

Efecto de la Dibucaína sobre la SERCA del Músculo Pterigoideo Interno

Drug Action of Dibucaine on the SERCA from Medial Pterygoid Muscle

Recibido 17/04/2023

Aceptado 12/06/2023

Toma A, Medina MM, Corti S,
Sánchez GA, Di Croce DE

Universidad de Buenos Aires. Facultad
de Odontología. Cátedra de Biofísica y
Bioestadística. Buenos Aires, Argentina

RESUMEN

Objetivo: Determinar el efecto del anestésico local dibucaína sobre las principales isoformas de la SERCA (calcio ATPasa de retículo sarco-endoplásmico) presentes en músculo pterigoideo interno. **Métodos:** Se aislaron por centrifugación diferencial membranas de retículo sarcoplásmico de pterigoideo interno de conejo neozelandés macho (n=5). Se separaron las isoformas SERCA1a, 2a y 2b por cromatografía de afinidad. Se determinó in vitro la actividad enzimática en presencia de diferentes concentraciones de dibucaína (0-90 mM) por el método de Fiske y Subbarow, realizando 5 experimentos por duplicado y en paralelo para cada isoforma. Se calculó la media y ES de la CI_{50} (mM) del anestésico para cada isoforma y éstas se compararon por ANOVA de una vía ($p < 0,05$), y prueba Student-Newman-Keuls de comparaciones múltiples. **Resultados:** Dibucaína inhibió la actividad enzimática en función de su concentración en las tres isoformas en estudio. Las CI_{50} fueron: SERCA1a $20,02 \pm 0,64$ mM, SERCA2a $15,03 \pm 0,52$ mM y SERCA2b $16,00 \pm 0,51$ mM y resultaron significativamente diferentes ($F_{2,27} = 11,08$, $p < 0,001$). La prueba post hoc identificó diferencias significativas entre SERCA1a y 2a, 1a y 2b. El efecto inhibitorio resultó significativamente mayor sobre las isoformas 2a y 2b, cuya presencia es sustancialmente mayor en músculos masticadores. **Conclusión:** La dibucaína inhibe a la SERCA de pterigoideo interno a concentraciones menores que las usadas en clínica médica (29 mM). Es un anestésico local con potencial efecto miotóxico derivado de la inhibición de la SERCA.

Palabras clave: anestésicos locales, dibucaína, SERCA, músculos masticadores, músculo pterigoideo interno.

ABSTRACT

Aim: To test the effect of the local anesthetic dibucaine on the main isoforms of the SERCA (sarco-endoplasmic reticulum calcium-ATPase) in medial pterygoid muscle. **Methods:** Sarcoplasmic reticulum membranes from male New Zealand rabbits (n=5)

were isolated from medial pterygoid muscle by ultracentrifugation. The isoforms SERCA1a, 2a and 2b were separated using high affinity chromatography. *In vitro* enzymatic activity determinations were performed in the presence of different dibucaine concentrations (0-90 mM) using the colorimetric method described by Fiske & Subbarow. Five assays in duplicate and run in parallel were performed for each of the isoforms. Mean and SEM of the IC₅₀ (mM) for the effect of the anesthetic on each isoform were calculated and compared by one-way ANOVA ($p < 0.05$), and Student-Newman-Keuls multiple comparisons test. Results: Dibucaine inhibited the enzymatic activity in a concentration-dependent manner for the three studied isoforms. The IC₅₀ values were: SERCA1a 20.02 ± 0.64 mM, SERCA2a 15.03 ± 0.52 mM and SERCA2b 16.00 ± 0.51 mM. The values were significantly different ($F_{2,27} = 11.08$, $p < 0.001$). The post hoc test revealed significant differences between SERCA1a and 2a, 1a and 2b. The inhibitory effect was significantly higher on 2a and 2b isoforms, whose presence is substantially higher in masticatory muscles. Conclusion: Dibucaine inhibits SERCA in medial pterygoid muscle at concentrations lower than those used in clinical medicine (29 mM). It is a potentially myotoxic local anesthetic whose toxic effect may derive from SERCA inhibition.

Keywords: Local anesthetics, dibucaine, SERCA, masticatory muscles, medial pterygoid muscle.

INTRODUCCIÓN

Los anestésicos locales bloquean en forma reversible la conducción del impulso nervioso. Su sitio de acción primaria es la membrana celular, y su efecto anestésico se debe principalmente a la interacción directa con los canales de Na⁺ voltaje dependientes. Sin embargo, los anestésicos locales también pueden interactuar con la fracción lipídica de la membrana y con otras proteínas de membrana alterando sus funciones (Kaye et al., 2022).

La dibucaína es un anestésico local de tipo amida que posee acción prolongada y se encuentra entre los anestésicos más potentes y tóxicos (Toth et al., 1995; Yamamura et al., 1998). Su utilización forma parte de preparaciones tópicas utilizadas en odontología, dermatología, y anestesia infiltrativa articular. Adicionalmente, en odontopediatría la dibucaína puede ser administrada en forma tópica para reducir el dolor durante la anestesia infiltrativa, así como también en pacientes tratados con quimioterapia y/o radioterapia que poseen úlceras en tejidos blandos (Deepika et al., 2012; Patel et al., 2021).

La calcio ATPasa (Ca-ATPasa) se encuentra en el retículo sarcoplásmico de los miocitos, la cual bombea Ca²⁺ desde el citosol de la célula al lumen del retículo sarcoplásmico a expensas de la energía de la hidrólisis del ATP, promoviendo la relajación muscular (Lytton et al., 1992; Toyoshima y Inesi, 2004). Pertenece a una familia de enzimas conocidas como SERCA o

Ca-ATPasa de retículo sarcoplásmico que codifica para 3 genes SERCA 1, 2, y 3, con especificidad tisular y de desarrollo, contribuyendo a las funciones fisiológicas únicas del tejido en donde se expresan (Lytton et al., 1992). Se ha estudiado el efecto de anestésicos locales amida tales como carticaína, lidocaína, procaína y bupivacaína (de la Cal et al., 2017; Di Croce et al., 2014; Takara et al., 2000) y ésteres como la benzocaína, tetracaína y procaína (Di Croce et al., 2015; Sánchez et al., 2013) sobre la SERCA tanto en músculo blanco rápido como en músculos masticadores. Además, las isoformas de SERCA presentes en músculos masticadores y músculo blanco rápido fueron identificadas por Sánchez et al., (2014), quienes utilizaron ELISA para cuantificar las diferentes proporciones de SERCA presentes en las preparaciones de membranas de retículo sarcoplásmico aisladas del músculo. La SERCA 1 fue predominante (90,5%) en el músculo blanco rápido, mientras que una mezcla de isoformas de SERCA se encontró en los músculos masticatorios, reportándose un efecto diferencial del anestésico local carticaína sobre las distintas isoformas del músculo pterigoideo interno (de la Cal et al., 2017). Sin embargo, el efecto de la dibucaína sobre las distintas isoformas no ha sido estudiado.

La presunción de un vínculo entre la disfunción de la Ca-ATPasa relacionada con el anestésico dibucaína, motivó este estudio. Los experimentos llevados a cabo en este trabajo apuntaron a investigar el efecto de la dibucaína sobre las diferentes isoformas de SERCA del músculo pterigoideo interno. La hipótesis del trabajo establece que el aumento de la concentración de Ca²⁺ mioplásmico, como consecuencia de la inhibición de la dibucaína sobre la SERCA podría generar contracción muscular sostenida o rigidez.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se aislaron músculos pterigoideos internos provenientes de 5 conejos neozelandeses macho (2 kg de peso y 6 meses de edad). Paralelamente, se aislaron membranas de retículo sarcoplásmico (RS) por centrifugación diferencial (Champeil et al., 1985). Este procedimiento permite obtener membranas de RS nativas en un modelo de vesículas selladas con capacidad para acumular calcio y actividad Ca-ATPásica por parte de la SERCA.

El protocolo para el cuidado y manejo de los animales de experimentación fue aprobado por la Comisión de Ética de la Facultad de Odontología de la Universidad de Buenos Aires.

En este trabajo se utilizaron reactivos de calidad analítica. La seroalbúmina bovina, los buffers MOPS y TRIS, el ATP disódico y la calcimicina se adquirieron de Sigma (St. Louis, MO, USA). Los anticuerpos IgG anti-SERCA1/2/3 se adquirieron de Santa Cruz Biotechnology Inc. (Santa Cruz, CA, USA). La dibucaína se adquirió del Laboratorio Richmond.

Los fragmentos de membranas de RS purificadas y ricas en las diferentes isoformas de SERCA fueron separadas utilizando cromatografía de afinidad

(Dormer et al., 1993). La identificación de las isoformas de SERCA se realizó por el método de ELISA (Leberer y Pette, 1986), empleando IgG anti-SERCA1/2/3. Cada SERCA purificada se verificó mediante electroforesis en gel de poliacrilamida de dodecil sulfato sódico (SDS-PAGE) (Laemmli, 1970), con pesos moleculares de 110 KDa, 100 KDa y 97 KDa para SERCA 1, 2, y 3 respectivamente, y por el inmunoensayo ELISA utilizando anticuerpos anti-SERCA 1, 2 y 3. La concentración proteica fue determinada por el método colorimétrico descrito por Lowry et al., (1951).

Para la determinación de la actividad enzimática de la Ca-ATPasa, incubamos las vesículas de retículo sarcoplásmico (1 mg/ml) durante 2 minutos a 37°C en medios conteniendo buffer MOPS-TRIS 50 mM (pH 7,2), ATP 3 mM, KCl 100 mM, MgCl₂ 3 mM, CaCl₂ 0,1 mM, EGTA 0,1 mM, 10 mM calcimicina (ionóforo de calcio A 23187) y dibucaína en un rango de concentraciones entre 0 y 90 mM. La reacción se inició por adición de las membranas de retículo sarcoplásmico y se detuvo por adición de ácido tricloroacético 5 % (concentración final). Posteriormente, centrifugamos los medios y determinamos la concentración de fosfato inorgánico (P_i) en los sobrenadantes usando el método de Fiske y Subbarow., (1925). Dicha concentración de P_i se tomó como índice de la actividad enzimática. Paralelamente, se ensayaron blancos sin membranas de retículo sarcoplásmico y se restaron a los datos experimentales. Los resultados obtenidos con dibucaína representan 5 experimentos independientes llevados a cabo por duplicado y en paralelo para cada una de las isoformas.

El análisis de los datos incluyó el cálculo de la media aritmética y del error estándar correspondientes a la CI₅₀ del anestésico para cada isoforma. Las diferencias entre medias se analizaron mediante ANOVA de una vía, y prueba Student-Newman-Keuls de comparaciones múltiples. El nivel de significación empleado fue $p < 0,05$.

RESULTADOS

La actividad enzimática máxima de SERCA bajo las condiciones experimentales planteadas y en ausencia de dibucaína fue 250 $\mu\text{mol P}_i \cdot \text{mg proteina}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ para todas las isoformas. La dibucaína inhibió la actividad enzimática de modo concentración dependiente. La figura 1 muestra la actividad enzimática de SERCA1a, 2a y 2b vs. incrementos en la concentración de dibucaína, y revela un perfil dosis respuesta de tipo sigmoideo con pendiente negativa. A partir del ajuste de los datos experimentales en presencia de diferentes concentraciones de anestésico local se obtuvieron las CI₅₀ para cada isoforma, siendo para SERCA1a 20,02 \pm 0,64 mM, SERCA2a 15,03 \pm 0,52 mM y SERCA2b 16,00 \pm 0,51 mM. La actividad de SERCA se encuentra completamente inhibida a concentraciones cercanas a 90 mM.

La figura 2 muestra el promedio de la CI₅₀ de dibucaína para la inhibición de la actividad enzimática en

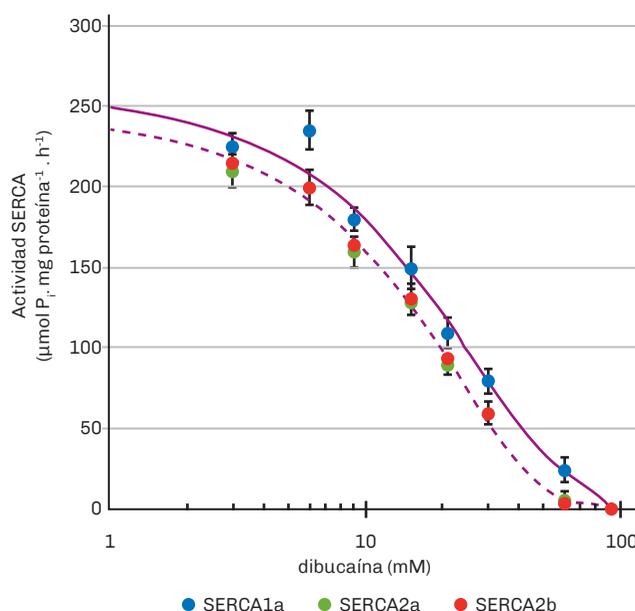


FIGURA 1. Efecto inhibitorio de dibucaína sobre la actividad de SERCA. Se incubaron membranas de RS (0,1 mg/mL) a un medio estándar con concentraciones variables de dibucaína. La actividad ATPásica fue cuantificada por espectrofotometría. Los resultados se expresaron como promedio \pm error estándar. Los datos experimentales se ajustaron a una función sigmoidea simple para SERCA1a, SERCA2a y SERCA 2b. (n=5).

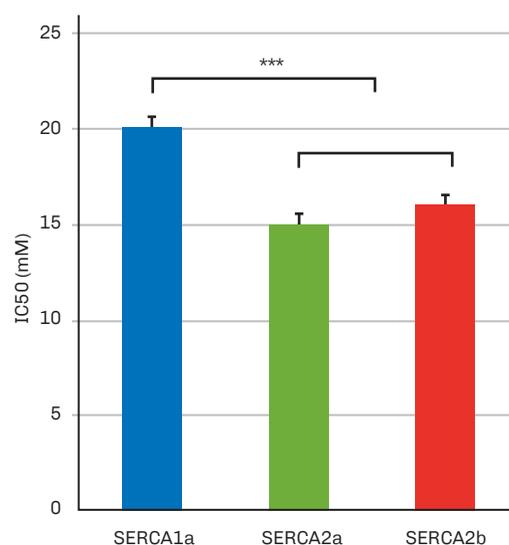


FIGURA 2. Inhibición diferencial de dibucaína sobre la actividad de SERCA. La concentración inhibitoria media (IC50) fue obtenida en presencia de dibucaína para las isoformas de SERCA de preparaciones membranas de RS aisladas de músculo pterigoideo interno. Las barras de error representan ES. Diferencia significativa *** $P < 0,0001$.

cada isoforma de SERCA. Se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las medias de CI₅₀ ($F_{2,27} = 11,08$; $P < 0,001$). Los valores de CI₅₀ presentaron el siguiente orden decreciente: SERCA1a > SERCA2b > SERCA 2a. La prueba post

hoc identificó valores significativamente menores de CI_{50} para SERCA2a y SERCA2b comparado con SERCA1a. Estos hallazgos indican que la dibucaína posee diferente potencia para cada isoforma de SERCA. La isoforma más sensible a dibucaína fue la SERCA2a y SERCA2b cuya presencia es sustancialmente mayor en músculos masticadores, mientras que la menos sensible al anestésico local fue la isoforma SERCA1a.

DISCUSIÓN

La inhibición de la SERCA proveniente de músculo pterigoideo interno por anestésicos locales ha sido estudiada por el grupo de trabajo (de la Cal et al., 2017; Sánchez et al., 2012, 2013), pero este trabajo es el primero en relacionar los efectos de la dibucaína sobre las isoformas de SERCA. Es de destacar que el análisis electroforético (datos no mostrados) mostró una elevada concentración de SERCA (> 90 %) entre 100-110 KDa, que es similar a lo reportado por de la Cal et al. (2017).

En base a los resultados obtenidos en este estudio podemos destacar diversos hallazgos: (1) Las isoformas de SERCA presentes en el músculo pterigoideo interno poseen distinta afinidad para la dibucaína; (2) la dibucaína inhibe a la SERCA de pterigoideo interno a concentraciones menores que las usadas en clínica médica (29 mM), con lo cual es un anestésico local con potencial efecto miotóxico derivado de la inhibición de la SERCA.

El grupo de trabajo ha estudiado el efecto de los anestésicos locales de uso odontológico de tipo amida y éster sobre músculo blanco rápido y músculos masticadores elevadores y depresores (Di Croce et al., 2014, 2015; Sánchez et al., 2010, 2012, 2013; Takara et al., 2000, 2005). Los valores de IC_{50} para lidocaína, bupivacaína, tetracaína, procaína, benzocaína y carticaína son menores para SERCA aislada de músculos masticadores comparados a la SERCA aislada a partir de músculo blanco rápido, indicando que los anestésicos locales tienen más potencia sobre los músculos masticadores.

La hipótesis, en artículos previos publicados por el grupo de trabajo (Sánchez et al., 2004, 2010) planteaba que los músculos masticadores presentaban una isoforma de SERCA diferente a la encontrada en el músculo blanco rápido. Luego se determinó que la expresión de SERCA en músculos masticadores correspondía a una combinación de isoformas de SERCA (Sánchez et al., 2014), con lo cual la hipótesis planteada previamente fue descartada y reformulada, atribuyendo la diferencia encontrada en las CI_{50} para cada tipo muscular a la expresión combinada de las distintas isoformas de SERCA en los músculos masticadores.

Las diferencias en las afinidades de dibucaína a las isoformas de SERCA deben ser tenidas en cuenta. A pesar que las isoformas de SERCA poseen una estructura similar, sus secuencias aminoacídicas podrían presentar algunas diferencias, con lo cual la posición de los aminoácidos en las distintas

isoformas de SERCA generaría sitios con mayor o menor afinidad para los anestésicos locales, pero esto debe ser estudiado.

CONCLUSIONES

Se concluye que la inhibición diferencial de dibucaína sobre las isoformas de SERCA del músculo pterigoideo interno se puede observar a concentraciones menores que las utilizadas clínicamente y podría explicar la miotoxicidad del anestésico local, ya que la relajación de la fibra muscular masticatoria se vería alterada como resultado de la inhibición de la actividad enzimática. Este trabajo brinda nuevos antecedentes básicos y clínicos de dibucaína en el área de la farmacología, con un enfoque no estudiado previamente, alentando el estudio de los sitios de unión de dibucaína a las distintas isoformas de SERCA, relacionando las alteraciones estructurales con las funcionales.

REFERENCIAS

Champeil, P., Guillain, F., Venien, C., y Gingold, M. P. (1985). Interaction of magnesium and inorganic phosphate with calcium-deprived sarcoplasmic reticulum adenosinetriphosphatase as reflected by organic solvent induced perturbation. *Biochemistry*, 24(1), 69–81. <https://doi.org/10.1021/BI00322A012>

de la Cal, C., Trinks, G., Corti, S., y Sánchez, G. (2017). Differential effect of articaine on sarcoendoplasmic reticulum calcium adenosine triphosphatase of medial pterygoid muscle. *Journal of Oral & Facial Pain and Headache*, 31(4), e21–e28. <https://doi.org/10.11607/OFPH.1835>

Deepika, A., Rao, C. R., Vinay, C., Uloopi, K. S., y Rao, V. V. (2012). Effectiveness of two flavored topical anesthetic agents in reducing injection pain in children: a comparative study. *The Journal of Clinical Pediatric Dentistry*, 37(1), 15–18. <https://doi.org/10.17796/jcpd.37.1.h4jl152t334j3802>

Di Croce, D. E., Trinks, P. W., De La Cal, C., Sánchez, G. A., y Takara, D. (2014). Amide-type local anesthetics action on the sarcoplasmic reticulum Ca-ATPase from fast-twitch skeletal muscle. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 387(9), 873–881. <https://doi.org/10.1007/S00210-014-1004-2>

Di Croce, D., Trinks, P. W., Grifo, M. B., Takara, D., y Sánchez, G. A. (2015). Drug action of benzocaine on the sarcoplasmic reticulum Ca-ATPase from fast-twitch skeletal muscle. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 388(11), 1163–1170. <https://doi.org/10.1007/S00210-015-1149-7>

- Dormer, R. L., Capurro, D. E., Morris, R., y Webb, R. (1993). Demonstration of two isoforms of the SERCA-2b type Ca²⁺, Mg(2+)-ATPase in pancreatic endoplasmic reticulum. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1152(2), 225–230. [https://doi.org/10.1016/0005-2736\(93\)90253-v](https://doi.org/10.1016/0005-2736(93)90253-v)
- Fiske, C. H., y Subbarow, Y., (1925). The colorimetric determination of phosphorus. *Journal of Biological Chemistry*, 66(2), 375–400. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)84756-1](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)84756-1)
- Kaye, A. D., Edinoff, A. N., Yan, J. Y., Kaye, A. J., Alvarado, M. A., Pham, A. D., Chami, A. A., Shah, R. J., Dixon, B. M., Shafeinia, A., Cornett, E. M., y Fox, C. (2022). Novel local anesthetics in clinical practice: pharmacologic considerations and potential roles for the future. *Anesthesiology and Pain Medicine*, 12(1), e123112. <https://doi.org/10.5812/AAPM.123112>
- Laemmli, U. K. (1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 227(5259), 680–685. <https://doi.org/10.1038/227680a0>
- Leberer, E., y Pette, D. (1986). Immunochemical quantification of sarcoplasmic reticulum Ca-ATPase, of calsequestrin and of parvalbumin in rabbit skeletal muscles of defined fiber composition. *European Journal of Biochemistry*, 156(3), 489–496. <https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1986.tb09607.x>
- Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L., y Randall, R. J. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *The Journal of Biological Chemistry*, 193(1), 265–275. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(19\)52451-6](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(19)52451-6)
- Lytton, J., Westlin, M., Burk, S. E., Shull, G. E., y MacLennan, D. H. (1992). Functional comparisons between isoforms of the sarcoplasmic or endoplasmic reticulum family of calcium pumps. *The Journal of Biological Chemistry*, 267(20), 14483–14489. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(19\)49738-X](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(19)49738-X)
- Patel, D., Lahiri, B., El-Patal, M. A.-E., Alazmah, A., Patel, P., y Abokhlifa, Y. H. (2021). To compare and analyze the potency of two topical anesthetic gels in reducing inferior alveolar injection pain in children of 8-12 years: a double-blinded clinical trial. *Journal of Pharmacy & Bioallied Sciences*, 13(Suppl 1), S646–S650. https://doi.org/10.4103/jpbs.JPBS_772_20
- Sánchez, G. A., Di Croce, D. E., De La Cal, C., Richard, S. B., y Takara, D. (2013). Differential mechanism of the effects of ester-type local anesthetics on sarcoplasmic reticulum Ca-ATPase. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 386(12), 1061–1069. <https://doi.org/10.1007/S00210-013-0907-7>
- Sánchez, G. A., Di Croce, D. E., Richard, S. B., y Takara, D. (2012). Effect of articaine on calcium transport in sarcoplasmic reticulum membranes isolated from medial pterygoid muscle. *Acta Odontologica Latinoamericana: AOL*, 25(1), 34–39. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22928379/>
- Sánchez, G. A., Takara, D., y Alonso, G. L. (2010). Local anesthetics inhibit Ca-ATPase in masticatory muscles. *Journal of Dental Research*, 89(4), 372–377. <https://doi.org/10.1177/0022034510363220>
- Sánchez, G. A., Takara, D., Toma, A. F., y Alonso, G. L. (2004). Characteristics of the sarcoplasmic reticulum Ca²⁺-dependent ATPase from masticatory muscles. *Journal of Dental Research*, 83(7), 557–561. <https://doi.org/10.1177/154405910408300709>
- Sánchez, G. A., Trinks, P. W., Richard, S. B., Di Croce, D. E., y Takara, D. (2014). Expression of sarcoplasmic-endoplasmic reticulum Ca-ATPase isoforms in masticatory muscles. *European Journal of Oral Sciences*, 122(1), 36–41. <https://doi.org/10.1111/EOS.12098>
- Takara, D., Sanchez, G. A., y Alonso, G. L. (2000). Effect of carticaine on the sarcoplasmic reticulum Ca²⁺-dependent adenosine triphosphatase. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 362(6), 497–503. <https://doi.org/10.1007/S002100000259>
- Takara, D., Sánchez, G. A., Toma, A. F., Bonazzola, P., y Alonso, G. L. (2005). Effect of carticaine on the sarcoplasmic reticulum Ca²⁺-adenosine triphosphatase. II. Cations dependence. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 371(5), 375–382. <https://doi.org/10.1007/S00210-005-1061-7>
- Toth, B. B., Chambers, M. S., Fleming, T. J., Lemon, J. C., y Martin, J. W. (1995). Minimizing oral complications of cancer treatment. *Oncology (Williston Park, N.Y.)*, 9(9), 851–858, 863–866. <https://www.cancernetwork.com/view/minimizing-oral-complications-cancer-treatment>
- Toyoshima, C., y Inesi, G. (2004). Structural basis of ion pumping by Ca²⁺-ATPase of the sarcoplasmic reticulum. *Annual Review of Biochemistry*, 73, 269–292. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV.BIOCHEM.73.011303.073700>
- Yamamura, K., Ohta, S., Yano, K., Yotsuyanagi, T., Okamura, T., y Nabeshima, T. (1998). Oral mucosal adhesive film containing local anesthetics: in vitro and clinical evaluation. *Journal of Biomedical Materials Research*, 43(3), 313–317. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1097-4636\(199823\)43:3<313::aid-jbm12>3.0.co;2-g](https://doi.org/10.1002/(sici)1097-4636(199823)43:3<313::aid-jbm12>3.0.co;2-g)

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

Dirección para correspondencia

Cátedra de Biofísica y Bioestadística
Facultad de Odontología
Universidad de Buenos Aires
Marcelo T. de Alvear 2142
Ciudad Autónoma de Buenos Aires, C1122AA
daniel.dicroce@odontologia.uba.ar

La Revista de la Facultad de Odontología de la Universidad de Buenos Aires se encuentra bajo una Licencia Creative Commons Atribución-NoComercial-SinDerivadas 2.5 Argentina

