



UNIVERSIDAD NACIONAL

PEDRO RUIZ GALLO

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE BIOLOGÍA



TESIS

**Cuantificación de ADN pulpar en dientes molares expuestos a factores
físicos, químicos y biológicos de interés criminalístico**

Para optar el Título Profesional de Licenciado (a) en Ciencias
Biológicas- *Biología*

Autores:

Torres Mayanga, Jefferson Emanuel

Yanagui De La Cruz, Chie Milagros

Asesor:

Msc. Mblgo. Cesar Alberto Cabrejos Montalvo

28 de Enero de 2026

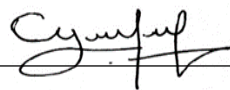
Lambayeque – Perú

Cuantificación de ADN pulpar en dientes molares expuestos a factores físicos, químicos y biológicos de interés criminalístico.



Jefferson Emanuel Torres Mayanga

Autor

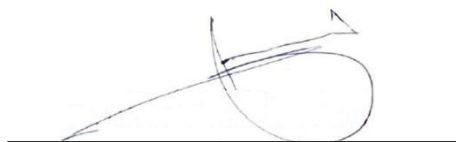


Chie Milagros Yanagui De La Cruz

Autor

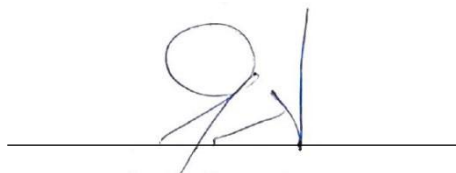
Para optar el Título Profesional de Licenciado (a) en Ciencias Biológicas- *Biología*

Aprobado por:



Dr. César Alberto Guzmán Vigo

Presidente



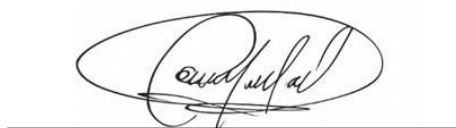
MSc. Marco Antonio Guzmán Tello

Secretario



MSc. Wilmer Leoncio Calderón Mundaca

Vocal



Msc. César Alberto Cabrejos Montalvo

Asesor

ACTA DE SUSTENTACIÓN



UNIVERSIDAD NACIONAL PEDRO RUIZ GALLO
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
UNIDAD DE INVESTIGACIÓN



ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS N° 14-2026 / FCCBB-UI

Siendo las 12:00 horas del día 28 de enero de 2026, en la Sala de Sesiones - Sustentaciones de la Facultad de Ciencias Biológicas se reunieron los miembros del Jurado designado mediante **Resolución N° 279-2023-VIRTUAL-FCCBB/D de fecha 17 de octubre de 2023 y Resolución de aprobación de proyecto N° 553-2025-FCCBB/D, de fecha 17 de noviembre de 2025**, conformado por:

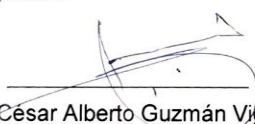
Dr. César Alberto Guzmán Vigo-Presidente
Dr. Marco Antonio Guzmán Tello-Secretario
Mg. Wilmer Leoncio Calderón Mundaca- Vocal
Mg. César Alberto Cabrejos Montalvo- Asesor

con la finalidad de evaluar la sustentación de tesis titulada: **Cuantificación de ADN pulpar en dientes molares expuestos a factores físicos, químicos y biológicos de interés criminalístico**, a cargo de los Bachilleres **JEFFERSON EMANUEL TORRES MAYANGA y CHIE MILAGROS YANAGUI DE LA CRUZ**.

Sustentación autorizada mediante **RESOLUCIÓN N° 027-2026-FCCBB-D, de fecha 16 de enero de 2026** la misma que tuvo una duración de 30 minutos y luego de absueltas las preguntas y observaciones de los miembros del jurado; se procedió a la calificación respectiva, obteniendo 18 puntos que equivale al calificativo de Muy Bueno.

Por lo que los sustentantes quedan **APTOS** para obtener el **título profesional de Licenciado(a) en Ciencias Biológicas-Biología** de acuerdo con la Ley Universitaria 30220 y la normatividad vigente de la Facultad de Ciencias Biológicas y la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo.

Siendo las 13:30 horas se dio por concluido el presente acto académico, dándose conformidad al presente acto, con la firma de los miembros del jurado.


Dr. César Alberto Guzmán Vigo
Presidente


Dr. Marco Antonio Guzmán Tello
Secretario


Mg. Wilmer Leoncio Calderón Mundaca
Vocal


Mg. César Alberto Cabrejos Montalvo
Asesor

CONSTANCIA DE VERIFICACIÓN DE ORIGINALIDAD

Yo, MSc. **CESAR ALBERTO CABREJOS MONTALVO**; usuario revisor del informe de tesis titulado: “**CUANTIFICACIÓN DE ADN PULPAR EN DIENTES MOLARES EXPUESTOS A FACOTRES FÍSICOS, QUÍMICOS Y BIOLÓGICOS DE INTERÉS CRIMINALÍSTICO**”

Cuyos autores son, Bach. **JEFFERSON EMANUEL TORRES MAYANGA** con DNI: **72500945** y Bach. **CHIE MILAGROS YANAGUI DE LA CRUZ** con DNI: **77290576**; declaro que la evaluación realizada por el Programa informático, ha arrojado un porcentaje de similitud de **9%**, verificable en el Resumen de Reporte automatizado de similitudes que se acompaña.

El suscrito analizó dicho reporte y concluyó que cada una de las coincidencias detectadas dentro del porcentaje de similitud permitido no constituyen plagio y que el documento cumple con la integridad científica y con las normas para el uso de citas y referencias establecida en los protocolos respectivos.

Se cumple con adjuntar el Recibo Digital a efectos de la trazabilidad respectiva del proceso.

Lambayeque, 26 de enero del 2026



MSc. Cesar Alberto Cabrejos Montalvo
41984097
ASESOR



Recibo digital

Este recibo confirma que su trabajo ha sido recibido por **Turnitin**. A continuación podrá ver la información del recibo con respecto a su entrega.

La primera página de tus entregas se muestra abajo.

Autor de la entrega: **Jefferson Torres Mayanga Chie Yanagui De La Cruz**
Título del ejercicio: **Quick Submit**
Título de la entrega: **CUANTIFICACIÓN DE ADN PULPAR EN DIENTES MOLARES EXP...**
Nombre del archivo: **INFORME_DE_PROYECTO_DE_TESIS.pdf**
Tamaño del archivo: **4.33M**
Total páginas: **77**
Total de palabras: **13,836**
Total de caracteres: **75,142**
Fecha de entrega: **17-oct-2025 01:21p. m. (UTC-0500)**
Identificador de la entrega: **2784238439**



MSc. Cesar Alberto Cabrejos Montalvo

41984097

Asesor

CUANTIFICACIÓN DE ADN PULPAR EN DIENTES MOLARES EXPUESTOS A FACTORES FÍSICOS, QUÍMICOS Y BIOLÓGICOS DE INTERÉS CRIMINALÍSTICO

INFORME DE ORIGINALIDAD

9%

INDICE DE SIMILITUD

8%

FUENTES DE INTERNET

2%

PUBLICACIONES

3%

TRABAJOS DEL
ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1

repositorio.ug.edu.ec

Fuente de Internet

1%

2

repositoriobibliotecas.uv.cl

Fuente de Internet

1%

3

riuma.uma.es

Fuente de Internet

1%

4

hdl.handle.net

Fuente de Internet

1%

5

Submitted to Universidad Nacional Pedro Ruiz
Gallo

Trabajo del estudiante

<1%

6

repositorio.unbosque.edu.co

Fuente de Internet

<1%

7

cybertesis.unmsm.edu.pe

Fuente de Internet

<1%



MSc. Cesar Alberto Cabrejos Montalvo

41984097

Asesor

8	Submitted to Universidad San Francisco de Quito Trabajo del estudiante	<1 %
9	repositorio.umsa.bo Fuente de Internet	<1 %
10	es.scribd.com Fuente de Internet	<1 %
11	scielo.isciii.es Fuente de Internet	<1 %
12	riubu.ubu.es Fuente de Internet	<1 %
13	estudogeral.sib.uc.pt Fuente de Internet	<1 %
14	repositorio.uax.es Fuente de Internet	<1 %
15	www.coursehero.com Fuente de Internet	<1 %
16	biblioteca.usac.edu.gt Fuente de Internet	<1 %
17	repositorio.unjbg.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
18	1library.co Fuente de Internet	<1 %

digibug.ugr.es



MSC. Cesar Alberto Cabrejos Montalvo

41984097

Asesor

19	Fuente de Internet	<1 %
20	digitalis-dsp.uc.pt Fuente de Internet	<1 %
21	idus.us.es Fuente de Internet	<1 %
22	repositorio.unsch.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
23	repositorio.unicoc.edu.co:8080 Fuente de Internet	<1 %
24	tesis.usat.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
25	repositorio.unac.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
26	repositorio.upagu.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
27	Tamara Leskovar, Irena Zupanič Pajnič. "Comparative analysis of DNA preservation in permanent and deciduous teeth of adults and non-adults: Implications for archaeological and forensic research", Forensic Science International, 2023 Publicación	<1 %
28	Submitted to Universidad Católica Boliviana "San Pablo"	<1 %



MSC. Cesar Alberto Cabrejos Montalvo

41984097

Asesor

DEDICATORIA

A mis padres y hermanos que siempre me otorgaron sus palabras de apoyo y confianza desde el momento uno.

A mis amigos que nunca me abandonaron y siempre estuvieron motivándome con palabras y acciones que hicieron que cada momento negativo sea mucho más llevadero

Y en especial agradecer a esas dos mujeres que, aunque ya no están conmigo físicamente, sé en mi corazón que serían las más felices de cada logro que estoy obteniendo y por las cuales me esforzaré cada día más para hacerlas sentir orgullosas.

Chie M. Yanagui de la Cruz

A Dios, por ser mi guía en cada paso de este camino, por darme fortaleza en los momentos difíciles y sabiduría para no rendirme ante los desafíos.

A mi madre, por su amor incondicional, su esfuerzo constante y por enseñarme el valor del sacrificio y la perseverancia. A mi padre, por su ejemplo de responsabilidad, apoyo y confianza en mis capacidades.

A mis abuelos, por sus consejos, oraciones y el cariño que siempre me impulsó a seguir adelante. Y a mi hermana, por su alegría, comprensión y motivación inagotable, que hicieron más llevadero este proceso.

Este logro es tan mío como de ustedes, porque sin su amor y presencia nada de esto habría sido posible.

Jefferson E. Torres Mayanga

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por brindarme la fortaleza y sabiduría necesarias para culminar esta etapa académica.

A mis padres, por su amor, sacrificio y apoyo incondicional; y a mis abuelos, hermana y a toda mi familia, por su constante motivación y respaldo.

A mi compañera de tesis, por su dedicación, compromiso y colaboración a lo largo de este proceso de investigación. A José Ernesto Cubas Farro, por ofrecerme la oportunidad de acceder a los laboratorios de Geneticalab, donde desarrollé la parte experimental de este trabajo, así como por su valiosa ayuda y orientación que contribuyeron a la mejora de esta tesis.

Finalmente, a mis profesores, por sus valiosas orientaciones y aportes que fortalecieron y enriquecieron el desarrollo de este estudio.

A mis padres, hermanos, abuelas y amigos por el amor y apoyo incondicional desde el primer momento hasta el día de hoy.

A mi compañero de tesis, por no ser solo un acompañante dentro del campo científico sino un amigo del cual me pude apoyar a lo largo de este proyecto de investigación. A la Blga.

Vanny Soplapuco Vilches y la Blga. Julissa Barturén Sandoval por su disposición, enseñanzas técnicas que enriquecieron enormemente mi formación práctica y profesional y por el ambiente de colaboración que me permitió avanzar con confianza

Y a mis maestros, por su dedicación y compromiso, quienes a lo largo de mi formación académica han contribuido significativamente en mi desarrollo personal y profesional

ÍNDICE GENERAL

ACTA DE SUSTENTACIÓN.....	iii
DECLARACIÓN JURADA DE ORIGINALIDAD	iv
DEDICATORIA.....	viii
AGRADECIMIENTOS.....	x
ÍNDICE GENERAL.....	xi
ÍNDICE DE TABLAS	xii
ÍNDICE DE FIGURAS	xiii
RESUMEN.....	xiv
ABSTRACT	xv
INTRODUCCIÓN	1
CAPITULO I. DISEÑO TEORICO.....	4
1.1. Antecedentes.....	4
1.2. Bases teóricas	10
1.3. Bases Conceptuales	16
CAPÍTULO II. DISEÑO METODOLÓGICO.....	17
2.1. Tipo y diseño de contrastación de hipótesis	17
2.2. Población y muestra de estudio.....	17
2.3. Métodos, técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	18
CAPÍTULO III: RESULTADOS	22
CAPÍTULO IV: DISCUSIÓN.....	33
CONCLUSIONES	37
RECOMENDACIONES	38
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	39
ANEXOS	49

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Características morfológicas estructurales a nivel de consistencia en los dientes molares expuestos a diferentes temperaturas (100 °C, 200 °C, 300 °C, 400 °C y 500 °C).....	24
Tabla 2. Características morfológicas estructurales a nivel de integridad en los dientes molares expuestos a diferentes temperaturas (100 °C, 200 °C, 300 °C, 400 °C y 500 °C).....	25
Tabla 3. Cambio en la coloración de los dientes molares a nivel de corona expuestos a diferentes temperaturas (100 °C, 200 °C, 300 °C, 400 °C y 500 °C)	26
Tabla 4. Cambio en la coloración de los dientes molares a nivel de corona expuestos a diferentes temperaturas (100 °C, 200 °C, 300 °C, 400 °C y 500 °C)	26
Tabla 5. Características morfológicas de los dientes molares expuestos a diferentes concentraciones (10%, 12%, 15%, 25% y 37%) de HCl	27
Tabla 6. Características morfológicas de los dientes molares con lesiones cariosas desde nivel superficial hasta moderado	28
Tabla 7. Cuantificación de ADN pulpar (ng/μL) en muestras de dientes molares control y dientes molares según el tipo de exposición	29
Tabla 8. Calidad del ADN según el R1 (A260/A280) y EL R2 (A260/A230) en muestras control y dientes molares según el tipo de exposición.....	30
Tabla 9. Comparaciones Post Hoc entre los grupos experimentales según el tipo de factor de exposición en la cuantificación del ADN pulpar	34

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. <i>Concentración media de ADN muestras a los diferentes factores de exposición en estudio y control</i>	32
Figura 2. <i>Concentración media de ADN muestras a los diferentes factores de exposición en estudio y control en relación a la pureza del ADN</i>	33
Figura 3. <i>Concentración media de ADN muestras a los diferentes factores de exposición en estudio y control en relación a la integridad del ADN</i>	33

RESUMEN

El presente estudio tuvo como objetivo cuantificar el ADN pulpar en dientes molares expuestos a factores físicos (altas temperaturas), químicos (ácido clorhídrico) y biológicos (caries dentales), con fines de interés criminalístico. Se trabajó con 20 dientes distribuidos en cuatro grupos experimentales (control, físico, químico y biológico), a los que se les aplicaron tratamientos específicos según cada condición. Posteriormente, se realizó la extracción del tejido pulpar utilizando un kit comercial de purificación por columnas de sílica y la cuantificación se efectuó mediante espectrofotometría UV/Vis. Los datos obtenidos fueron analizados mediante estadística descriptiva (media $\pm$ desviación estándar) y comparaciones entre grupos experimentales. Los resultados mostraron que el grupo control presentó las concentraciones más altas de ADN (31.704 - 86.445 ng/ μ L), mientras que los dientes sometidos a altas temperaturas (100 – 500 °C) y HCl (10 % – 37 %) evidenciaron una disminución progresiva, alcanzando valores mínimos de 0.996 y 1.787 ng/ μ L, respectivamente. En el grupo biológico, las muestras con caries superficiales conservaron niveles medidos (hasta 53.847 ng/ μ L), mientras que las caries moderadas mostraron una reducción significativa de hasta 1.414 ng/ μ L. Se concluye que, aunque los factores de degradación alteran la cantidad y calidad del ADN recuperado, la pulpa dental sigue siendo una fuente viable de material genético útil en escenarios de identificación forense.

Palabras clave: ADN pulpar, dientes molares, columnas de sílice, identificación forense, degradación dental.

ABSTRACT

The aim of this study was to quantify pulp DNA in molar teeth exposed to physical (high temperatures), chemical (hydrochloric acid) and biological (dental caries) factors, for criminalistic purposes. We worked with 20 teeth distributed in four experimental groups (control, physical, chemical and biological), to which specific treatments were applied according to each condition. Subsequently, pulp tissue was extracted using a commercial kit for purification by silica columns and quantification was carried out by UV/Vis spectrophotometry. The data obtained were analyzed using descriptive statistics (mean $\pm$ standard deviation) and comparisons between experimental groups. The results showed that the control group presented the highest DNA concentrations (31.704 - 86.445 ng/ μ L), while the teeth subjected to high temperatures (100 - 500 °C) and HCl (10 % - 37 %) evidenced a progressive decrease, reaching minimum values of 0.996 and 1.787 ng/ μ L, respectively. In the biological group, samples with superficial caries retained measured levels (up to 53,847 ng/ μ L), while moderate caries showed a significant reduction of up to 1,414 ng/ μ L. It is concluded that, although degradation factors alter the quantity and quality of recovered DNA, dental pulp remains a viable source of genetic material useful in forensic identification scenarios.

Key words: pulp DNA, molar teeth, silica columns, forensic identification, dental degradation.

INTRODUCCIÓN

En una escena del crimen, es frecuente encontrar cadáveres en distintos grados de deterioro como: mutilación, putrefacción o calcinación, lo que representa un gran desafío para la identificación forense (Ferreira et al., 2005). En tales circunstancias, la recolección de material genético se ve limitada, por lo que se recurre a tejidos más resistentes como los huesos y, especialmente, los dientes (Clavo & Miranda, 2021). En el contexto de cadáveres calcinados, el grado avanzado de descomposición dificulta la recuperación de ADN, lo que resalta la importancia de utilizar estructuras capaces de proteger dicho material, como la pulpa dentaria (López-Palafox, 2002). Al estar rodeada por dentina y esmalte, la pulpa dental actúa como una barrera natural que preserva células con ADN incluso en condiciones extremas. Dentro de las piezas dentales, los molares son especialmente valiosos para la extracción genética debido a su anatomía y volumen pulpar (Briem et al., 2017).

La pulpa dentaria es un tipo de tejido conectivo laxo con abundante irrigación e inervación, lo que, sumado a su alta concentración y su mayor volumen en comparación a las otras estructuras dentales, la convierte en una fuente ideal de obtención de ADN (Pinchi et al., 2013). Histológicamente, presenta cuatro zonas bien definidas y está conformada por distintos tipos celulares como odontoblastos, fibroblastos, células ectomesenquimatosas, macrófagos y células sanguíneas nucleadas, todas ellas con un elevado contenido de material genético (Velasco, 2013). Entre estas últimas se encuentran los linfocitos, células plasmáticas, eosinófilos y mastocitos, cuya presencia se asocia principalmente a procesos inflamatorios (Malaver, 2002). La mayoría de estas células poseen núcleos bien definidos, lo que las convierte en una fuente rica de ADN genómico, fundamental para su uso en estudios y aplicaciones forenses (Salcedo & Cobos, 2016).

La cantidad de ADN obtenida a partir de la pulpa dentaria varía considerablemente según el tipo de pieza dental, ya sea incisivos, caninos, premolares o molares, debido a factores como el volumen pulpar, la anatomía interna y la protección estructural proporcionada por el esmalte y la dentina (Sánchez et al., 2019). Entre todos, los molares destacan por ofrecer las concentraciones más altas de ADN, superando los 60 ng/μL, gracias a su cámara pulpar más amplia y su morfología multirradicular, especialmente en sus regiones distales (Rubio et al., 2013). Los premolares, por su parte, presentan niveles intermedios, con cantidades que oscilan entre 40 y 45 ng/μL (Zapico & Ubelaker, 2013). En cambio, los caninos e incisivos, al contar con un volumen pulpar más reducido, y por quedar más expuestos a agentes externos cuando los tejidos blandos se deshidratan o se retraen, suelen proporcionar cantidades entre 20 y 25 ng/μL (Hervella et al., 2015).

Cabe resaltar que el ADN contenido en los tejidos dentales puede verse significativamente comprometido por la acción de diversos factores ambientales. Entre los factores físicos como la exposición a altas temperaturas producido en incendios o cremaciones, pueden desnaturalizar o fragmentar el ADN, dificultando su cuantificación, además de la alta contaminación de la muestra (Karkhanis et al., 2009)). En cuanto a los factores químicos, la exposición a sustancias como el ácido clorhídrico pueden alterar la estructura molecular del ADN, degradarlo o inhibir su extracción durante el proceso forense (Lovón, 2014). Por último, los factores biológicos, como las caries o infecciones microbianas, contribuyen a la disolución de los tejidos dentarios (Ubelaker & Parra, 2011), ya que generan un ambiente hostil que favorece la degradación del material genético debido a la actividad enzimática y la pérdida de tejido pulpar (Speller et al., 2012).

En escenas del crimen, la identificación de cadáveres calcinados representa un desafío debido a la destrucción de tejidos blandos por el calor; Sin embargo, la pulpa dental, protegida

por estructuras duras como el esmalte y la dentina, se mantiene como una fuente confiable de ADN para la identificación forense, reconocida por organismos internacionales como INTERPOL y la UNODC (INTERPOL, 2025). En este contexto, los dientes molares son especialmente valiosos por su mayor volumen pulpar y resistencia, factores que favorecen la preservación del ADN frente a condiciones adversas. Por ello, este estudio se enfoca en cuantificar el ADN pulpar en molares expuestos a factores físicos (altas temperaturas), químicos (ácido clorhídrico) y biológicos (caries dentales), para evaluar su viabilidad como fuente genética confiable en comparación con dientes intactos. Con estos objetivos, se busca proporcionar datos útiles para peritos forenses, así como aportar una base para futuras investigaciones en odontología forense y criminalística, optimizando la precisión en la identificación de víctimas en contextos complejos.

CAPITULO I. DISEÑO TEORICO

1.1. Antecedentes

Della et al. (2024) desarrollaron un ensayo de extracción “Kit Tbone Ex” (DNA Chip Research Inc.) para obtener ADN de muestras. Ellos muestran dentro de su kit la innovación al omitir el proceso de fragmentación de la muestra ósea. En este estudio se analizaron un total de 27 muestras (hueso y dientes) obtenidas de 15 casos forenses, estas muestras fueron expuestas a diferentes factores ambientales extremos (exposición por radiación solar, inmersión en agua de mar, enterrados, exposición a altas temperaturas, variaciones de humedad). Para este ensayo se utilizó el kit Tbone Ex antes del kit de extracción de ADN EZ2 en el instrumento EZ2 Connect Fx, después de la extracción se encontró que el 80% de los casos (22) si obtuvieron perfiles STR autosómicos y del cromosoma Y de alta calidad en un plazo relativamente corto, demostrando de manera práctica la efectividad del kit en la manipulación a la vez de varias muestras óseas, facilitando enormemente el proceso de obtención de ADN y la alta calidad de este material recuperado para análisis genéticos posteriores en muestras forenses que están muy deterioradas.

Madhumitta et al. (2024) realizaron una revisión sistemática centrada en el papel de la pulpa dental como herramienta en la identificación humana forense, considerando los diferentes escenarios donde la extracción de muestras se muestra como una tarea compleja por lo cual se evalúa el uso de la pulpa dental para la identificación valorando su aplicación para la determinación de datos importantes en la identificación (sexo, edad y grupo sanguíneo). Este análisis recopiló información de estudios previos disponibles en diversas bases de datos científicas. Entre los aspectos revisados se incluyen las características histológicas de la pulpa, los métodos para su extracción y las técnicas analíticas empleadas, como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), la detección del Corpúsculo de Barr, el análisis de amelogeninas y

métodos serológicos para tipificación sanguínea. Los hallazgos destacaron que la pulpa dental es una fuente estable y resistente de ADN, capaz de conservarse incluso bajo condiciones adversas. Por ello, los autores concluyen que la pulpa dental es un recurso valioso para procesos de identificación forense en casos de desastres masivos o investigaciones criminales.

Chávez B. M. et al. (2023) lograron identificar un individuo adulto expuesto a procesos de esqueletización e incineración utilizando como referencia el ADN de la pulpa dental extraído de tres molares de la dentición decidua del sujeto, se extrajo el ADN mediante el kit de extracción de ADN forense PrepFiler Express BTA™ que mediante el uso de partículas magnéticas obtuvo concentraciones $> 0.01 \text{ ng/ } \mu\text{L}$ de los tejidos duros restantes del cadáver con el cual se realizó el perfil genético mediante el kit multiplex comercial AmpFℓSTR® Identifiler Plus; mientras que por la tipificación de las muestras dentales se realizó con los kits Identifiler y MiniFiler, anteriormente a este paso se realizó todo el procedimiento como las muestras extraídas del cuerpo. Se calculó la probabilidad de coincidencia aleatoria de 1 en $2,70 \times 10^{21}$ con una probabilidad de paternidad del 99,9999% entre las muestras extraídas del cadáver y la dentición decidua como muestras de referencia para el reconocimiento, confirmando la identificación concluyendo la importancia de priorizar el uso de muestras de referencia de la presunta víctima como fuente de material genético para la identificación en este caso particular el uso de dientes deciduos constituyen una fuente altamente estable y confiable de ADN, especialmente útil en situaciones forenses complejas .

Reshma et al. (2022) demostraron que el HCl concentrado disuelve dientes completos en 24 horas, mientras que el diluido causa erosión gradual, con reducciones significativas en longitud bucal ($p < 0.05$), palatal y anchuras mesial/distal, medidas en días sucesivos. En esta investigación se confirman perfiles STR completos solo en exposiciones cortas (8 horas) a HCl, con pérdida progresiva, ya que se observó que el diente que se expuso a HCl concentrado tuvo

una disolución rápida mostrando grietas dentales en los 30 minutos, y con ello una disolución completa en las 24 h, mientras que el diente expuesto a HCl diluido, su disolución fue gradual por lo que su demora fue menor a la del HCl concentrado. Dando consigo una erosión y disolución en ambos casos, siendo el esmalte el encargado de persistir ante los ácidos. Estas alteraciones estructurales exponen y degradan la dentina y pulpa, donde reside el ADN, reduciendo su cuantificación viable limitando perfiles STR completos tras exposiciones prolongadas.

Molano (2021) realizó una revisión narrativa y sistemática sobre los efectos corrosivos de los diferentes tipos de ácidos en la dentición permanente considerando el impacto que presenta las actividades delictivas donde resalta el uso de ácidos corrosivos para la desintegración de evidencias, utilizadas en casos con fines criminalísticos. La revisión incluyó 15 artículos sacados de la base de datos PubMed, Embase y Scopus, de los cuales 9 cumplieron criterios de calidad metodológica. Se evaluaron variables como tipo de ácido, tipo de diente, cambios de coloración, reducción de tamaño, tiempo de exposición e instrumentos de medición. Los resultados indicaron que el ácido clorhídrico produjo los mayores cambios destructivos en la estructura dental, generando reducción significativa del tamaño alrededor de las dos horas y disolución total entre 25 y 48 horas en varios estudios, cabe mencionar que van a existir diferentes factores que participan en el tiempo y velocidad de desintegración dental. Y entre los ácidos HCl (37%), HNO₃ (65%), H₂SO₄ (96%), es el ácido clorhídrico el de mayor potencial que afecta al esmalte dental y con ello la afectación posterior de la corona y la raíz. Asimismo, se reportaron cambios macroscópicos más evidentes en dientes anteriores, aunque todos los tipos dentales mostraron susceptibilidad variable según el agente químico y el tiempo de exposición.

Kadashett V. et al. (2021) analizaron experimentalmente el efecto de ácidos concentrados sobre dientes permanentes con fines de identificación forense. La investigación, de diseño in vitro, evaluó 30 piezas dentales sumergidas en ácido clorhídrico (37%), ácido nítrico (65%) y ácido sulfúrico (96%), registrando cambios morfológicos y tiempos de disolución. Los resultados mostraron que el HCl produjo disolución completa entre 18 y 20 horas, el HNO₃ alrededor de las 16 horas y el H₂SO₄ entre 120 y 130 horas, evidenciando diferencias en la capacidad destructiva y en los patrones de degradación. Los autores concluyeron que, pese a la acción corrosiva, los dientes pueden conservar estructuras reconocibles durante periodos significativos, especialmente en el caso del ácido sulfúrico, lo que mantiene su valor en la identificación humana. Asimismo, destacaron que las piezas dentales constituyen reservorios importantes de ADN nuclear y mitocondrial, aunque su calidad y cantidad dependen del ambiente químico al que hayan sido expuestas. Como aporte relevante, el estudio sugiere la necesidad de investigar la viabilidad de extracción y análisis de ADN en dientes sometidos a ácidos concentrados, lo cual sustenta investigaciones orientadas a la cuantificación de ADN en molares expuestos a diferentes factores degradativos en el ámbito forense.

Cadenas & Garrido (2020) realizaron una investigación con el objetivo de evaluar la influencia de diversos factores en la cantidad y calidad del ADN pulpar utilizado para la identificación en Odontología Forense. El estudio se basó en la recopilación y análisis de 28 artículos científicos obtenidos de las bases de datos PubMed y Scopus, evidenciando la escasez de investigaciones específicas en el área. Se identificaron factores externos, como entierro, inmersión e incineración, y factores propios del diente, como el tipo dental, la edad del individuo, el estado de la pieza y la presencia de dientes temporales. Los resultados mostraron que las condiciones post mortem ejercen la mayor influencia sobre la integridad y cantidad del

ADN pulpar. Sin embargo, se concluyó que el material genético extraído de la pulpa dental constituye una fuente confiable para la identificación forense.

Lozano P. D. (2020) realizó un estudio en la Universidad de Málaga, España, con el objetivo de evaluar la cantidad y calidad del ADN en piezas dentales sometidas a diferentes condiciones de estrés térmico. Se trabajó con 48 dientes obtenidos del Servicio de Odontología y Cirugía Maxilofacial de Cádiz. El análisis incluyó cuantificación, evaluación de integridad, tipificación y caracterización de la degradación mediante amplificación de marcadores STR, además de un estudio termogravimétrico acoplado a espectrometría de masas. Las muestras fueron sometidas a incrementos progresivos de temperatura de hasta 1000 °C y a ensayos isotérmicos entre 50 °C y 300 °C durante 60 minutos. Los resultados indicaron que el umbral de cambio detectable en la calidad y cantidad del ADN se presenta a 100 °C en una hora, mientras que la descomposición masiva de la estructura dental ocurre entre 350 °C y 400 °C.

Carrasco et al. (2019) evaluaron el rendimiento del método de extracción de ADN con el Kit Forense Dental (DFK) y la cuantificación con InnoQuant HY en muestras dentales sometidas a condiciones de degradación. La recuperación de tejidos dentales, incluyendo pulpa y cemento radicular, permitió obtener concentraciones de ADN variables, con valores que en algunos casos alcanzaron hasta 5.7 ng de ADN de cadena larga por muestra, indicando una calidad suficiente para análisis genéticos. La mayoría de las muestras (77%) presentaron índices de degradación moderada a baja, lo que facilitó la amplificación y secuenciación masiva de marcadores SNP y STR. La cuantificación precisa permitió seleccionar muestras aptas para los procedimientos posteriores, demostrando la utilidad del método para analizar muestras de difícil recuperación y conservación. Estos resultados evidencian que, mediante técnicas especializadas, es posible recuperar ADN de alta calidad desde dientes en condiciones adversas, ampliando las posibilidades en análisis forenses y genéticos.

Spirov et al. (2017) realizaron un estudio experimental con el objetivo de analizar la obtención de ADN a partir de diferentes tipos de dientes. Se trabajó con 45 dientes extraídos en la clínica de cirugía oral de Skopje, empleando la técnica de PCR en tiempo real en tejido pulpar y en dientes triturados sin pulpa. En una primera etapa se efectuó un análisis comparativo entre grupos dentales, observándose diferencias morfológicas. Los resultados mostraron que la mayor concentración de ADN se obtuvo en molares, con 0,230011 ng/μl/g de diente, mientras que la menor se halló en incisivos. Asimismo, el ADN extraído de la pulpa fue 85 veces superior al obtenido de los tejidos dentales duros. El estudio concluyó que la pulpa dental es la principal fuente de ADN y que los molares ofrecen los mayores rendimientos.

Alía - García et al. (2015) realizaron un estudio en la Facultad de Odontología de la Universidad Alfonso X El Sabio, España, con el objetivo de validar el uso de dientes cariados como fuente de material genético, comparándolos con dientes sanos. La investigación incluyó 120 piezas dentales: 60 sanas extraídas por motivos periodontales y 60 con caries que afectaban la cámara pulpar y la raíz. Se analizó la concentración y pureza del ADN mediante la prueba estadística de Wilcoxon. Los resultados mostraron que no existieron diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos en cuanto a la cantidad y pureza del ADN. Estos hallazgos confirmaron que los dientes con lesiones cariosas continúan siendo una fuente viable y confiable de material genético para la identificación forense.

1.2. Bases teóricas

El diente como reservorio de ADN

Los dientes humanos se definen como el conjunto de dientes presentes en un cuerpo humano en particular, esta personalización se basa en las características morfológicas y de posicionamiento de cada diente. Franco et al. (2014) presentan dos tipos: el primero, conocido como deciduo, temporal o caduco, cuenta con 20 piezas; y el segundo, la dentición permanente, que reemplaza gradualmente a la anterior, con 32 dientes. Ambos tipos contienen 8 incisivos (cuatro en cada hemiarcada), 4 caninos, uno en cada cuadrante, 8 premolares (4 en cada hemiarcada) y 8 o 12 molares (dependiendo de la dentición).

Los dientes son las estructuras corporales más resistentes, pudiendo permanecer incluso después de la muerte por los cuales se consideran importantes al momento de almacenar en su estructura información sobre los procesos fisiológicos y patológicos que han afectado al individuo. (Reesu et al., 2014) Los dientes al igual que los huesos como una fuente de ADN de gran importancia en especial en casos cuando las víctimas han sufrido alteración o destrucción de otros tejidos, ya que de estas estructuras se puede extraer una valiosa cantidad de material genético de las células nucleadas que se encuentran dentro de la zona pulpar y conductos radiculares que están protegidos de agentes químicos, físicos o biológicos por la dureza que aporta la matriz inorgánica del esmalte; sin embargo, al momento de seleccionar los dientes para la extracción de ADN se tienen en consideración factores como: mayor tamaño, mayor número de raíces, menor número de restauraciones o daños los cuales se encuentran en el fondo de la cavidad oral siendo estos los molares como mejores candidatos para la extracción (García & Palafox, 2019).

El diente como material de identificación

Dentro del campo forense se presentan innumerables ocasiones donde los peritos deben identificar a un individuo ya sea este desaparecido o desconocido, ante ello se utilizan diferentes herramientas y técnicas que tienen como objetivo mostrar información sobre el sujeto (De La Garza et al, 2019). Se emplean técnicas cualitativas como las entrevistas y recolección de testimonios, análisis de imágenes de vigilancia hasta técnicas más cuantitativas como los análisis antropológicos y de restos biológicos desde huellas dactilares, pelos, piezas dentales, entre otros. (Postillone et al., 2015).

Los dientes se destacan como fuente de información debido a su dureza que actúa como escudo ante los diversos factores corrosivos, los análisis comparativos odontológicos son ideales para la identificación de cadáveres con importante deterioro (Fonseca et al, 2013). Para llegar a una identificación inequívoca, se necesitan dos sets de información: la antemortem (AM) que proviene de los registros previos del supuesto fallecido, y la postmortem (PM) que se obtiene de los restos; estas dos fuentes de información deben coincidir para asegurar una identificación con validez científica además de su fiabilidad y aplicabilidad dentro de un plazo razonable de tiempo (Mai et al., 2020). Si hay discrepancias, estas deberían ser explicables por cambios biológicos o la causa de la muerte; si no se pueden explicar, la identificación se excluirá porque se asumirá que la información antemortem y postmortem pertenecen a personas diferentes.

Las piezas dentales pueden utilizarse para obtener muestras de ADN y, a través del análisis de su estructura, se pueden determinar características individuales como la edad, el sexo, la altura, la dieta, la ocupación, las lesiones y las enfermedades antemortem (Mendoza et al., 2019). La comparación de ciertas características dentales con muestras sospechosas puede

proporcionar información importante que puede ayudar a identificar a las personas en las investigaciones criminales. (Lizcano & Omaña, 2019).

La proporción de ADN en los tipos de dientes

De forma general, los tipos de dientes van a presentar características que los hará diferenciarse los unos de otros, en cuanto a la variación de la forma, el tamaño y los interespacios. Inclusive histológicamente no van a ser iguales, destacando tanto la desigualdad del volumen pulpar, siendo la pulpa, el tejido dental que presenta una mayor cantidad de células vascularizadas (Sweet y Sweet, 1995) como también la mayor superficie de raíz (multiradiculares o de una sola raíz) (Briem et al., 2017), estos dos factores se encuentran en relación con la proporción de ADN que puede extraerse en cantidades distintas en los dientes incisivos, caninos, premolares y molares.

Se han realizado diversos estudios teniendo en consideración cada tipo de diente y las proporciones de ADN que se obtienen de cada muestra. De Leo et al. (2020) demostraron que aquellos dientes que presentan mayor volumen pulpar, por relación presentan mayor número de células vascularizadas ricas en material genético. También Rubio et al. (2013) llegaron a un resultado semejante a los anteriores, debido a que encontraron más ADN en dientes multiradiculares, siendo usualmente los dientes molares y premolares, en comparación de los dientes de una sola raíz como son los incisivos y caninos (Speller et al., 2012). Aunque cabe mencionar que para Zapico & Ubelaker (2013) la dentina al igual que la pulpa presentan la misma cantidad de material genético.

Frente a esta validación de información presentada por varios autores que realizaron sus investigaciones con los diferentes tipos de dientes, los molares destacan tanto a nivel

estructural por su mayor resguardo dentro de la cavidad bucal como el reservorio odontológico que contiene la mayor cantidad de ADN.

El ADN en dientes molares expuestos a factores físicos

El diente cuando se expone a factores físicos como las altas temperaturas, presenta características propias macroscópicas que los difiere de un grado de temperatura a otro, sea el caso quemado; el diente se encuentra superficialmente manchado y con un cambio de color; cuando el diente es carbonizado, se reduce a carbón por combustión incompleta y si es incinerado, el diente suele presentarse reducido a cenizas (Salcedo & Cobos, 2016).

Cabe destacar la propiedad del esmalte y dentina como protector ante el ADN, estos tejidos brindan protección adicional a las sustancias genéticas en la pulpa dental frente a las condiciones de estrés térmico. (Rees & Cox, 2010), esto debido a que cuando se aumenta los grados de temperatura, el esmalte comienza a perder agua y esto provoca un aclaramiento al igual que una mayor opacidad, factores que se incrementan si es que se aumenta la temperatura, además provoca que el tercio cervical se fracture y consigo se separe la dentina (Espina et al., 2004). Posterior a ello, la dentina se comienza a carbonizar y esto hace que se reduzca su volumen radicular desde los 800°C, inclusive el cambio de color se verá afectado llegando a un marrón claro, el cual va oscureciendo a medida que se elevan los grados (Moreno et al., 2009). En efecto, la resistencia que proporcionan los tejidos duros de los dientes como es el esmalte y la dentina contra las elevadas temperaturas hacen que el tejido pulpar sea una excelente fuente de ADN.

Esto ha permitido que los investigadores estudien cuánto ADN se puede obtener de los dientes molares sometidos a diversos niveles de temperatura. En relación a la temperatura, Hughes et al. (2016) encontraron que la concentración ideal de ADN se alcanzó a un máximo

de 700°C durante 6 minutos. Por otro lado, en cuanto a la duración de la exposición al calor, Dobberstein et al. (2008) también reportaron resultados favorables desde un minuto a 300°C e incluso hasta 40 horas a 90°C

El ADN en dientes molares expuestos a factores químicos

El ácido clorhídrico (HCl) también conocido como muriático, es considerado como una disolución inorgánica altamente corrosiva al ser un líquido bastante ácido ($\text{pH} < 1$) (Huchthausen et al., 2020). Para comprender su efecto sobre la estructura dental, es necesario abordar el concepto de erosión dental, entendida como la pérdida progresiva de tejido dentario sin intervención microbiana, provocada por ácidos de origen intrínseco o extrínseco. Este fenómeno se observa en pacientes con gastritis crónica, bulimia, consumo excesivo de alcohol y otras patologías asociadas al reflujo gastroesofágico (Kanzow et al., 2016).

En el ámbito forense, el HCl se ha empleado de forma ilícita para la desintegración de restos humanos, dada su eficacia y fácil acceso comercial (Molano Gabalán, 2021). Estudios como el de Mazza et al. (2005) destacan que, frente a otras estructuras corporales, los dientes son los elementos que persisten por mayor tiempo tras la exposición a condiciones extremas, lo que refuerza su valor en la identificación post mortem. En cuanto a la acción de agentes químicos, Jadhav et al. (2009) reportaron que el ácido clorhídrico (HCl) es capaz de provocar la disolución completa de piezas dentales en aproximadamente 15 horas, un tiempo menor al registrado con otros ácidos fuertes, como el ácido nítrico (HNO_3) y el ácido sulfúrico (H_2SO_4).

El HCl, ya sea como componente del jugo gástrico o en su forma comercial, posee la capacidad de degradar de manera significativa el esmalte y la dentina, tejidos que protegen la pulpa dental. Esta acción se explica porque el esmalte comienza a desmineralizarse a un pH de 5,5 y la dentina a un pH de 6,5 (Li et al., 2017). La alteración de estas barreras estructurales

favorece la pronta exposición y eventual degradación del tejido pulpar, con la consiguiente disminución en la calidad y cantidad del ADN que contiene.

El ADN en dientes molares expuestos a factores biológicos

El ADN extraído de dientes con caries puede estar sujeto a degradación debido a la presencia de bacterias y ácidos que pueden dañar la estructura del ADN. Además, la presencia de contaminantes microbiológicos puede afectar la calidad del ADN extraído. Para validar el ADN extraído de dientes con caries, es importante realizar controles de calidad en cada paso del proceso de extracción de ADN para detectar la posible contaminación y degradación del ADN. Además, es necesario utilizar técnicas de extracción de ADN que sean adecuadas para manejar muestras de baja calidad, como la amplificación de múltiples fragmentos de ADN. (Cadenas & Garrido, 2020).

En el ámbito forense, las piezas dentales con caries suelen ser descartadas debido a que la exposición de la pulpa a microorganismos incrementa el riesgo de contaminación y la lesión cariosa puede deteriorar o destruir el tejido pulpar. No obstante, García et al. (2014) demuestran que, mediante la técnica de fragmentación radicular que consiste en raspar y recuperar el tejido pulpar remanente, es posible obtener ADN de concentración y pureza comparables a las registradas en dientes sanos. Estos hallazgos evidencian que, aun cuando los dientes cariados no sean la primera opción en análisis genéticos, pueden representar una fuente válida de material identificativo siempre que se apliquen protocolos de recuperación adecuados.

En todo proceso de extracción, resulta fundamental incorporar controles positivos y negativos. Los primeros corresponden a muestras de ADN de alta calidad, mientras que los segundos consisten en reactivos y equipos empleados durante el procedimiento, permitiendo así verificar la integridad del análisis y descartar la presencia de contaminantes externos.

1.3. Bases Conceptuales

Variables	Definición	Definición operacional	Dimensiones	Indicadores
Variable independiente: <i>Factor físico</i>	Factor físico se refiere a las condiciones externas que nos rodean, siendo algunos de ellos de origen atmosférico y otros de distinta procedencia (Acosta et al., 2016)	Las altas temperaturas degradan el diente complicando la extracción del material genético.	Temperatura	°C
<i>Factor químico</i>	Factor químico se refiere a los elementos, sustancias o compuestos químicos tóxicos que se pueden encontrar presentes en nuestro entorno (Robledo, 2015).	El HCl presenta la capacidad de afectar considerablemente a los tejidos del esmalte y la dentina, tejidos que cubren a la pulpa dental.	Concentración	%
<i>Factor biológico</i>	Factor biológico se refiere a los elementos biológicos que influyen en todas las características y rasgos hereditarios Arenas & Pinzón, 2011).	Las caries ocasionan daños que pueden destruir el tejido pulpar, debido a la presencia de bacterias y ácidos.	Tipo de Lesión	Lesión superficial
				Lesión moderada
Variable dependiente: <i>Cuantificación de ADN pulpar</i>	Esto se refiere al ADN que se encuentra en los componentes celulares del tejido pulpar que forman la mayor parte del diente (Wei et al., 2023)	Los niveles de ADN pulpar expuestos a los diferentes factores se obtendrán mediante espectrofotometría	Espectrofotometría UV-Vis	ng/μL

CAPÍTULO II. DISEÑO METODOLÓGICO

2.1. Tipo y diseño de contrastación de hipótesis

El presente estudio corresponde a una investigación de tipo **experimental-comparativa**, ya que se manipularon variables independientes (factores físicos, químicos y biológicos) para evaluar su efecto sobre la variable dependiente (cuantificación de ADN pulpar). Asimismo, se establecieron comparaciones entre los distintos grupos experimentales y el grupo control con el fin de identificar diferencias en la concentración y calidad del ADN obtenido.

2.2. Población y muestra de estudio

2.2.1. Población

Estuvo constituida por todos los dientes molares humanos con pulpa dental preservada, susceptibles de exposición a factores físicos, químicos y biológicos relacionados con procesos criminalísticos.

2.2.2. Muestras

El tamaño de la muestra fue determinado de manera intencional considerando la disponibilidad de piezas dentales con características adecuadas para el estudio y la naturaleza experimental del diseño. Se emplearon 20 dientes molares distribuidos en cuatro grupos experimentales con cinco muestras cada uno (control, físico, químico y biológico), lo cual permitió realizar comparaciones directas entre los diferentes factores de exposición y evaluar su efecto sobre la concentración de ADN pulpar. (Vásquez et al. 2012).

2.3. Métodos, técnicas e instrumentos de recolección de datos

2.3.1. Métodos y procedimientos de recolección:

Proceso de descontaminación y molienda del diente molar

Las muestras fueron sometidas a un baño de hipoclorito de sodio al 8 % durante 24 minutos. Posteriormente, se dejaron secar a temperatura ambiente en una cámara aséptica. A continuación, se removió aproximadamente 1 mm de la superficie dentaria utilizando un pulidor dental. Después, las muestras se sumergieron nuevamente en una solución de hipoclorito de sodio al 4 % durante 48 minutos. Finalmente, se secaron en condiciones estériles y se irradiaron con luz ultravioleta durante 30 minutos. (Shinoda et al, 2006 modificado por Cachay Wester, 2013) (**Anexo 7 y Anexo 8**)

Exposición de las muestras dentales ante los factores establecidos

Exposición a altas temperaturas

Se tomaron cinco dientes previamente descontaminados y se procedió a colocar en un crisol de alúmina una muestra independientemente, se rotuló y colocó directamente al horno tipo mufla. Cada diente se sometió a los siguientes parámetros de temperatura: 100, 200, 300, 400 y 500 °C en un intervalo de 60 minutos cada muestra. El aumento de temperatura dentro del horno comenzó aumentando gradualmente 10°C por minuto partiendo desde una temperatura ambiente (25 – 30°C), al llegar a las temperaturas establecidas por los parámetros se mantuvieron constantes hasta completar los 60 minutos, después de ellos las muestras eran extraídas del equipo al haberse reducido a una temperatura apta para su manipulación. (**Anexo 8**)

Exposición a concentraciones de HCl

Se midieron 25 ml de cinco soluciones de ácido clorhídrico a diferentes concentraciones (10%, 12%, 15%, 25% y 37%) en las cuales se sumergieron los dientes por separado en diferentes recipientes por 240 minutos, después del tiempo transcurrido se extrajeron las muestras del recipiente y se examinaron para comprobar si se habían producido cambios morfológicos; a continuación, se procedió con el proceso de pulverización de la muestra. (Jadhav et al. 2009 modificada por Torres y Yanagui, 2025) **(Anexo 7 y Anexo 8)**

Clasificación de los dientes contaminados por caries

Se seleccionaron dientes con caries visuales o aquellas diagnosticadas mediante radiografías con anterioridad por la especialista Cir. Od. Amalia Ana Arauco Nava **(Anexo 5)**, además de que se identificaron y clasificaron según el nivel de afección al diente: a nivel de esmalte y a nivel de dentina; para poder formar subgrupos según el nivel de afección de la caries **(Anexo 8)**. Después de la selección de las muestras se procedió a eliminar todo el material dental infectado con caries mediante fresas odontológicas y pieza de mano.

Proceso de pulverización de la muestra

Después de la exposición a los factores anteriormente presentados dentro de esta investigación, pasaron por refrigeración (-18°C) durante 10 minutos, inmediatamente los dientes fueron sumergidos en nitrógeno líquido por 20 minutos y luego se trituraron con un mortero, repitiendo el procedimiento hasta convertirlos en polvo fino. Al concluir la molienda, se realizó un pesaje para la adición de EDTA al 0.5M en proporción 1:2 con respecto a la muestra pulverizada para descalcificarla e incubando a 4°C por 5 días (Shinoda et al, 2006 modificado por Cachay Wester, 2013). Se realizó una limpieza exhaustiva con hipoclorito de sodio, alcohol absoluto y agua destilada tanto del mortero como del lugar de trabajo antes y

después de la manipulación de cada muestra. La indumentaria y el ambiente de trabajo fueron sometidos a luz ultravioleta durante 15 minutos (Aruquipa, 2019) (**Anexo 8**).

Extracción de ADN a partir del material obtenido

Se tomaron en consideración el protocolo de extracción del Kit de preparación de ADN de sangre animal y vegetal (Cellco, 2022) para la extracción de ADN (**Anexo 7 y Anexo 8**). La modificación se realizó teniendo en cuenta el protocolo comercial y las instrucciones de los fabricantes (Barrio-Caballero, 2013). Para la confirmación de obtención de extracción de material genético se utilizó el reactivo de Diamond Nucleic Acid Dye, se colocó en un tubo de reacción, 1 µL de reactivo más 1 µL de la muestra para llevarlo al transiluminador para verificar la reacción del colorante y así verificar la presencia de material genético en la muestra (**Anexo 12**).

Cuantificación de ADN por el método espectrofotométrico UV/ Vis Nabi

En un espectrofotómetro, en este caso el UV/ Vis Nabi colocándose 1µL de muestra en el equipo, seguidamente aparecen los datos obtenidos de la muestra (**Anexo 13-16**). En el programa del equipo protocolarmente se tiene en consideración tres valores: 1) Concentración ng/µL, 2) Relación A_{260}/A_{280} y 3) Relación A_{260}/A_{230}

2.3.2. Técnicas

Se emplearon técnicas de laboratorio propias de la genética forense y la biología molecular, tales como:

Extracción de ADN mediante kit comercial con columnas de sílica (Cellco®)

Siguiendo el protocolo establecido por el fabricante.

Cuantificación de ADN por espectrofotometría UV-Vis

Midiendo absorbancia a 260/280 nm y 260/230 nm para determinar cantidad y pureza.

Análisis estadístico de los resultados

Para comparar los valores de cuantificación entre grupos experimentales.

2.3.3. Instrumentos

Para el desarrollo de la investigación se utilizaron los siguientes instrumentos y equipos:

- Espectrofotómetro UV-Vis NanoDrop™.
- Centrífuga de mesa.
- Micropipetas automáticas (20–200 µL y 100–1000 µL).
- Puntas estériles con filtro.
- Tubos de microcentrífuga de 1.5 mL.
- Kit de extracción de ADN (Cellco®).
- Guantes y material de bioseguridad.

CAPÍTULO III: RESULTADOS

3.1. Cambios a nivel superficial

En esta sección se presentan los resultados obtenidos a partir del análisis visual y fotográfico de los dientes molares que fueron expuestos a distintos tipos de agresión externa: física (exposición al calor), química (inmersión en ácido clorhídrico) y biológica (lesiones cariosas de distinta profundidad). En cuanto a los cambios superficiales en dientes molares expuestos a diferentes temperaturas (100 °C, 200 °C, 300 °C, 400 °C y 500 °C) (**Anexo 9**) durante un periodo constante de una hora, se pudo observar las alteraciones progresivas en la consistencia y la integridad estructural de los dientes molares expuestos a diferentes temperaturas, cuya consistencia pasó de lisa a rugosa a partir de los 300 °C (**Tabla 1**), y la integridad mostró destrucción leve desde esa temperatura, con daño moderado en corona y raíz a 400 °C y 500 °C (**Tabla 2**).

Tabla 1.

Características morfológicas estructurales a nivel de consistencia en los dientes molares expuestos a diferentes temperaturas (100 °C, 200 °C, 300 °C, 400 °C y 500 °C)

Dientes expuestos a diferentes temperaturas					
	100°C	200°C	300°C	400°C	500°C
Consistencia					
Corona	L	SR	SR	R	R
Raíz	L	SR	SR	R	R

Leyenda: Esta tabla muestra las características morfológicas estructurales teniendo en cuenta la consistencia e integridad de los dientes molares sometidos a estrés térmico. En donde: L (liso), R (rugoso), SR (semi-rugoso), SA (sin alteraciones), DL (destrucción leve) y DM (destrucción moderada).

Tabla 2.

Características morfológicas estructurales a nivel de integridad en los dientes molares expuestos a diferentes temperaturas (100 °C, 200 °C, 300 °C, 400 °C y 500 °C)

	Dientes expuestos a diferentes temperaturas				
	100°C	200°C	300°C	400°C	500°C
Integridad					
Corona	SA	SA	DL	DL/DM	DL/DM
Raíz	SA	SA	DL	DL/DM	DL/DM

Leyenda: Esta tabla muestra las características morfológicas estructurales teniendo en cuenta la consistencia e integridad de los dientes molares sometidos a estrés térmico. En donde: R (rugoso), SR (semi-rugoso), SA (sin alteraciones), DL (destrucción leve) y DM (destrucción moderada).

De forma paralela, también se observaron cambios progresivos en la coloración de los dientes molares expuestos a diferentes temperaturas (100 °C, 200 °C, 300 °C, 400 °C y 500 °C) tanto de la corona como de la raíz a medida que aumenta la temperatura, desde 100 °C hasta 500 °C. En la corona, las tonalidades pasaron de blanco y blanco-amarillo en las temperaturas más bajas, hacia colores más oscuros como marrón, gris y gris oscuro en las más altas (**Tabla 3**). Mientras que, en la raíz, el cambio fue más evidente, con aparición de tonalidades anaranjadas y grises conforme se incrementó la temperatura (**Tabla 4**). Estos cambios visuales también se reflejan claramente en el **Anexo 9**.

Los cambios estructurales observados en la superficie dental, tales como alteraciones en la consistencia, integridad y coloración, pueden considerarse indicadores indirectos del estado de conservación del ADN pulpar, ya que reflejan el grado de deterioro de los tejidos dentales que protegen la pulpa. En este sentido, un mayor daño estructural se asoció con menores concentraciones de ADN recuperado.

Tabla 3.

Cambio en la coloración de los dientes molares a nivel de corona expuestos a diferentes temperaturas (100 °C, 200 °C, 300 °C, 400 °C y 500 °C)

	Dientes expuestos a diferentes temperaturas				
	100°C	200°C	300°C	400°C	500°C
Color					
Corona					
Blanco	X	x			
Blanco-amarillo	X	x	x		
Amarillo-naranja			x		
Marrón				x	
Gris				x	x
Gris oscuro					x

Tabla 4. *Cambio en la coloración de los dientes molares a nivel de corona expuestos a diferentes temperaturas (100 °C, 200 °C, 300 °C, 400 °C y 500 °C)*

	Dientes expuestos a diferentes temperaturas				
	100°C	200°C	300°C	400°C	500°C
Color					
Raíz					
Blanco	X				
Blanco-amarillo	X	x			
Amarillo-naranja		x	x	x	
Anaranjado			x	x	
Gris			x	x	x
Gris oscuro					x

En cuanto a los cambios superficiales en dientes molares expuestos a soluciones de ácido clorhídrico (HCl) de diferentes concentraciones (10%, 12%, 15%, 25% y 37%) durante un periodo de 4 horas (**Anexo 10**) muestra un deterioro progresivo en la superficie dentaria en función del aumento en la concentración del ácido. Desde las concentraciones más bajas ya se

evidenció una efervescencia en la superficie. Lo que indica una interacción inmediata del ácido con los tejidos dentales y a medida que la concentración del ácido aumentó, los dientes mostraron mayor pérdida de transparencia y signos de desintegración, afectando desde el tercio apical hasta el tercio medio de la raíz (**Tabla 5**).

Tabla 5.

Características morfológicas de los dientes molares expuestos a diferentes concentraciones (10%, 12%, 15%, 25% y 37%) de HCl

	Dientes molares expuestos a HCl				
	10%	12%	15%	25%	37%
Efervescencia	x	x	x	x	x
Transparencia		x	x	x	x
Desintegración del tercio apical			x	x	x
Desintegración hasta el tercio medio de la raíz				x	x

Por último, se observaron los cambios superficiales en dientes molares con distintos grados de afectación cariosa, desde una lesión superficial hasta una lesión moderada (**Anexo 11**), en donde muestra un deterioro progresivo en la superficie dentaria en función del aumento de la carie. En los casos de lesión superficial, el daño se limita al esmalte, con una coloración amarillo cremoso y sin alteraciones evidentes en la textura. En cambio, los dientes con lesión moderada presentan una coloración más intensa y signos visibles de desgaste en su textura, afectando tanto el esmalte como la dentina (**Tabla 6**).

Tabla 6.

Características morfológicas de los dientes molares con lesiones cariosas desde nivel superficial hasta moderado

	Dientes cariados	
	Lesión superficial	Lesión moderada
Coloración	Esmalte Amarillo cremoso	Esmalte – Dentina Amarillo – Naranja
Textura	SA	DL

Leyenda: Esta tabla muestra las características morfológicas estructurales teniendo en cuenta la consistencia e integridad de los dientes molares con presencia de lesiones cariosas. En donde: R (rugoso), SR (semi-rugoso), SA (sin alteraciones), DL (destrucción leve) y DM (destrucción moderada).

3.2. Extracción y cuantificación de muestras

Se realizó la extracción de ADN pulpar en 20 dientes molares, distribuidos en 4 grupos experimentales: control, factor físico (exposición al calor), factor químico (inmersión en ácido clorhídrico) y factor biológico (lesiones cariosas de distinta profundidad), con 5 dientes por grupo. Cada muestra fue procesada y extraída en triplicado para mejorar la veracidad y confiabilidad de los resultados (**Anexo 13-16**).

La cuantificación se expresó en ng/ul como media $\pm$ desviación estándar, y se resume en la (**Tabla 7**). El grupo control presentó los valores más altos de ADN, con concentraciones entre 38.78 ± 6.65 y 83.06 ± 4.25 ng/ μ L (**Anexo 13**), lo cual confirma la integridad de la pulpa dental en ausencia de factores de deterioro. En el caso del factor físico, se evidenció una disminución progresiva en la cantidad de ADN conforme aumentó el daño térmico, alcanzando valores tan bajos como 1.19 ± 0.22 ng/ μ L (**Anexo 14**), esta reducción sugiere que la exposición a altas temperaturas afecta directamente la integridad del material genético.

Para el factor químico, las muestras tratadas con ácido clorhídrico mostraron valores bajos y consistentes, desde 7.54 ± 2.97 hasta 1.92 ± 0.23 ng/ μ L (**Anexo 15**), esto indica que la exposición a soluciones ácidas, incluso por tiempos controlados, compromete significativamente la preservación del ADN. En cuanto al factor biológico, los resultados fueron más variables. Algunas muestras conservaron concentraciones moderadas (36.14 ± 15.39 ng/ μ L), mientras que otras presentaron niveles muy bajos (1.79 ± 0.36 ng/ μ L) (**Anexo 16**), esta variabilidad puede deberse al grado de progresión de la lesión cariosa, que influye en la protección o deterioro de la pulpa dental.

Tabla 7.

Cuantificación de ADN pulpar (ng/ μ L) en muestras de dientes molares control y dientes molares según el tipo de exposición

Concentraciones del ADN pulpar (ng/ μ L)			
Control	Factor Físico	Factor Químico	Factor Biológico
53.325	10.601	10.792	28.498
31.779	10.844	6.882	26.062
46.889	9.468	4.954	53.847
60.988	9.157	8.209	13.303
63.87	8.932	6.06	13.447
62.861	8.312	3.809	22.515
31.704	6.374	4.948	2.128
44.895	5.782	4.703	1.842
39.749	6.099	3.752	1.414
46.107	5.335	3.106	3.096
67.275	4.554	3.038	2.672
77.027	4.987	2.98	2.931
86.445	0.996	1.79	3.447
78.293	1.435	2.179	2.876
84.45	1.149	1.787	2.076

3.3. Absorbancia y relaciones de pureza

La cuantificación de concentraciones se obtuvo mediante los principios de la espectrofotometría del NanoDrop™, se tomaron en consideración los valores de absorbancia en relación A260/A280 (**R1**) y A260/A230 (**R2**) como indicadores de la pureza de la calidad e integridad del ADN respectivamente. Los resultados de cuantificación obtenidos mediante espectrofotometría se muestran en la **Tabla 8**.

Tabla 8.

Calidad del ADN según el R1 (A260/A280) y EL R2 (A260/A230) en muestras control y dientes molares según el tipo de exposición

Pureza del ADN pulpar							
Control		Factor Físico		Factor Químico		Factor Biológico	
R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2
1.98	2.01	1.63	0.54	1.79	0.33	1.96	0.75
1.99	1.87	1.51	0.52	1.79	0.31	1.88	0.58
2	1.89	1.54	0.54	1.86	0.29	1.91	1.17
1.9	2.03	1.55	0.36	1.72	0.38	2.04	0.5
1.77	1.83	1.61	0.34	1.7	0.4	2.02	0.49
1.91	2	1.68	0.32	1.69	0.35	2.05	0.88
1.95	1.7	1.55	0.56	1.67	0.36	1.93	0.53
2.04	1.87	1.61	0.54	1.71	0.32	1.73	0.39
2.06	1.52	1.61	0.52	1.78	0.34	2.41	0.43
1.97	1.73	1.58	0.57	1.75	0.26	1.73	0.17
2.08	1.47	1.56	0.51	1.77	0.25	1.56	0.31
2.05	1.6	1.63	0.58	1.75	0.23	1.78	0.18
2.07	2.06	1.41	0.33	2.23	0.24	2.35	0.13
2.09	2.27	1.64	0.23	2.19	0.2	2.37	0.1
1.98	2.36	1.52	0.38	2.18	0.21	2.53	0.05

En el grupo control que no fue sometido a ninguno de los factores estudiados en este proyecto, se halló absorbancias en el R1 desde los 1.77 – 2.09 mientras que en el R2 se obtuvo valores desde 1.47 – 2.36. En el grupo de muestras sometidas a estrés térmico, la cantidad de

ADN detectada bajó, al menos, no en un orden de magnitud ya que se consiguió obtener concentraciones desde los 1.41 resultante de las muestra expuesta a la más alta temperatura estudiada (500°C) mientras que el valor más alto se obtuvo por la muestra que se expuso a 300°C, el resto de muestras estuvieron incinerados estuvieron dentro de estos valores mientras que en el R2 se obtuvo valores desde los 0.23 – 0.58 viendo una gran diferencia en este rango en comparación a las muestras control.

En las muestras expuestas al sumergimiento de HCl dentro del R1 se logró obtener valores desde los 2.18 – 1.67 teniendo el máximo valores de aquella muestra expuesta a la más alta concentración de HCl mientras que el mínimo valor pertenece a la muestra expuesta a una concentración del 15% y en el R2 los valores oscilan entre 0.20 – 0.36. Y finalizando en las muestras con presencia de lesiones cariosas se obtuvieron valores en el R1 desde 1.56 - 2.53, ambos valores en muestras con lesiones cariosas a nivel de dentina mientras que en el R2 se logró obtener valores desde 0.05 – 1.17.

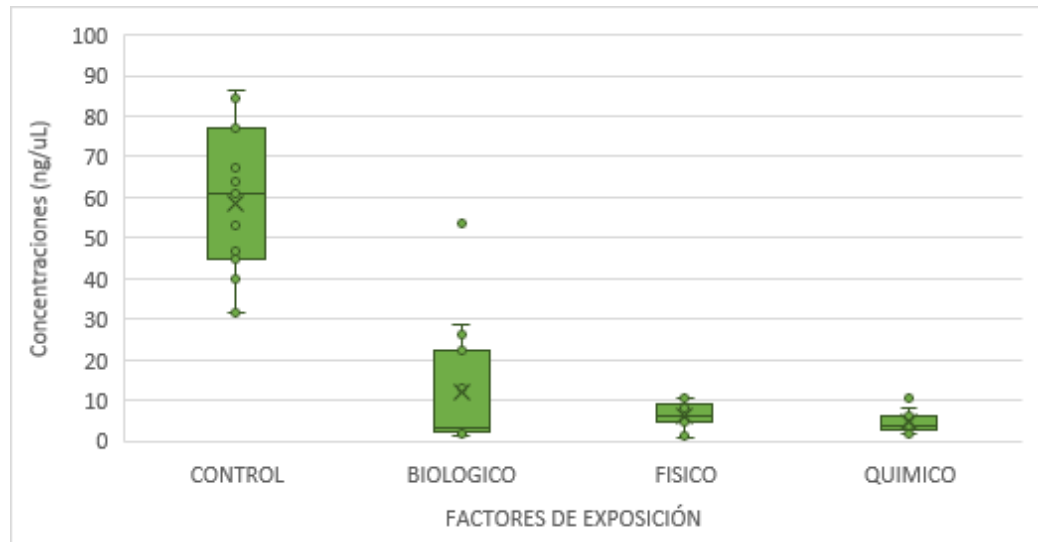
3.4. Correlaciones

3.4.1. Cuantificación de ADN - Factor de exposición

Tal y como se puede observar en la **Figura 1** se detectó que las concentraciones de ADN en los dientes control presentó mayores concentraciones de ADN 58.38 ± 18.13 ng/μL en comparación a las muestras expuestas a los factores en estudio teniendo un orden decreciente desde: biológico (presencia de lesiones cariosas) con 12.01 ± 15.0 ng/μL – físico (exposición a estrés térmico) con 6.27 ± 3.3 ng/μL - químico (exposición a HCl) con 4.6 ± 2.53 .

Figura 1.

Concentración media de ADN muestras a los diferentes factores de exposición en estudio y control



3.4.2. Pureza del ADN – Factor de exposición

En relación con la pureza como se grafica en la **Figura 2** se mostró que los dientes control se obtuvo una pureza e integridad promedio de 1.99 ± 0.08 y 1.88 ± 0.25 respectivamente indicando que estos valores entran en la clasificación de calidad óptima del ADN, mientras que las muestras expuestas a los factores en estudio varían en estos filtros: biológico (presencia de lesiones cariosas) con 2.02 ± 0.28 y 0.44 ± 0.31 – físico (exposición a estrés térmico) con 1.58 ± 0.07 y 0.46 ± 0.11 - químico (exposición a HCl) con 1.84 ± 0.19 y 0.30 ± 0.19 .

Figura 2.

Concentración media de ADN muestras a los diferentes factores de exposición en estudio y control en relación a la pureza del ADN

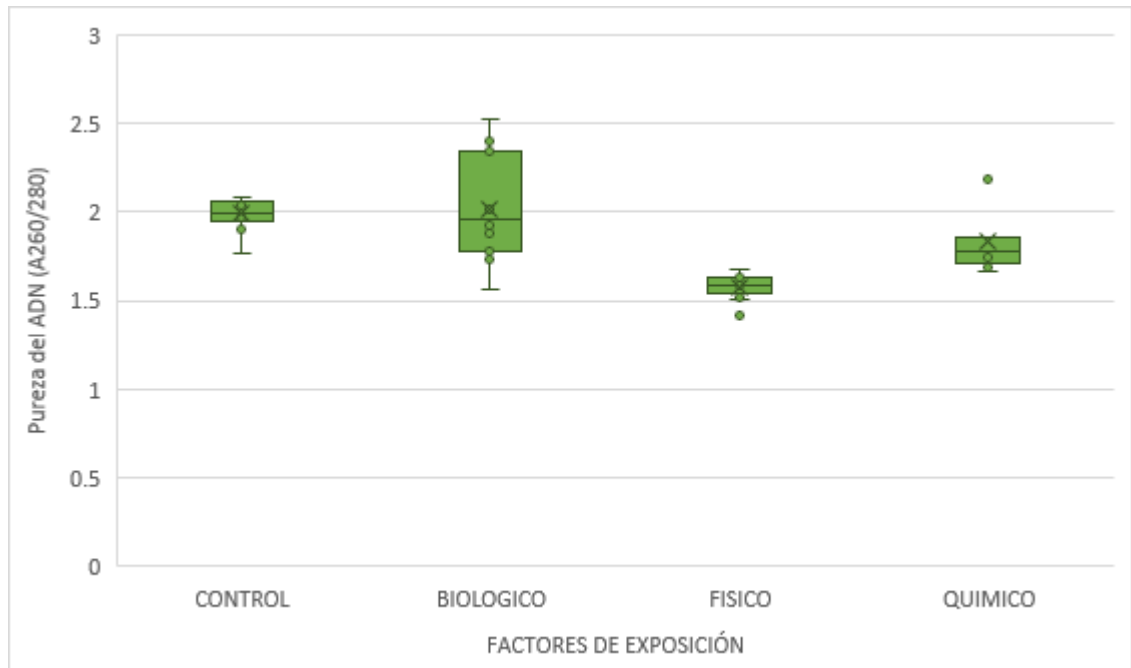
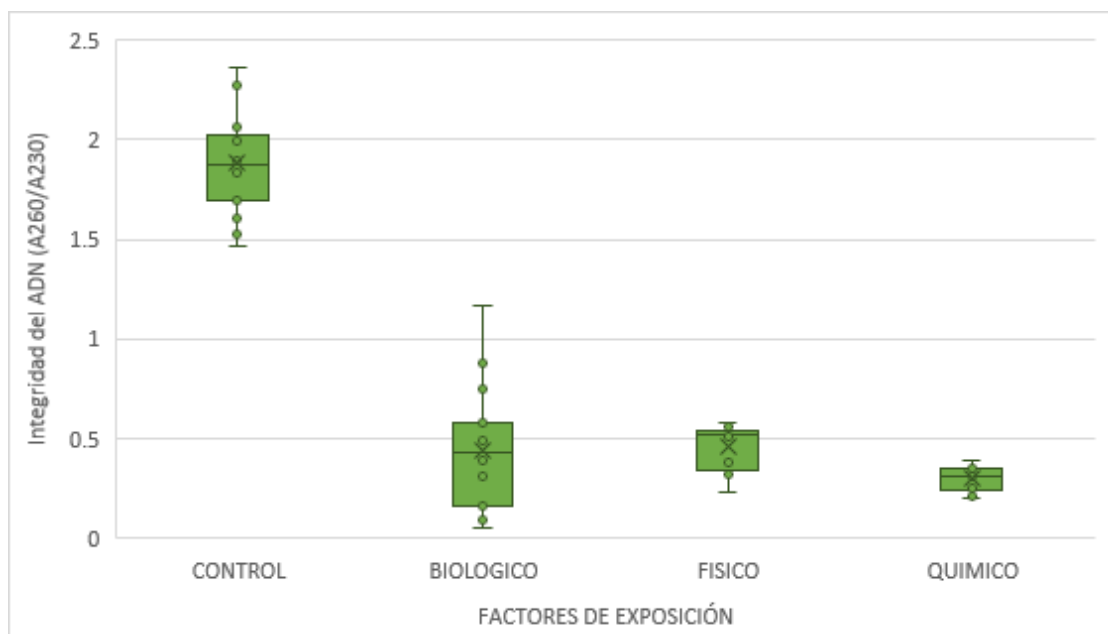


Figura 3.

Concentración media de ADN muestras a los diferentes factores de exposición en estudio y control en relación a la integridad del ADN



3.4.3. Grado de afección según el factor de exposición

Al realizar las comparaciones mediante las pruebas de post hoc como se expone en la **Tabla 9** indicó que la concentración de ADN en el grupo químico fue significativamente mayor que en los grupos control y físico, con valores de p menores a 0.01 ($p=0.008$ y $p=0.010$, respectivamente). Esto sugiere que la exposición a agentes químicos tuvo un impacto notorio en la integridad del ADN, probablemente provocando una alteración en su concentración que difiere estadísticamente de la condición basal.

Tabla 9

Comparaciones Post Hoc entre los grupos experimentales según el tipo de factor de exposición en la cuantificación del ADN pulpar

Comparación		Diferencia de Medias	EE	gl	t	Ptukey	Pbonferroni
Tipo	Tipo						
Control	Biológico	46.37	2.19	40	21.208	<.001	<.001
	Físico	52.11	2.19	40	23.834	<.001	<.001
	Químico	53.78	2.19	40	24.597	<.001	<.001
Biológico	Físico	5.74	2.19	40	2.626	0.057	0.073
	Químico	7.41	2.19	40	3.39	0.008	0.01
Físico	Químico	1.67	2.19	40	0.763	0.87	1

Por otro lado, la comparación entre los grupos biológico (CB) y físico (CF) no arrojó diferencias estadísticamente significativas, como lo evidencian los valores de p superiores a 0.05 ($p=0.057$ y $p=0.073$), lo que indica que la exposición a los factores biológicos no generó cambios significativos en la concentración de ADN en relación con la exposición física o el control. Además, aunque la diferencia de medias entre los grupos biológico y químico fue de 7.41, esta no alcanzó la significancia estadística ($p=0.008$ y $p=0.010$ tras ajustes), sugiriendo que la variación observada podría atribuirse al azar o a variaciones inherentes a la muestra.

CAPÍTULO IV: DISCUSIÓN

Las características particulares que presentan los dientes los convierten en excelentes reservorios de material genético, entre las principales particularidades que presenta es su estructura; debido a esta presenta una alta resistencia ante diversos agentes externos. Como evidencia Briem et al. (2017), Spirov et al. (2017) y Cadenas & Garrido (2020) donde resalta la mayor superficie de la raíz y volumen de tejido pulpar como principales criterios de selección entre las muestras, sin embargo, también cabe añadir que los molares al presentar mayor resguardo en la cavidad oral presentan menores posibilidades de contaminación ante agentes de degradación ambiental, térmica, eléctrica o mecánica que afecten la cantidad y/o calidad del ADN. El trabajo de Spirov et al. (2017) nos muestra cuantitativamente las concentraciones de ADN que se pueden obtener en dientes molares en comparación a los otros tipos de dientes ya que obtuvo una concentración promedio de 0.17678 ng/μL en comparación de las cantidades de ADN obtenidas de dientes premolares (0.04116 ng/μL) e incisivos (0.0297 ng/μL) poniendo en evidencia lo revisado por Briem et al. (2017) y quienes destacan que la mayor concentración de ADN está directamente relacionado a el tiempo de diente los cuales recomienda el uso de premolares y molares por las características anteriormente mencionadas sin embargo Cadenas & Garrido (2020) menciona que es importante destacar que no en todos los casos estudiados se identifica una influencia del tipo de diente con el ADN dental ya que en estos casos se utiliza además de los tejidos mineralizados los tejidos blandos como en el caso de esta investigación donde se utilizó la muestra dental en su totalidad evidenciada en las altas concentraciones obtenidas en los dientes que no fueron expuestos a ningún factor.

Podemos observar a n las muestras expuestas a diferentes temperaturas se puede observar cambios a nivel macroscópico resultantes del efecto de la temperatura en el tejido dental desde variaciones colorimétricas hasta la presencia de fisuras y grietas como lo

mencionado por Sánchez et al. (2019) que confirma nuestros resultados con los cambios morfológicos que se obtuvo en exposiciones de 100 a 300 °C con los cambios de color desde amarillo pálido hasta un grisáceo además de la presencia de fisuras y fracturas. Mientras que, a nivel cuantitativo las concentraciones de ADN son variables. Se presentan valores desde los 10.844 ng/μL (100°C) hasta 0.996 ng/μL (500°) (Tabla 7) indicando una relación inversamente proporcional entre el aumento de la temperatura además de la concentración de ADN, relación que también encontró Lozano (2020) ya que las muestras expuestas a el estrés térmico sufren una disminución de forma significativa a los 100 °C; sufriendo una gran caída a partir de los 200 – 400 °C, lo que complementa lo dicho por Della et al. (2024) utilizando este tipo de muestras degradadas para la tipificación genética infiriendo que aunque las concentraciones disminuyen de forma “exponencial” estas aún pueden utilizarse para estudios de tipificación con herramientas más sensibles para el estudio de perfiles genéticos.

En las muestras expuestas al ácido clorhídrico presentó cambios a nivel estructural como a nivel de cuantificación (Tabla 7), estos dos criterios de cambio se desarrollaron de forma progresiva en relación al aumento de la concentración del ácido, por lo cual se puede confirmar la actividad degradativa del ácido clorhídrico en un corto intervalo de exposición. Este resultado se contrarresta por los obtenidos por Lovón (2014), Kadashett et al. (2021) y Reshma et al. (2022) donde solamente demostraron la degradación a nivel estructural, donde este criterio indicó que a una exposición de 24 horas con una concentración de 34% de HCl, la muestra llega a degradarse casi en su totalidad mientras que en la fase experimental de este proyecto se demuestra que aún expuesto a una concentración mayor (37%) se pueden obtener concentraciones de ADN (1.92 ± 0.23), concentraciones que indicarían una excelente cantidad para su utilidad con herramientas moleculares adecuadas en él.

Mientras que las concentraciones obtenidas de aquellas muestras dentarias con lesiones cariosas presentaron una correlación negativa entre que a mayor sea la lesión en el molar, menor era la cuantificación del ADN. A pesar de ello, las concentraciones obtenidas siguen siendo cantidades de utilidad para estudios a nivel genético, como lo demuestran Aliagarcía et al. (2015) donde validaron el uso del ADN extraído de dientes con caries, donde se demostró que los dientes con lesiones cariosas como en los sanos se obtuvo el mismo porcentaje de éxito en la identificación del individuo (41/60, 68,3%), demostrando que los dientes cariados son, al menos, igual de válidos que los dientes sanos para los procesos de necroidentificación, posiblemente esta correlación anteriormente mencionada se demuestra en la diferencia a nivel de concentraciones de aquellas cuantificaciones en muestras con presencia de lesiones superficiales (esmalte) a aquellas más profundas (dentina), ya que la infección degrada material histológico rico en ADN.

Las cantidades de ADN en esta investigación revelan diferencias significativas en los mecanismos de daño de este material genético según el tipo de exposición estudiado. En primer lugar, se encontró la inmersión en ácido clorhídrico (Factor Químico) con concentraciones promedio de 4.60 ± 2.53 ng/ μ L, seguido de la exposición a altas temperaturas (Factor Físico) con 6.27 ± 3.3 ng/ μ L y finalmente la presencia de lesiones cariosas (Factor Biológico) obteniendo 12.1 ± 15 ng/ μ L. Esta jerarquía deja en escena los diferentes procesos a nivel molecular que llegan a producirse para la degradación del ADN. Como en el caso de la exposición térmica, el aumento de la temperatura genera una fragmentación progresiva del material genético (Barraza y Rebolledo, 2016). En contraste, la exposición al HCl provoca desmineralización agresiva del esmalte y dentina, seguida de degradación del ADN debido a los niveles anormales de pH. Mientras que las muestras expuestas a caries, la degradación del ADN se explica fundamentalmente por la acción de microorganismos que afectan la integridad de los tejidos dentales. Los hallazgos obtenidos, tanto en las concentraciones como en los

índices de pureza, confirman que el daño químico ocasiona alteraciones más notorias en el ADN, en comparación con los efectos derivados de agentes térmicos y biológicos.

Las concentraciones de ADN registradas en este estudio ofrecen tanto aportes valiosos como ciertas limitaciones para el ámbito forense. Según García et al. (2014), incluso cantidades inferiores a 0.025 ng/μL pueden resultar en perfiles genéticos útiles para la identificación, lo que respalda la relevancia de los datos obtenidos en este trabajo, aun en situaciones de degradación significativa de las muestras. Uno de los aspectos más destacados es que, a pesar de que las concentraciones halladas son bajas, éstas resultan funcionales para los análisis genéticos forenses. Por otra parte, los hallazgos de Spirov et al. (2017) ponen en perspectiva que el ADN extraído de la pulpa dental es cuantitativamente superior—hasta 85 veces más—que el obtenido de tejidos duros, lo que sugiere que las concentraciones observadas en este estudio pueden implicar una pérdida considerable del potencial genético inicial. No obstante, este desafío puede ser mitigado mediante la implementación de técnicas moleculares de mayor sensibilidad, permitiendo optimizar la detección y análisis del material genético, incluso en condiciones de menor cantidad o mayor degradación. Así, la integración de nuevas herramientas metodológicas representa una oportunidad para mejorar la aplicabilidad forense de los resultados y fortalecer la confianza en la identificación genética a partir de tejidos dentales.

CONCLUSIONES

Se logró cuantificar el ADN pulpar en dientes molares expuestos a factores físicos, químicos y biológicos. Los resultados mostraron una disminución significativa en las concentraciones de ADN respecto al grupo control, confirmando que estos factores alteran directamente la recuperación del material genético.

El grupo control presentó las concentraciones más altas de ADN, con valores que oscilaron entre 31.704 - 86.445 ng/μL.

En el grupo expuesto a altas temperaturas (100 – 500 °C), las concentraciones de ADN disminuyeron progresivamente desde 10.844 hasta 0.996 ng/μL.

En los dientes expuestos a HCl (10 – 37 %), las concentraciones de ADN variaron entre 10.792 hasta 1.787ng/μL.

En el grupo con caries, se observó una mayor variabilidad: las muestras con lesión superficial de 53.847 ng/μL, mientras que las de lesión moderada mostraron concentraciones más bajas, llegando a 1.414 ng/μL.

El análisis estadístico mostró diferencias altamente significativas ($p < .001$) entre el grupo control y los tres factores de exposición. Específicamente se destaca a las muestras expuestas al HCl (factor químico) como aquel factor que presenta mayor poder de degradación de las concentraciones a comparación de los otros dos factores en estudio.

Solo el grupo control y algunas muestras del grupo biológico (especialmente con lesiones superficiales) alcanzaron valores superiores a 50 ng/μl, siendo potencialmente confiables en contextos criminalísticos.

RECOMENDACIONES

- Se recomienda ampliar los estudios de cuantificación de ADN pulpar a los otros tipos de dientes: incisivos, caninos y premolares, ya que también pueden ofrecer información valiosa sobre la viabilidad y cantidad de ADN recuperable.
- Es fundamental considerar en futuros estudios la exposición de dientes a otros factores ambientales (humedad, radiación, cambios extremos de temperatura, inmersión en agua o tierra). Asimismo, se recomienda evaluar la acción de otros agentes químicos (solventes orgánicos y otros tipos de ácidos) y biológicos (putrefacción avanzada), para simular escenarios forenses más realistas y complejos.
- Se aconseja incorporar tecnologías moleculares de última generación, como la PCR en tiempo real (qPCR), la PCR digital y la secuenciación de nueva generación (NGS), para mejorar la sensibilidad y precisión en la cuantificación del ADN extraído permitiendo detectar y analizar fragmentos de ADN incluso en muestras altamente degradadas.
- Es recomendable a futuro implementar diferentes protocolos teniendo en consideración el tipo de muestra además de incluir recomendaciones sobre métodos de descontaminación, técnicas de extracción

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acosta Saldarriaga, A., Herrera Herrera, A., & Munera Gutiérrez, C. (2016). *Identificación de los riesgos físicos que están presentes en la empresa Servillaves y Eléctricos en la ciudad de Medellín en el I semestre de 2016* [Trabajo de grado, Fundación Universitaria María Cano]. Repositorio Institucional FUMC. <https://repositorio.fumc.edu.co/handle/fumc/359>
- Alia-García, E., Parra-Pecharromán, D., Sánchez-Díaz, A., Mendez, S., Royuela, A., Gil-Alberdi, L., López-Palafox, J., & Del Campo, R. (2015). Forensic identification in teeth with caries. *Forensic Science International*, 257, 236-241. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2015.08.021>
- Arenas-Sánchez, A., & Pinzón-Amado, A. (2011). Riesgo biológico en el personal de enfermería: Una revisión práctica. *Revista Cuidarte*, 2(1), 120–130. <https://doi.org/10.15649/cuidarte.v2i1.60>
- Aruquipa Mariño, F. I. (2019). *Estudio comparativo de tres métodos de procesamiento para la obtención de ADN en dientes molares* [Tesis de licenciatura, Universidad Mayor de San Andrés]. Repositorio Institucional UMSA. <https://repositorio.umsa.bo/bitstream/handle/123456789/22943/T-1952.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Barrio-Caballero, P. A. (2013). Revisión de métodos de extracción de ADN a partir de restos óseos en el laboratorio forense. *Revista Española de Medicina Legal*, 39(2), 54–62. <https://doi.org/10.1016/j.reml.2012.11.002>
- Briem Stamm, A. D., Carriego, M. T., Nicolotti, M. E., & Wirz, L. N. (2017). ADN y odontología forense: Una eficaz interacción para la identificación humana. *Revista de*

la Facultad de Odontología (UBA), 32, 35–42. http://odontologia.uba.ar/wp-content/uploads/2018/06/vol32_n73_2017_art4.pdf

Cachay Wester, J. V. W. (2013). *Determinación de haplotipos mitocondriales mediante la técnica de PCR-RFLP en restos dentarios de poblaciones prehispánicas de los distritos Eten, Mórrope y San José* [Tesis de licenciatura, Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo]. <https://hdl.handle.net/20.500.12893/260>

Cadenas Sarmiento, D., & Garrido Díaz, M. (2020). *Factores que influyen en la cantidad y calidad del ADN mitocondrial o nuclear de la pulpa dental utilizado en la identificación en odontología forense* [Tesis para la obtención del título de Cirujano Dentista]. Universidad de Valparaíso. <http://repositoriobibliotecas.uv.cl/handle/uvscl/8398>

Carrasco, P., Inostroza, C., Didier, M., Godoy, M., Holt, C. L., Tabak, J., & Loftus, A. (2019). Optimizing DNA recovery and forensic typing of degraded blood and dental remains using a specialized extraction method, comprehensive qPCR sample characterization, and massively parallel sequencing. *International Journal Of Legal Medicine*, 134(1), 79-91. <https://doi.org/10.1007/s00414-019-02124-y>

Chávez-Briones, M.-L., Jaramillo-Rangel, G., Ancer-Arellano, A., Ancer-Rodríguez, J., & Ortega-Martínez, M. (2023). Identification of the remains of an adult using DNA from their deciduous teeth as a reference sample. *Medicina*, 59(10), Article 1702. <https://doi.org/10.3390/medicina59101702>

Clavo, R. F., & Miranda, B. J. P. (2021). Pericia genética: valoración y fiabilidad de la prueba de ADN en criminalística y en el Proceso Penal. *Derecho & Sociedad*, (57), 1-19. <https://revistas.pucp.edu.pe/index.php/derechoysociedad/article/view/24747/23533>

- De la Garza Kalife, R. M., Mandujano, A. N. R., & González, F. Y. F. (2019). La importancia de la odontología forense en la identificación de individuos: Revisión bibliográfica. *Revista Mexicana de Estomatología*, 6(1), 59–63.
<https://remexesto.com/index.php/remexesto/article/view/270/497>
- De Leo, D., Turrina, S., & Marigo, M. (2000). Efectos de factores dentales individuales en el análisis de ADN genómico. *The American Journal of Forensic Medicine and Pathology*, 21(4), 411–415.
https://journals.lww.com/amjforensicmedicine/Abstract/2000/12000/Effects_of_Individual_Dental_Factors_on_Genomic.23.aspx
- Della Rocca, C., Piras, G., Berti, A., & Mameli, A. (2024). 12 real forensic cases solved by the DNA STR-typing of skeletal remains exposed to extreme environment conditions, without the conventional bone pulverization step. *International Journal of Legal Medicine*. <https://doi.org/10.1007/s00414-024-03389-8>
- Dobberstein, R. C., Huppertz, J., von Wurmb-Schwark, N., & Ritz-Timme, S. (2008). Degradation of biomolecules in artificially and naturally aged teeth: Implications for age estimation based on aspartic acid racemization and DNA analysis. *Forensic Science International*, 179(2–3), 181–191.
<https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2008.05.017>
- Espina, Á., Barrios, F., Ortega, A., Mavárez, M., Espina, O., & Ferreira, J. (2004). Cambios estructurales en los tejidos dentales duros por acción del fuego directo, según edad cronológica. *Ciencia Odontológica*, 1(1), 38–51.
<https://www.redalyc.org/pdf/2052/205222145005.pdf>

- Ferreira Paz, J. L., Mavárez Cardoz, M. G., Espina de Ferreira, Á. I., & Barrios Ferrer, F. A. (2005). Conservación de las estructuras orales y faciales del cadáver quemado. *Ciencia Odontológica*, 2(1), 72–83. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=205217240>
- Fonseca, G. M., Cantín, M., & Lucena, J. (2013). Odontología forense II: La identificación inequívoca. *International Journal of Odontostomatology*, 7(2), 327–334. <https://doi.org/10.4067/s0718-381x2013000200025>
- Franco, A., Willems, G., Souza, P. H. C., Bekkering, G. E., & Thevissen, P. (2014). The uniqueness of the human dentition as forensic evidence: A systematic review on the technological methodology. *International Journal of Legal Medicine*, 129(6), 1277–1283. <https://doi.org/10.1007/s00414-014-1109-7>
- García, C. B., & Palafox, J. J. (2019). Historia de la identificación personal: Desde el reconocimiento facial hasta el ADN dental. *Biociencias*, 14(1), 1. <https://revistas.uax.es/index.php/biociencia/article/view/1268>
- Hervella, M., Iñiguez, M. G., Izagirre, N., Anta, A., & de-la-Rúa, C. (2015). Nondestructive methods for recovery of biological material from human teeth for DNA extraction. *Journal of forensic sciences*, 60(1), 136-141. <https://doi.org/10.1111/1556-4029.12568>
- Huchthausen, J., Mühlenbrink, M., König, M., Escher, B. I., & Henneberger, L. (2020). Evaluación de la exposición experimental de productos químicos orgánicos ionizables en bioensayos basados en células in vitro. *Investigación Química en Toxicología*, 33(7), 1845–1854. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrestox.0c00067>

- Hughes-Stamm, S., Warnke, F., & van Daal, A. (2016). An alternate method for extracting DNA from environmentally challenged teeth for improved DNA analysis. *Legal Medicine*, 18, 31–36. <https://doi.org/10.1016/j.legalmed.2015.11.008>
- INTERPOL. (2025). Disaster Victim Identification (DVI). <https://www.interpol.int/en/How-we-work/Forensics/Disaster-Victim-Identification-DVI>
- Jadhav, K., Gupta, N., Mujib, B. A., & Amberkar, V. S. (2009). Effect of acids on the teeth and its relevance in postmortem identification. *Journal of Forensic Dental Sciences*, 1(2), 93–98. <https://doi.org/10.4103/0974-2948.60381>
- Kadashett, V., Shivakumar, K. M., Baad, R., Vibhute, N., Belgaumi, U., Bommanavar, S., & Kamate, W. (2021). Effect of concentrated acids on teeth: A forensic approach; An in-vitro study. *Journal of Datta Meghe Institute of Medical Sciences University*, 16(2), 283–289. https://doi.org/10.4103/jdmimsu.jdmimsu_32_18
- Kanzow, P., Wegehaupt, F. J., Attin, T., & Wiegand, A. (2016). Etiology and pathogenesis of dental erosion. *Quintessence International*, 47(4), 275–278. <https://doi.org/10.3290/j.qi.a35625>
- Karkhanis, S., Ball, J., & Franklin, D. (2009). Macroscopic and microscopic changes in incinerated deciduous teeth. *The Journal of Forensic Odonto-Stomatology-JFOS*, 27(2), 9-19. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0018442X10000247?via%3Dihub>
- Li, W., Liu, J., Chen, S., Wang, Y., & Zhang, Z. (2017). Prevalence of dental erosion among people with gastroesophageal reflux disease in China. *The Journal of Prosthetic Dentistry*, 117(1), 48–54. <https://doi.org/10.1016/j.prosdent.2016.04.029>

- Lizcano Novoa, K. S. & Omaña Jaimes, F. A. (2019). La importancia de la odontología forense como un método de identificación en Colombia y la necesidad de ampliar su normatividad. [Proyecto de investigación presentado como requisito parcial para optar al título de Tecnólogo en Investigación Criminal]. Universidad Libre de Colombia Seccional Cúcuta. <http://repository.unilibre.edu.co/handle/10901/15525>
- López-Palafox, J. (2002). Muertes por Carbonización. Metodología en la Identificación. Aplicación de la Odontología Forense. En guía de práctica de Odontología Forense (pp. 52–60). Maxillaris. <https://docplayer.es/7671428-Muertes-por-carbonizacion-metodologia-en-la-identificacion-aplicacion-de-la-odontologia-forense.html>
- Lovón Quispe, W. E. (2014). Efecto del ácido clorhídrico y la temperatura en la morfología de piezas dentarias sanas. Arequipa - 2014. [Tesis para optar el grado académico de Doctor en Odontología]. Universidad Católica de Santa María - Arequipa. <http://tesis.ucsm.edu.pe/repositorio/handle/UCSM/3647>
- Lozano Peral, D. (2020). *Degradación del ADN humano en muestras dentales sometidas a estrés térmico* [Tesis de licenciatura, Universidad de Málaga]. Repositorio Institucional UMA. <https://riuma.uma.es/xmlui/handle/10630/19464>
- Madhumithaa, S. R., Ganesh, C., Divya, V. C., Shanthi, M., Backiyalakshmi, A., & Haripriya, S. (2024). Role of dental pulp in human identification. *Scholars Journal of Dental Sciences*, 11(8). <https://doi.org/10.36347/sjds.2024.v11i08.003>
- Malaver Calderón, P. (2002). Obtención de ADN a partir de estructuras dentarias para identificación humana en casos forenses.

- Mai, B. H. A., Drancourt, M., & Aboudharam, G. (2020). Ancient dental pulp: Masterpiece tissue for paleomicrobiology. *Molecular Genetics & Genomic Medicine*, 8(6). <https://doi.org/10.1002/mgg3.1202>
- Mazza, A., Merlati, G., Savio, C., Fassina, G., Menghini, P., & Danesino, P. (2005). Observations on dental structures when placed in contact with acids: Experimental studies to aid identification processes. *Journal of Forensic Sciences*, 50(2), 406–410. <https://www.ojp.gov/ncjrs/virtual-library/abstracts/observations-dental-structures-when-placed-contact-acids>
- Mendoza, J. C. D., Alarcon, E. D. C., & Salazar, J. C. B. (2019). Odontología legal y forense. *Rev. Arbitr. Interdiscip. Cienc. Salud*, 3(6), 754. <https://doi.org/10.35381/s.v.v3i6.332>
- Molano Gabalán, C. F. (2021). *Efecto corrosivo de ácidos en dientes permanentes con fines forenses: Revisión narrativa* [Proyecto de investigación para obtener el posgrado en Odontología]. Universidad El Bosque. https://repositorio.unbosque.edu.co/bitstream/handle/20.500.12495/6470/Molano_Gabalán_Carlos_Fernando_2021.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Moreno, S., Merlati, G., Marín, L., Savio, C., & Moreno, F. (2009). Effects of high temperatures on different dental restoration systems: Experimental study to aid identification processes. *Journal of Forensic Dental Sciences*, 17–23. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4430574/>
- Pinchi, V., Focardi, M., Martinelli, D., Norelli, G. A., Carboni, I., Gozzini, A., ... & Ricci, U. (2013). DNA extraction method from teeth using QIAcube. *Forensic Science International: Genetics Supplement Series*, 4(1), e276-e277. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S187517681300142X>

- Postillone, M. B. (2015). *Estudio de ADN antiguo en muestras precolombinas de Argentina* [Tesis doctoral, Universidad Nacional de La Plata]. <https://doi.org/10.35537/10915/60988>
- Rees, K. A., & Cox, M. J. (2010). Análisis comparativo de los efectos del calor en la amplificación por PCR de fragmentos de ADN de varios tamaños extraídos de los molares de *Sus scrofa*. *Revista de Ciencias Forenses*, 55(2), 410–417. <https://doi.org/10.1111/j.1556-4029.2009.01286.x>
- Reesu, G. V., Augustine, J., & Urs, A. B. (2014). Forensic considerations when dealing with incinerated human dental remains. *Journal of Forensic and Legal Medicine*, 29, 13–17. <https://doi.org/10.1016/j.jflm.2014.10.006>
- Reshma, P. K., Kavitha, S., Gayathri, R., Arthanari, A., & Priya, V. V. (2022). Effect of concentrated and dilute hydrochloric acid on tooth morphology: A forensic study. *Journal of Pharmaceutical Research International*, 34(4), 37–46. <https://doi.org/10.9734/jpri/2022/v34i4b35402>
- Robledo, F. H. (2015). *Riesgos químicos*. Ecoe Ediciones. <https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=2NvDDQAAQBAJ&oi=fnd&pg=PT14&dq=que+es+el+Riesgo+Qu%C3%ADmico+&ots=fubTjwBCd1&sig=2o43k-EjNdDMwx3VXbmQ0fjZJpY#v=onepage&q=que%20es%20el%20Riesgo%20Qu%C3%ADmico&f=false>
- Rubio, L., Santos, I., Gaitan, M. J., & Martin de-las Heras, S. (2013). Time-dependent changes in DNA stability in decomposing teeth over 18 months. *Acta Odontologica Scandinavica*, 71(3–4), 638–643. <https://doi.org/10.3109/00016357.2012.700068>

- Salcedo, M. D. S. B., & Cobos, M. L. R. (2016). Identificación de cadáveres sometidos a altas temperaturas, a partir de las características macroscópicas de sus órganos dentales y la aplicabilidad de la genética forense. *Universitas Odontológica*, 35(74), 29–38.
<https://doi.org/10.11144/Javeriana.uo35-74.icsa>
- Sánchez Gaytán, S., Villegas Sánchez, L. M., Nápoles Martínez, J., Carballeda García, K. E., Espinoza Chico, J. C., Gutiérrez Mendoza, K., & García Muñoz, A. (2019). Identificación de cuerpos humanos calcinados mediante el análisis odontológico. *Revista Mexicana de Medicina Forense y Ciencias de la Salud*, 4(3).
<https://doi.org/10.25009/REVMEDFORENSE.V4I3.2720>
- Speller, C. F., Spalding, K. L., Buchholz, B. A., Hildebrand, D., Moore, J., Mathewes, R., Skinner, M. F., & Yang, D. Y. (2012). Personal identification of cold case remains through combined contribution from anthropological, mtDNA, and bomb-pulse dating analyses. *Journal of Forensic Sciences*, 57(5), 1354–1360.
<https://doi.org/10.1111/j.1556-4029.2012.02223.x>
- Spirov, V., Dimitrovski, O., Menceva, Ž., Duma, A., & Jakjovski, Z. (2017). Forensic dentistry – the key to the truth. *Stomatoloski glasnik Srbije*, 64(3), 113–120.
<https://doi.org/10.1515/sdj-2017-0011>
- Sweet, D. J., & Sweet, C. H. (1995). DNA analysis of dental pulp to link incinerated remains of homicide victim to crime scene. *Journal of Forensic Sciences*, 40(2), 310–314.
<https://doi.org/10.1520/jfs15365j>
- Ubelaker, D. H., & Parra, R. C. (2011). Radiocarbon analysis of dental enamel and bone to evaluate date of birth and death: Perspective from the southern hemisphere. *Forensic*

<https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2010.11.013>

Velasco Tenorio, C. (2013). *Aplicación de técnicas forenses en odontología* [Tesina, Universidad Nacional Autónoma de México]. Repositorio Institucional UNAM.

https://ru.dgb.unam.mx/handle/DGB_UNAM/TES01000692123

Wei, Y.-F., Lin, C.-Y., Yu, Y.-J., Linacre, A., & Lee, J. C.-I. (2023). DNA identification from dental pulp and cementum. *Forensic Science International: Genetics*, 67, Article 102945. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2023.102945>

Zapico, S. C., & Ubelaker, D. H. (2013). Sex determination from dentin and pulp in a medicolegal context. *The Journal of the American Dental Association*, 144(12), 1379–1385. <https://doi.org/10.14219/jada.archive.2013.0074>

ANEXOS

ANEXO 1: RECIBO DIGITAL DEL TURNITIN



Recibo digital

Este recibo confirma que su trabajo ha sido recibido por **Turnitin**. A continuación podrá ver la información del recibo con respecto a su entrega.

La primera página de tus entregas se muestra abajo.

Autor de la entrega:	Jefferson Torres Mayanga Chie Yanagui De La Cruz
Título del ejercicio:	Quick Submit
Título de la entrega:	CUANTIFICACIÓN DE ADN PULPAR EN DIENTES MOLARES EXP...
Nombre del archivo:	INFORME_DE_PROYECTO_DE_TESIS.pdf
Tamaño del archivo:	4.33M
Total páginas:	77
Total de palabras:	13,836
Total de caracteres:	75,142
Fecha de entrega:	17-oct-2025 01:21p.m. (UTC-0500)
Identificador de la entrega:	2784238439



MSC. Cesar Alberto Cabrejos Montalvo

41984097

Asesor

ANEXO 2: RESUMEN DEL INFORME DE ORIGINALIDAD

CUANTIFICACIÓN DE ADN PULPAR EN DIENTES MOLARES EXPUESTOS A FACTORES FÍSICOS, QUÍMICOS Y BIOLÓGICOS DE INTERÉS CRIMINALÍSTICO

INFORME DE ORIGINALIDAD

9%

INDICE DE SIMILITUD

8%

FUENTES DE INTERNET

2%

PUBLICACIONES

3%

TRABAJOS DEL
ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1

repositorio.ug.edu.ec

Fuente de Internet

1%

2

repositoriobibliotecas.uv.cl

Fuente de Internet

1%

3

riuma.uma.es

Fuente de Internet

1%

4

hdl.handle.net

Fuente de Internet

1%

5

Submitted to Universidad Nacional Pedro Ruiz
Gallo

Trabajo del estudiante

<1%

6

repositorio.unbosque.edu.co

Fuente de Internet

<1%

7

cybertesis.unmsm.edu.pe

Fuente de Internet

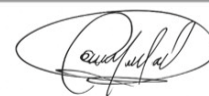
<1%



MSc. Cesar Alberto Cabrejos Montalvo

8	Submitted to Universidad San Francisco de Quito Trabajo del estudiante	<1 %
9	repositorio.umsa.bo Fuente de Internet	<1 %
10	es.scribd.com Fuente de Internet	<1 %
11	scielo.isciii.es Fuente de Internet	<1 %
12	riubu.ubu.es Fuente de Internet	<1 %
13	estudogeral.sib.uc.pt Fuente de Internet	<1 %
14	repositorio.uax.es Fuente de Internet	<1 %
15	www.coursehero.com Fuente de Internet	<1 %
16	biblioteca.usac.edu.gt Fuente de Internet	<1 %
17	repositorio.unjbg.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
18	1library.co Fuente de Internet	<1 %

digibug.ugr.es



MSc. Cesar Alberto Cabrejos Montalvo

41984097

Asesor

19	Fuente de Internet	<1 %
20	digitalis-dsp.uc.pt Fuente de Internet	<1 %
21	idus.us.es Fuente de Internet	<1 %
22	repositorio.unsch.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
23	repositorio.unicoc.edu.co:8080 Fuente de Internet	<1 %
24	tesis.usat.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
25	repositorio.unac.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
26	repositorio.upagu.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
27	Tamara Leskovar, Irena Zupanič Pajnič. "Comparative analysis of DNA preservation in permanent and deciduous teeth of adults and non-adults: Implications for archaeological and forensic research", Forensic Science International, 2023 Publicación	<1 %
28	Submitted to Universidad Católica Boliviana "San Pablo"	<1 %

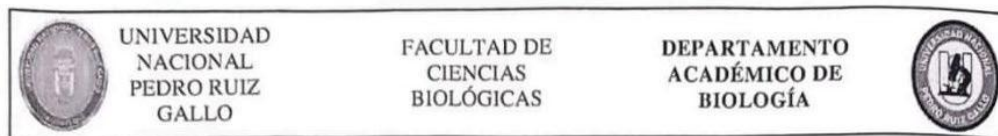


MSc. Cesar Alberto Cabrejos Montalvo

41984097

Asesor

ANEXO 3: CONSTANCIA DE APROBACIÓN PARA EL USO DE LOS LABORATORIOS PARA LA EJECUCIÓN DE LA TESIS



"Año del Bicentenario, de la consolidación de nuestra Independencia, y de la conmemoración de las Heroicas Batallas de Junín y Ayacucho"

OFICIO N°056-2024-DABI/FCCBB

Lambayeque, 15 de agosto, 2024

Señorita
Bach. Yanagui de La Cruz Chie
PRESENTE

ASUNTO: BRINDAR FACILIDADES LABORATORIO

Mediante el presente la saludo y comunico que, a partir de la fecha, los egresados, Bach. Yanagui de La Cruz Chie y Jefferson Emanuel Torres Mayanga, cuentan con la autorización del suscrito para hacer uso de las instalaciones y herramientas de las áreas de laboratorio de la Oficina Bienestar Universitario.

Sin otro particular.

Atentamente,

The block contains a circular official stamp of the 'DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE BIOLOGÍA' and a handwritten signature. Below the stamp, the text reads: 'Dr. EDUARDO JULIO TEJADA SÁNCHEZ', 'Departamento Académico de Biología', and 'Director (e)'.

Dr. EDUARDO JULIO TEJADA SÁNCHEZ
Departamento Académico de Biología
Director (e)

C. c : Blga. VANNY JUDITH SOPLAPUCO VILCHEZ

ANEXO 4: CONSTANCIA DE APROBACIÓN PARA EL USO DE LAS INSTALACIONES EN BIENESTAR UNIVERSITARIO PARA LA EJECUCIÓN DE LA TESIS

“Año del Bicentenario, de la consolidación de nuestra Independencia, y de la conmemoración de las heroicas batallas de Junín y Ayacucho”

Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo
Dirección De Bienestar Universitario
Ero N°
Fecha 19-02-2022 Hora 12:06
Recibido

SOLICITO: Uso de instalaciones y herramientas de las áreas encontradas en bienestar universitario – UNPRG

Sr. Psic. Luis Secien Espino

JEFE DE LA DIRECCIÓN DE BIENESTAR UNIVERSITARIO

Nosotros, **Chie Milagros Yanagui de la Cruz**, identificada con **DNI N° 77290576**, con **código universitario N° 194034-D** y **Jefferson Emanuel Torres Mayanga** identificado con **DNI N° 72500945**, con **código universitario N° 190480-J**, ambos egresados de la Escuela de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional: “Pedro Ruiz Gallo”, ante usted con el debido respeto nos presentamos y exponemos lo siguiente:

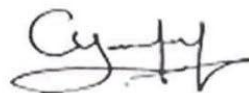
Nos dirigimos a usted con el fin de solicitar el uso de las instalaciones y herramientas tanto del área de odontología como de los laboratorios de las instalaciones de bienestar universitario, para la ejecución de nuestro proyecto de tesis: **“Cuantificación de ADN pulpar en dientes molares expuestos a factores físicos, químicos y biológicos de interés criminalístico”** en asesoramiento del **MSc. Mblgo. César Alberto Cabrejos Montalvo**.

Por lo tanto, pido a su digno despacho acceder a nuestra petición por ser de justicia.



JEFFERSON E. TORRES MAYANGA

Autor



CHIE YANAGUI DE LA CRUZ

Autor



MSc. Mblgo. CÉSAR A. CABREJOS MONTALVO.

Asesor

ANEXO 5: CONSTANCIA DE PARTICIPACIÓN DE LA ESPECIALISTA PARA LA CLASIFICACIÓN DE LAS MUESTRAS CON LESIONES CARIOSAS

Cir. Od. Amalia Ana Arauco Nava

JEFA DEL ÁREA DE ODONTOLOGÍA DE BIENESTAR UNIVERSITARIO

Nosotros, **Chie Milagros Yanagui de la Cruz**, identificada con DNI N° 77290576 y **Jefferson Emanuel Torres Mayanga** identificado con DNI N° 72500945, ambos egresados de la Escuela de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional "Pedro Ruiz Gallo", ante usted con el debido respeto nos presentamos y exponemos lo siguiente:

Con este documento se deja constancia que la especialista Cirujano Odontóloga Amalia Ana Arauco Nava ha brindado su valioso apoyo en la clasificación de dientes afectados por lesiones cariosas, colaborando en el proyecto de investigación titulado:

"CUANTIFICACIÓN DE ADN PULPAR EN DIENTES MOLARES EXPUESTOS A FACTORES FÍSICOS, QUÍMICOS Y BIOLÓGICOS DE INTERÉS CRIMINALÍSTICO"

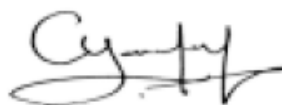
La Dra. Arauco Nava participó activamente en la diferenciación y clasificación de los dientes seleccionados para el presente estudio, de acuerdo con el nivel de afección cariosa observada, sean éstas:

- Lesiones cariosas superficiales: aquellas limitadas al nivel de esmalte dental.
- Lesiones cariosas leves: aquellas que afectan hasta la dentina dental.

Además de compartir sus conocimientos ante el tema además de sus conocimientos prácticos en la manipulación de equipo dentro de su área, su experiencia fue fundamental para asegurar la rigurosidad científica y la correcta identificación de los criterios de inclusión y exclusión de las piezas dentales, contribuyendo así al fortalecimiento metodológico y la validez de los resultados obtenidos en la presente investigación.



TORRES MAYANGA, Jefferson Emanuel

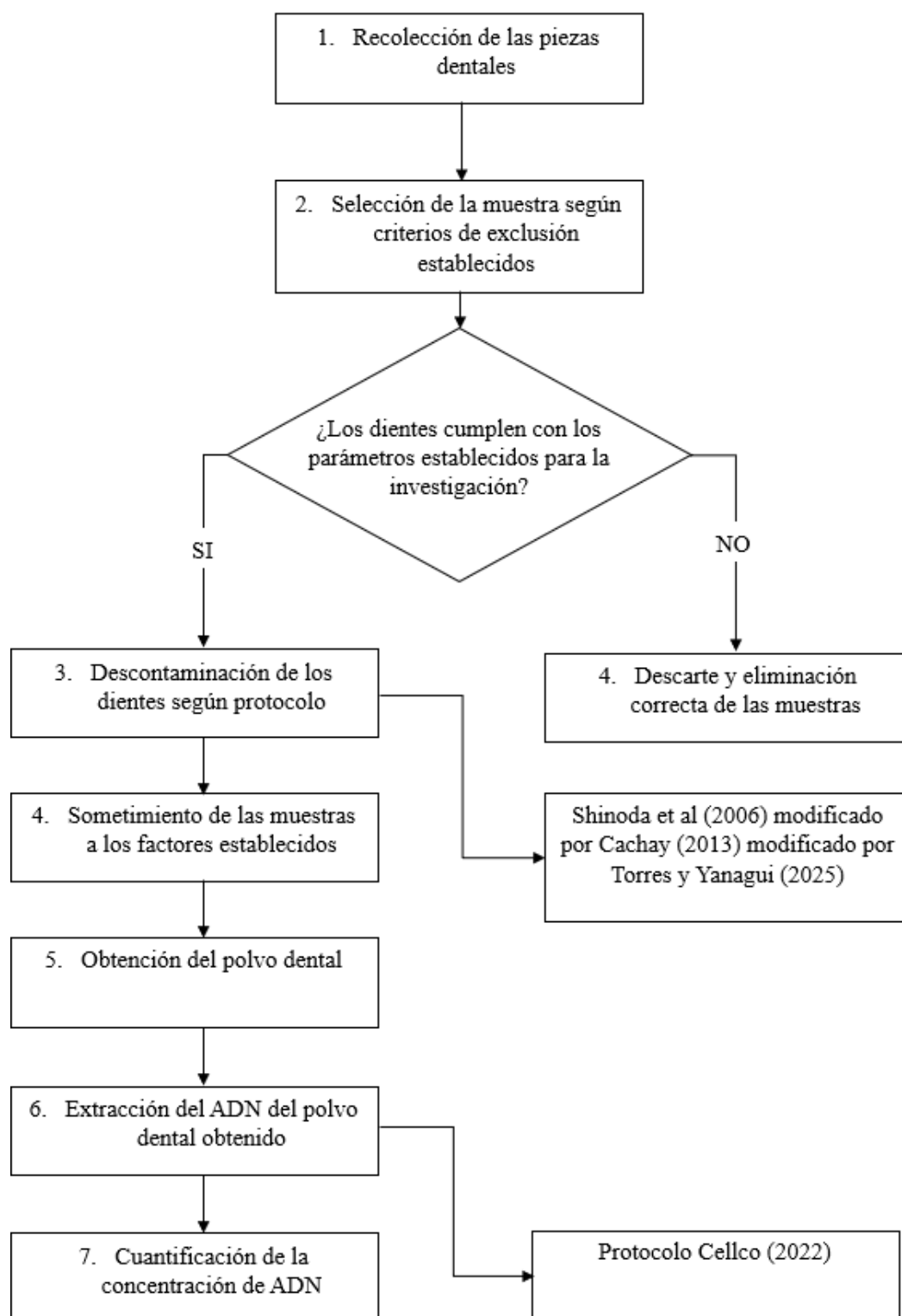


YANAGUI DE LA CRUZ, Chie Milagros



Cir. Od. ARAUCO NAVA, Amalia Ana

ANEXO 6: FLUJOGRAMA DE LA METODOLOGÍA EMPLEADA EN EL PRESENTE TRABAJO



ANEXO 7: PROTOCOLOS DE LOS PROCEDIMIENTOS

Protocolo de desinfección de muestras dentarias

(Shinoda et al, 2006 modificado por Cachay Wester, 2013 modificado por Torres y Yanagui, 2025)

1. Bañar las muestras dentarias rotuladas con anterioridad en hipoclorito de sodio al 8% durante 24 minutos
2. Lavar los restos de hipoclorito con ayuda de una piseta con agua destilada
3. Se dejan secar en cámara aséptica
4. Se realiza una remoción de la superficie dental de alrededor de 1 mm con ayuda de una fresa odontológica
5. Se da un segundo baño en hipoclorito de sodio, pero esta vez al 4% durante 30 minutos
6. Lavar los restos de hipoclorito con ayuda de una piseta con agua destilada
7. Se dejan secar en cámara aséptica
8. Se procede a colocarlos bajo irradiación UV durante media hora
9. Dejar secar en cámara aséptica

PROTOCOLO DE EXTRACCIÓN DE ADN EN DIENTES MOLARES

(Modificado por Torres & Yanagui)

1. Dejar macerar el diente pulverizado en EDTA 0.5M durante 5 días a 4°C.
2. Decantar la muestra y homogenizar las partículas dentarias casi disueltas.
3. Trasladar 2 ml de la alícuota obtenida previamente homogenizada a un tubo de microcentrífuga estéril de 2 ml.
4. Centrifugar a 4000 RPM por 10 minutos.
5. Descartar el sobrenadante y homogenizar el precipitado durante 10 segundos en el vórtex.
6. Verter el contenido en tubos de microcentrífuga de 1.5 ml, agregando 500 ul por tubo.
7. Agregar 300 ul de Lysis Buffer por tubo y homogenizar en el vórtex.
8. Adicionar RNasa A por tubo y homogenizar durante 30 segundos en el vórtex.
9. Agregar Proteinasa K reconstituida y agitar la solución en el vórtex.
10. Poner en Baño maría a 56° C durante toda la noche, luego dejar enfriar.
11. Adicionar 300 ul de Binding Buffer por tubo y homogenizar en el vórtex.
12. Colocar el tubo en hielo.
13. Llevar a Baño maría a 60° C durante 45 minutos.
14. Centrifugar a 13 000 RPM por 5 minutos y utilizar 1 ml del sobrenadante cerca del precipitado.
15. Verter el sobrenadante a un tubo de microcentrífuga nuevo de 2 ml.
16. Colocar una columna de centrifugación en un tubo de recogida de 2 ml.
17. Agregar 100 ul de Activación Buffer en la columna de centrifugado.
18. Centrifugar a 13 000 RPM por 30 segundos y eliminar el flujo.
19. Mezclar la muestra con 250 ul de alcohol isopropílico y mezclar vigorosamente en el vórtex.
20. Trasvasar a la columna ultra pura, marcando con el código de la muestra y previamente colocado en un tubo colector de 2ml.
21. Centrifugar a 13 000 RPM durante 1 minuto.
22. Retirar el líquido cambiando el tubo colector y, adicionar a la columna 500 ul de Washing Buffer y centrifugar a 13 000 RPM durante 1 minuto.
23. Nuevamente agregar 500 ul de Washing Buffer y centrifugar 13 000 RPM durante 1 minuto.
24. Centrifugar 13 000 RPM durante 2 minutos (secado de la membrana).
25. Agregar 45 ul de Elution Buffer y dejar incubar.
26. Centrifugar a 16 000 RPM durante 1 minuto.
27. Almacenar el ADN eluido a 4°C o -20°C.

ANEXO 8: FOTOGRAFÍAS DEL PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

Imagen 1: Identificación de las muestras dentarias

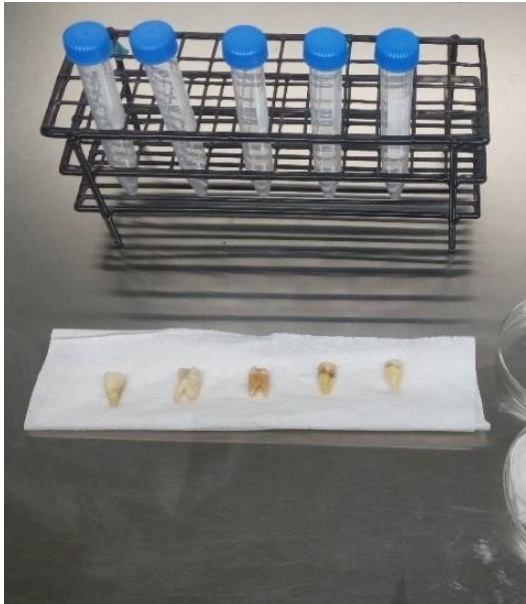


Imagen 2: Baño en hipoclorito de sodio al 8%



Imagen 3: Remoción de la superficie dental



Imagen 4: Criogenización y pulverización de las muestras dentarias



Imagen 5: Pesaje del polvo dental



Imagen 6: Muestras con polvo dental y EDTA al 0.5M



Imagen 7: Extracción de ADN mediante el kit Cellco

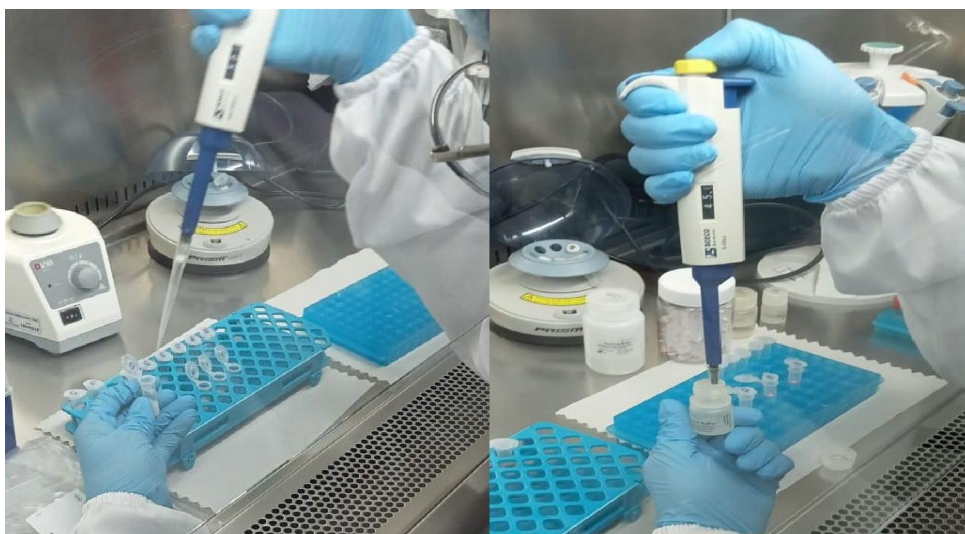


Imagen 8: Calentamiento de las muestras por Baño María

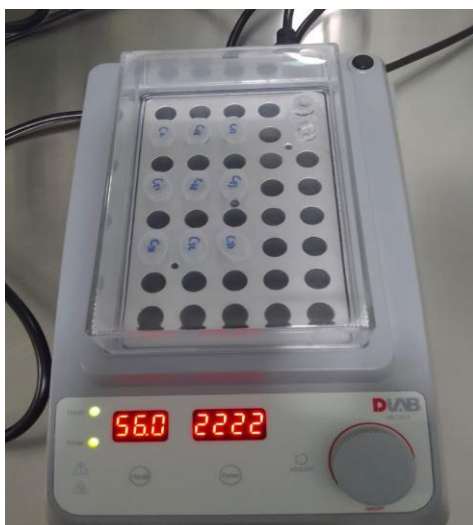


Imagen 9: Activación de la columna

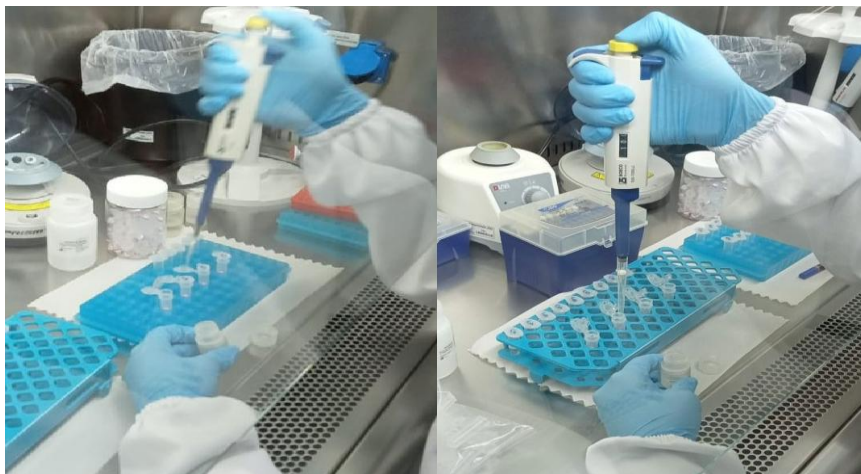


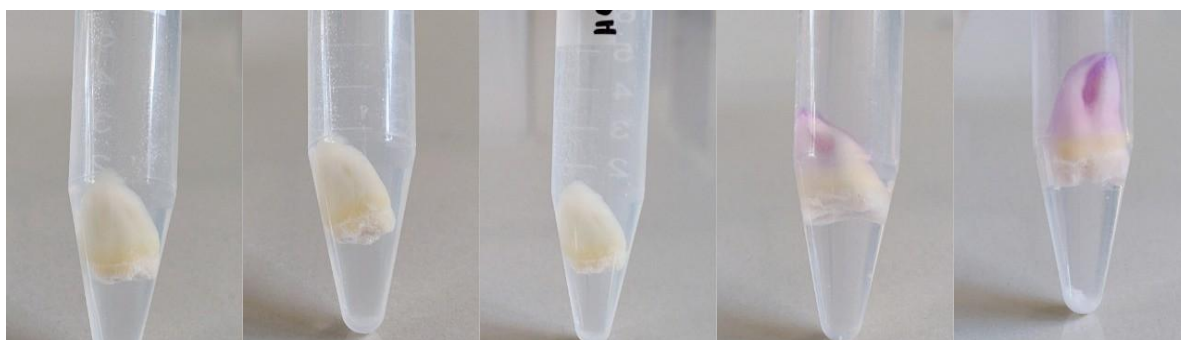
Imagen 10: Cuantificación de ADN extraído mediante el UV/ Vis Nabi



ANEXO 9: CAMBIOS SUPERFICIALES EN DIENTES MOLARES EXPUESTOS A DIFERENTES TEMPERATURAS (100 °C, 200 °C, 300 °C, 400 °C Y 500 °C).



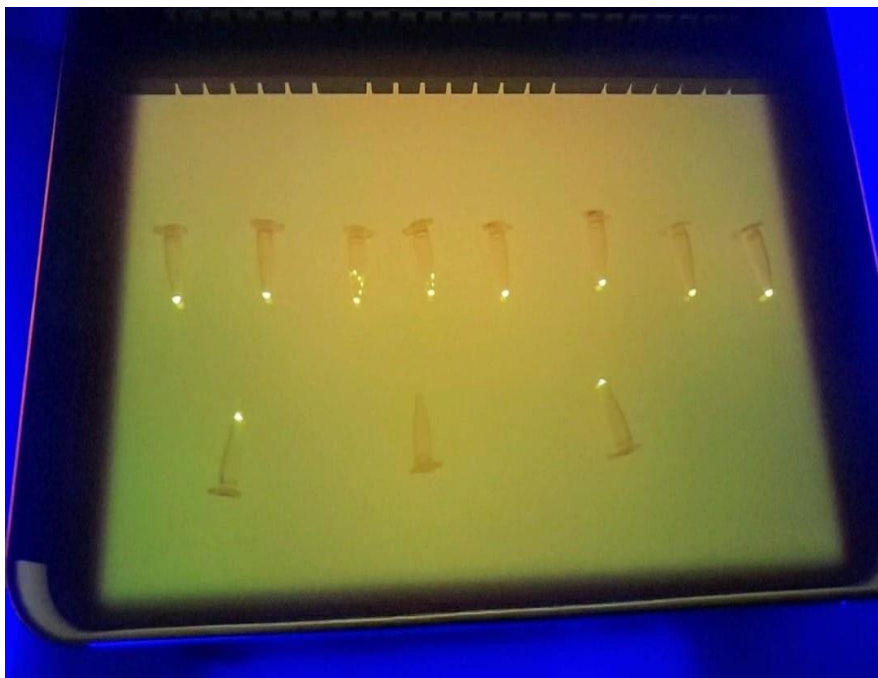
ANEXO 10: CAMBIOS SUPERFICIALES EN DIENTES MOLARES EXPUESTOS A DIFERENTES CONCENTRACIONES (10%, 12%, 15%, 25% Y 37%) DE HCL



ANEXO 11: CAMBIOS SUPERFICIALES EN DIENTES MOLARES CON LESIONES CARIOSAS DESDE NIVEL SUPERFICIAL HASTA MODERADO.

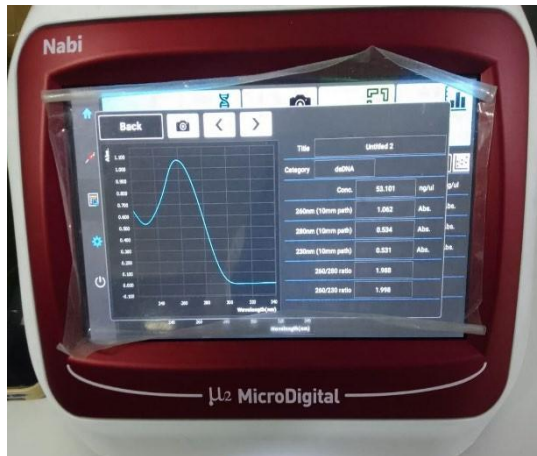


ANEXO 12: MUESTRAS DE DIENTES MOLARES EN EL TRANSILUMINADOR



ANEXO 13: CUANTIFICACIÓN DE DIENTES CONTROL

A)



B)



C)



D)

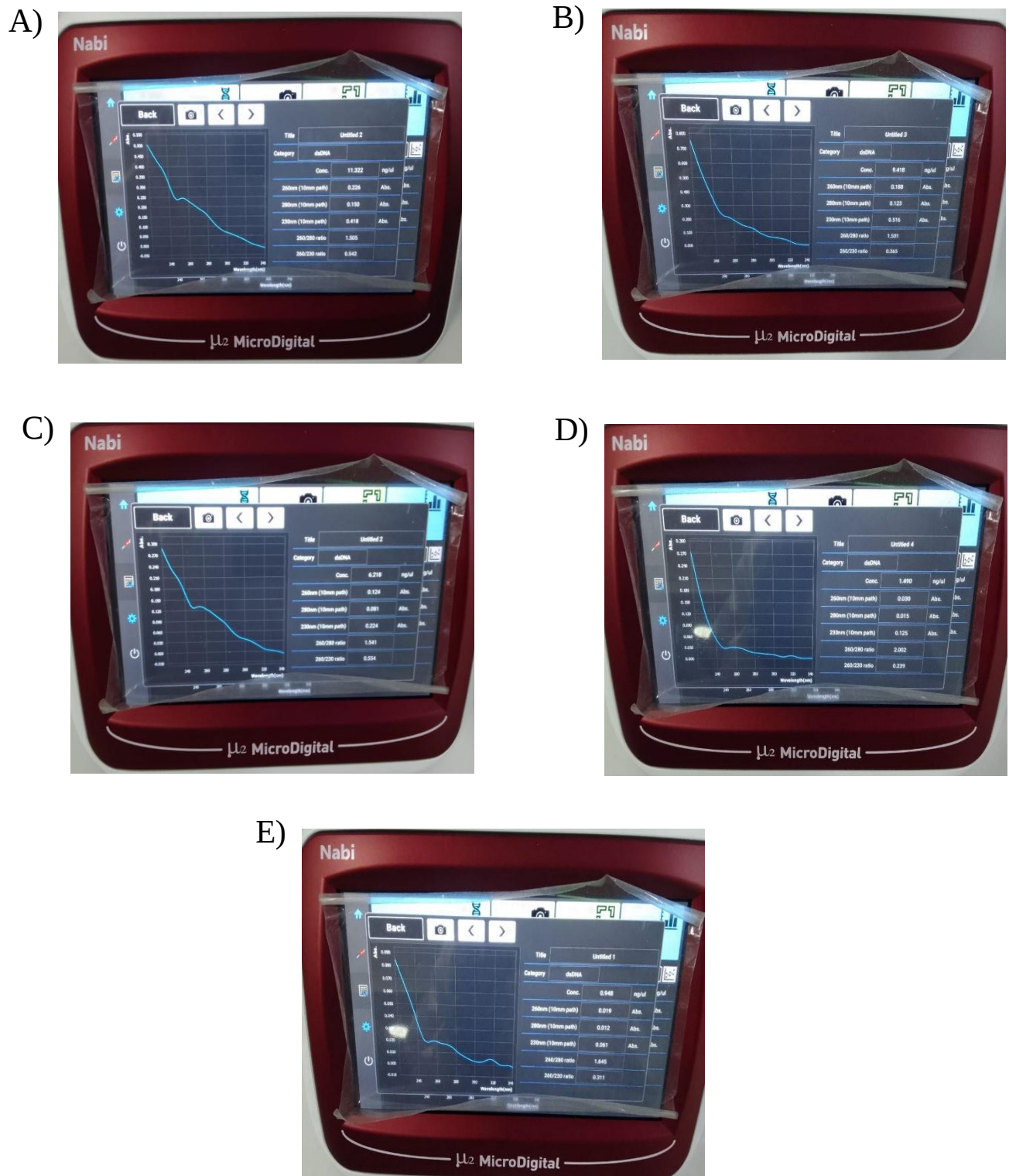


E)



Leyenda: Concentraciones de ADN pulpar en dientes molares intactos (grupo control), con valores de concentración en ng/μL que van desde valores de **E)** mayor concentración con 86. 445 ng/ μL hasta **B)** la menor concentración con 31.938 ng/μL además de valores intermedios **A)** 53.101 ng/ μL – **C)** 47.300 ng/ μL – **D)** 44.895 ng/ μL confirmando la calidad del ADN extraído.

ANEXO 14: CUANTIFICACIONES DE DIENTES EXPUESTOS A FACTORES FÍSICOS



Leyenda: Concentraciones de ADN pulpar en dientes molares expuestos a altas temperaturas (grupo factor físico), con valores de concentración en ng/μL que van desde valores de A) mayor concentración con 11.322 ng/ μL, muestra que fue expuesta a 100°C mientras que E) la menor concentración con 0.948 ng/μL, fue expuesta a 500°C además de presentar valores intermedios B) 9.148 ng/ μL – C) 6.218 ng/ μL – D) 1.490 ng/ μL correspondiendo a la exposición de 200° – 300°C – 400 °C respectivamente

ANEXO 15: CUANTIFICACIONES DE DIENTES EXPUESTOS A FACTORES QUÍMICOS

A)



B)



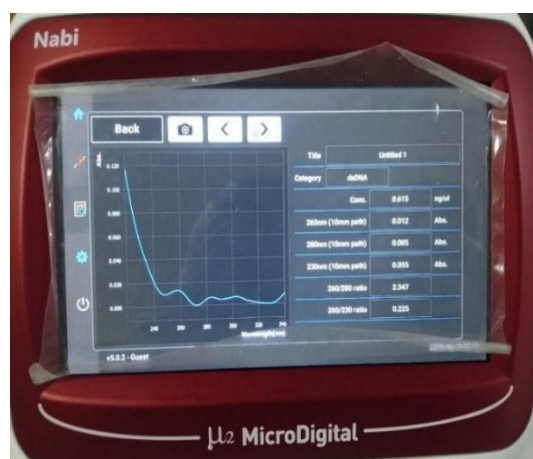
C)



D)

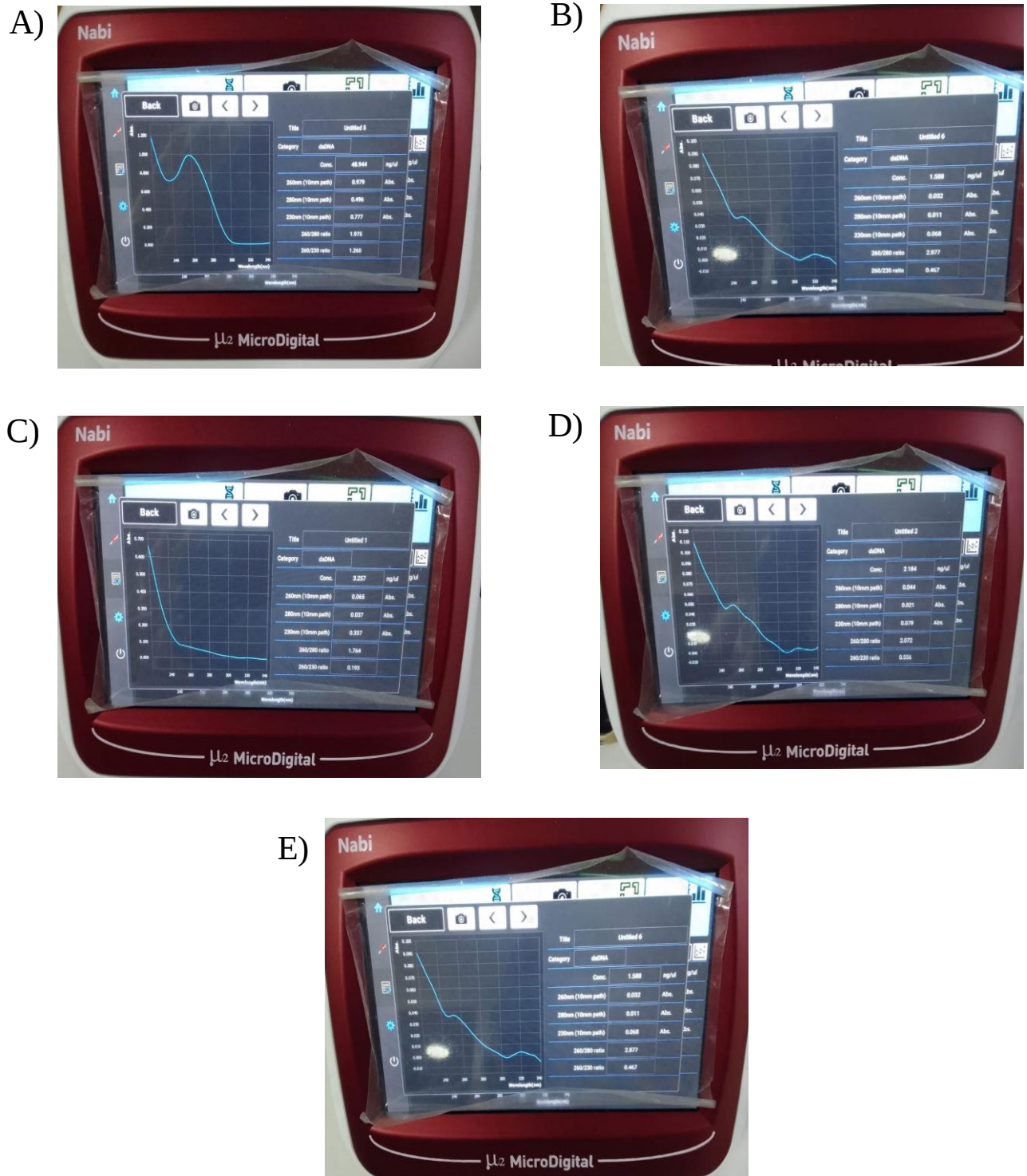


E)



Leyenda: Concentraciones de ADN pulpar en dientes molares sumergidos en HCl (grupo factor químico), con valores de concentración en ng/ μ L que van desde valores de **A)** mayor concentración con 9.173 ng/ μ L que fue expuesta a HCl al 10% mientras que **E)** la menor concentración con 0.615 ng/ μ L, expuesta al 37% además de presentar valores intermedios **B)** 4.229 ng/ μ L – **C)** 2.853 ng/ μ L – **D)** 1.193 ng/ μ L correspondiendo al porcentaje de concentración del HCl: 12% – 15% – 25% respectivamente

ANEXO 16: CUANTIFICACIONES DE DIENTES EXPUESTOS A FACTORES BIOLÓGICOS



Leyenda: Concentraciones de ADN pulpar en dientes molares con presencia de lesiones cariosas (grupo factor biológico), con valores de concentración en ng/ μ L que van desde valores de **A)** 48.944 ng/ μ L y **B)** 24.342 ng/ μ L quienes representan las concentraciones de dientes con lesiones superficiales mientras que muestra que fue expuesta a 100°C mientras que **C)** 3.257 ng/ μ L – **D)** 2.184 ng/ μ L – **E)** 1.588 ng/ μ L corresponden a molares con lesiones moderadas comprometiendo parte de la estructura.