JEDRYCHOWSKA-DAŃSKA K, CHAUBEY G, PŁOSZAJ T. mtDNA from the early Bronze Age to the Roman period suggests a genetic link between the Indian subcontinent and Mesopotamian cradle of civilization. *PLoS One*. 2013; 8(9):e736-82.
5. AEAOF. Asociación Española de Antropología y Odontología Forense. Disponible en: <https://aeaof.com/>
6. CLOOS PA, FLEDELIUS C. Collagen fragments in urine derived from bone resorption are highly racemized and isomerized: a biological clock of protein aging with clinical potential. *Biochem J*. 2000; 345 Pt 3:473-80.
7. ALKASS K, BUCHHOLZ BA, DRUID H, SPALDING KL. Analysis of ¹⁴C and ¹³C in teeth provides precise birth dating and clues to geographical origin. *Forensic Sci Int*. 2011; 209(1-3):34-41.
8. MURAKAMI G, ABE M, ABE T. Last-intercalated node and direct lymphatic drainage into the thoracic duct from the thoracoabdominal viscera. *Jpn J Thorac Cardiovasc Surg*. 2002; 50(3):93-103.
9. ZAPICO SC, UBELAKER DH. Relationship Between Mitochondrial DNA Mutations and Aging. Estimation of Age-at-death. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2016; 71(4):445-50.
10. BEKAERT B, KAMALANDUA A, ZAPICO SC, VAN DE VOORDE W, DECORTE R. Improved age determination of blood and teeth samples using a selected set of DNA methylation markers. *Epigenetics*. 2015; 10(10):922-30.
11. MARTIN-DE LAS HERAS S, VALENZUELA A, VILLANUEVA E. Deoxypyridinoline crosslinks in human dentin and estimation of age. *Int J Legal Med*. 1999; 112(4):222-6.
12. BAYNES JW. The role of AGEs in aging: causation or correlation. *Exp Gerontol*. 2001; 36(9):1527-37.
13. MÁRQUEZ-RUIZ AB, GONZÁLEZ-HERRERA L, VALENZUELA A. Usefulness of telomere length in DNA from human teeth for age estimation. *Int J Legal Med*. 2018; 132(2):353-9.
14. MASTERS PM, BADA JL, SAMUEL ZIGLER J. Aspartic acid racemisation in the human lens during ageing and in cataract formation. *Nature*. 1977; 268(5615):71-3.
15. OHTANI S. Estimation of age from dentin by using the racemization reaction of aspartic acid. *Am J Forensic Med Pathol*. 1995; 16(2):158-61.
16. OHTANI S. Estimation of age from the teeth of unidentified corpses using the amino acid racemization method with reference to actual cases. *Am J Forensic Med Pathol*. 1995; 16(3):238-42.
17. RITZ S, SCHÜTZ HW, PEPPER C. Postmortem estimation of age at death based on aspartic acid racemization in dentin: its applicability for root dentin. *Int J Legal Med*. 1993; 105(5):289-93.
18. ROBINS SP, SHIMOKOMAKI M, BAILEY AJ. The chemistry of the collagen cross- links. Age-related changes in the reducible components of intact bovine collagen fibres. *Biochem J*. 1973; 131(4):771-80.
19. COUNTER CM, AVILION AA, LEFEUVRE CE, STEWART NG, GREIDER CW, HARLEY CB, et al. Telomere shortening associated with chromosome instability is arrested in immortal cells, which express telomerase activity. *EMBO J*. mayo de 1992; 11(5):1921-9.
20. TAKASAKI T, TSUJI A, IKEDA N, OHISHI M. Age estimation in dental pulp DNA based on human telomere shortening. *Int J Legal Med*. 2003; 117(4):232-4.
21. HARMAN D. The Free Radical Theory of Aging: The Effect of Age on Serum Mercaptan Levels. *J Gerontol*. 1960; 15(1):38-40.
22. WEI Y-H, LEE H-C. Oxidative stress, mitochondrial DNA mutation, and impairment of antioxidant enzymes in aging. *Exp Biol Med (Maywood)*. 2002; 227(9):671-82.
23. MÖRNSTAD H, PFEIFFER H, YOON C, TEIVENS A. Demonstration and semi- quantification of mtDNA from human dentine and its relation to age. *Int J Legal Med*. 1999; 112(2):98-100.
24. FRAGA MF. Genetic and epigenetic regulation of aging. *Curr Opin Immunol*. 2009; 21(4):446-53.
25. FLORATH I, BUTTERBACH K, MÜLLER H, BEWERUNGE-HUDLER M, BRENNER H. Cross- sectional and longitudinal changes in DNA methylation with age: an epigenome-wide analysis revealing over 60 novel age-associated CpG sites. *Hum Mol Genet*. 2014; 23(5):1186-201.
26. SAKARI SL, JIMSON S, MASTHAN KMK, JACOBINA J. Role of DNA profiling in forensic odontology. *J Pharm Bioallied Sci*. 2015; 7(Suppl 1):S138-141.
27. LIBERATI A, ALTMAN DG, TETZLAFF J, MULROW C, GÖTZSCHE PC, IOANNIDIS JPA, et al. The PRISMA statement for reporting systematic reviews and meta-analyses of studies that evaluate health care interventions: explanation and elaboration. *Journal of Clinical Epidemiology*. 1 de octubre de 2009; 62(10):e1-34.
28. ASTUDILLO-RUBIO D, DELGADO-GAETE A, BELLOT-ARCÍS C, MONTIEL-COMPANY JM, PASCUAL-MOSCARDÓ A, ALMERICH-SILLA JM. Mechanical properties of provisional dental materials: A systematic review and meta-analysis. *PLoS One*. 2018 Feb 28; 13(2):e0193162.
29. FONT L, JONKER G, VAN AALDEREN PA, SCHILTMANS EF, DAVIES GR. Provenancing of unidentified World War II casualties: Application of strontium and oxygen isotope analysis in tooth enamel. *Sci Justice*. 2015; 55(1):10-7.
30. NAGAMINE F, MATSUNAGA S, KASAHARA N, ISHIKAWA N, ABE S, HASHIMOTO M. Estimating Living Age Using Stable Isotopes in Japanese Radicular Dentin. *J Hard Tissue Biol*. 2020; 29(1):31-6.
31. GIULIANI C, CILLI E, BACALINI MG, PIRAZZINI C, SAZZINI M, GRUPPIONI G, et al. Inferring chronological age from DNA

- methylation patterns of human teeth. *Am J Phys Anthropol.* 2016; 159(4):585-95.
32. MÁRQUEZ-RUIZ AB, GONZÁLEZ-HERRERA L, LUNA J DE D, VALENZUELA A. DNA methylation levels and telomere length in human teeth: usefulness for age estimation. *Int J Legal Med.* 2020;134(2):451-9.
33. GREIS F, RECKERT A, FISCHER K, RITZ-TIMME S. Analysis of advanced glycation end products (AGEs) in dentine: useful for age estimation? *Int J Legal Med.* 2018;132(3):799-805.
34. VALENZUELA A, GUERRA-HERNÁNDEZ E, RUFÍAN-HENARES JÁ, MÁRQUEZ-RUIZ AB, HOUGEN HP, GARCÍA-VILLANOVA B. Differences in non-enzymatic glycation products in human dentine and clavicle: changes with aging. *Int J Legal Med.* 2018; 132(6):1749-1758.
35. SEKIMIZU T, SHIMODA S, HOSOYA N. Age-related Changes in Root Dentin - Measurement of Hypercalcified Root Dentin Using