



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO**

---

**ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS PROFESIONALES  
CAMPUS IZTACALA**

**PRESENCIA DE ACTIVIDAD DE ARGINASA EN  
PULPA DENTAL HUMANA.**

**T E S I S**

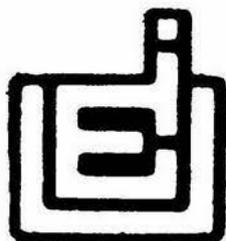
**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
LICENCIADO EN BIOLOGÍA**

**P R E S E N T A :**

**LUISA IRINA SOBERANES RODRIGUEZ**

**DIRECTOR DE TESIS:**

**DR. JOSE DOMINGO MENDEZ FRANCISCO**



**MEXICO, D. F.**

**1994**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## **AGRADECIMIENTOS**

### **A MI MADRE**

Por su ejemplo, su comprensión y todo su amor.  
Sin ella no hubiera sido posible la realización de este trabajo.

### **A MI PADRE**

Por su cariño, comprensión y estímulo.  
Porque ha estado conmigo en todo momento.

### **A MI HERMANO**

Por sus palabras de aliento.

**Mi más profundo agradecimiento al Dr. en C. José Domingo Méndez  
por su atinada conducción y su mesurada crítica.**

**Un especial reconocimiento al M. en C. Angel Durán Díaz  
por su didáctica paciencia y su amable comprensión.**

**Agradezco a los Miembros de la Comisión Dictaminadora  
sus amables comentarios y certeras críticas en la revisión  
de éste trabajo:**

**M. en C. Sergio González Moreno**

**M. en C. Eduardo Barrera Escorcía**

**M. en C. Angel Durán Díaz**

**Dr. en C. José Domingo Méndez**

**M. en C. Ignacio Peñalosa Castro**

## INDICE

INTRODUCCION	1
GENERALIDADES	2
Catabolismo de aminoácidos	6
Ruta del alfa-cetoglutarato	8
Ciclo de la Urea	12
Interacción entre el Ciclo de la Urea y otras vías metabólicas	16
Biosíntesis de Poliaminas	17
Ciclo del ácido cítrico	18
PULPA	23
Función	23
Anatomía	23
Odontoblastos	24
Fibroblastos	24
Células mesenquimáticas	
Indiferenciadas	25
Otras células de la pulpa dental	25

<b>Sensibilidad dentinaria</b>	<b>26</b>
<b>Cambios con la edad</b>	<b>27</b>
<b>Respuestas a estímulos ambientales</b>	<b>28</b>
<b>OBJETIVO</b>	<b>29</b>
<b>METODOLOGIA</b>	<b>30</b>
<b>RESULTADOS</b>	<b>32</b>
<b>DISCUSION</b>	<b>39</b>
<b>CONCLUSIONES</b>	<b>41</b>
<b>ANEXO 1</b>	<b>42</b>
<b>ANEXO 2</b>	<b>45</b>
<b>BIBLIOGRAFIA</b>	<b>51</b>

## **INTRODUCCION**

Diversos estudios han demostrado la presencia de poliaminas en múltiples sistemas celulares, en bacterias, hongos, levaduras, plantas, células de diversos tejidos de mamíferos; en donde estos compuestos desempeñan funciones específicas.

Se ha demostrado que son factores de crecimiento y que su presencia es esencial para la regulación de múltiples procesos entre los que destacan diferenciación, división y proliferación celular. También puede interactuar con ácidos nucleicos, donde estabilizan la estructura secundaria del DNA, lo protegen de la desnaturalización térmica y de la degradación enzimática entre otras funciones; debido a esto se ha despertado un gran interés para estudiar estos compuestos en diversas áreas de la investigación.

La arginasa (L-arginina urea hidrolasa; E.C. 3.5.3.1.) es la enzima final del ciclo de la urea y cataliza la reacción de hidrólisis de la arginina formando ornitina y urea (1). De las cinco enzimas que constituyen el ciclo de la urea, la arginasa es la enzima más abundante, ha sido ampliamente estudiada en el tejido hepático de los organismos ureotélicos, particularmente en los mamíferos, entre los que se incluye al hombre.

En otros tejidos diferentes al hígado se encuentran tres de las cinco enzimas del ciclo de la urea y se ha descrito que contienen menor actividad de arginasa con respecto al hígado. La función que se ha propuesto para la arginasa en los tejidos extra hepáticos es la de sintetizar ornitina que es un precursor de la prolina, del ácido glutámico y la citrulina (2).

En otros estudios se ha demostrado que la ornitina es utilizada también para la biosíntesis de las poliaminas, putrescina, espermina y espermidina, moléculas involucradas en el crecimiento, multiplicación y diferenciación celular (3).

Se ha demostrado que la actividad de la arginasa aumenta en los tejidos con crecimiento activo, tal como ocurre en la embriogénesis de la rata. Su inhibición específica detiene el crecimiento.

En el humano, por citar algunos ejemplos, la actividad de la arginasa ha sido estudiada en hígado, eritrocitos, riñones, tracto gastrointestinal y cerebro (4).

También ha sido estudiada en condiciones de salud y enfermedad, por lo que se conocen algunas de sus propiedades y constantes cinéticas.

## **GENERALIDADES.**

La arginasa (L-arginasa aminhidrolasa E.C.3.5.3.1.) es la enzima que cataliza la hidrólisis de la arginina a L-ornitina y urea. Su presencia fue primeramente detectada en el hígado de los mamíferos como la enzima terminal del ciclo de la urea. (4).

De una manera general, la arginasa está ausente en el hígado de organismos uricotélicos: reptiles y aves cuya excreción de nitrógeno amfínico esencialmente, se hace en forma semisólida como suspensión de ácido úrico sólido; en los organismos ureotélicos, es decir, aquellos que excretan el nitrógeno amfínico en forma de urea, su actividad es considerable.

Además de la función hepática, la actividad de arginasa está asociada con la regulación de diversos procesos celulares. Esta enzima se encuentra presente en diferentes tejidos de mamíferos y en otros sistemas vivientes (granos en germinación, levaduras, ciertos mohos y bacterias) (5), lo que constituye un indicativo de que su presencia es esencial para la realización de procesos básicos de la función celular.

La actividad extrahepática de la arginasa ha sido reportada en riñón (6,7), placenta (24,26), corazón (30), intestino delgado (8,9), cerebro (10), tiroideas (11), epidermis (12,13), páncreas (15), útero (24), glándula submaxilar (14), glándula mamaria lactante (17,18,19), eritrocitos (19,21), linfocitos y glándulas leucemicas (20), en líneas celulares en cultivo (21), en suero tanto en personas sanas (23,26) y otros padecimientos diversos (16,25), así como los factores de suero requeridos para la inducción de arginasa en macrófagos (27).

A la arginasa distribuida ampliamente en diferentes tejidos extrahepáticos (31) se le atribuye la función principal, entre otras, de facilitar la disponibilidad de ornitina por la biosíntesis de poliaminas tales como la espermidina en la glándula mamaria lactante (32), en la epidermis asociada a la producción de prolina, glutamato y proteínas queratínicas (33); síntesis para la proliferación de células epiteliales (34), biosíntesis de putrescina en tiroideas (35), etc.

El posible papel de la arginasa extrahepática en la biosíntesis de poliaminas parece especialmente atractivo ya que estas moléculas policatiónicas tienen un papel clave en el crecimiento de células y tejidos (36).

La arginasa tiene una estructura oligomérica, siendo un tetramero que consiste en cuatro monómeros, cada uno de los cuales tienen peso molecular de 30,000 - 40,000 daltones y un ión Mn íntimamente ligado.

El rango de pH óptimo para la arginasa está entre 9.3 y 10.0. Es una enzima que hidroliza uniones C-N no peptídicas y que tiene afinidad con D-arginina y L-homoarginina. Un gran número de sustratos portadores de un resto guanidínico sustituido han sido ensayados para señalar la especificidad de la arginasa; los derivados monosustituídos, no pueden ser sustratos de la arginasa si no cumplen las siguientes condiciones:

- Tener en el grupo guanidínico un radical NH<sub>2</sub> libre y un carboxilo asociado a un grupo NH<sub>2</sub> u -OH en alfa.

- Que haya una cierta separación entre el primero y el segundo. Se tiende a admitir que la arginasa se combina al resto guanidínico de una parte y otra, y que la orientación de su grupo activo descansa sobre una atracción que el manganeso parece ejercer sobre el grupo carboxilo y amino o hidroxilo del sustrato. El metal se comportaría como un agente coordinador entre la enzima y el sustrato por medio de sus últimos grupos (36).

Para la arginasa se han identificado diversas formas moleculares, es decir, isoenzimas, las cuales presentan diferencias en algunas propiedades básicas como por ejemplo: movilidad electroforética, solubilización, sensibilidad de calor. Se ha considerado la posibilidad de que estas isoenzimas puedan formarse a partir de una forma nativa durante los procesos de aislamiento y purificación utilizados (29).

La comprensión del papel fisiológico de las isoenzimas de arginasa contenidos en un compartimiento celular dado es de especial interés debido precisamente a la función catalítica que éstas pueden desempeñar.

Los estudios clínicos y biológicos del control genético y origen de la arginasa realizados recientemente con relación a la argininemia (deficiencia de arginasa) e hiperargininemia (deficiencia de arginasa en eritrocitos), han servido como base para el tratamiento y comprensión de éstas y otras enfermedades congénitas relacionadas con el ciclo de la urea.

La arginasa mejor caracterizada es la enzima de hígado de rata la cual tiene un peso molecular de 120,000 Daltones (34,35) y un pH óptimo alrededor de 9.5 (36). La enzima de hígado humano tiene un peso molecular de 107,000 y su pH óptimo es de 9.3 (37).

Se ha mostrado que la enzima de hígado de rata es también activada por iones  $Mn^{2+}$   $Ca^{+1}$ ,  $Ni^{+3}$  ó  $COH$  en las preparaciones "in vitro" y se ha sugerido que el  $Mn^{2+}$  es el catión activante "in vivo", sin excluir completamente la posibilidad de la participación del  $Fe^{+3}$  (o hasta  $Co^{+1}$  ó  $Ni^{+3}$ ).

Los ensayos de la actividad de arginasa de hígado de rata o ratón deficientes en  $Mn^{2+}$  mostraron retraso en el crecimiento y fallas en la reproducción.

Sin embargo, no se observó efecto en la excreción de urea, hasta después de administrar grandes dosis de citrato de amonio. La disminución observada en la actividad de la arginasa de hígado causada por la deficiencia de  $Mn^{2+}$  está relacionada con las reacciones de arginasa de hígado "in vivo" (41).

Un estudio comparativo muestra que la  $K_m$  a pH 9.5 de la arginasa de hígado (activada con  $Mn^{2+}$ ) presente en varios animales ureotélicos es de 10 a 40 mM, mientras que la  $K_m$  para las arginasas de animales uricotélicos es de 100 a 200 mM (42).

Los valores de  $K_m$  reportados por diferentes investigadores para las arginasas de hígado de diferentes especies de mamíferos, varían de 2 mM a 40 mM (43).

En virtud de que la arginasa forma parte de las enzimas del ciclo de la urea y ésta a su vez se asocia con el catabolismo de aminoácidos, se describen a continuación algunos aspectos relacionados con éste tópico.

## Catabolismo de aminoácidos.

Para la degradación oxidativa de los 20 diferentes aminoácidos que se encuentran en las proteínas, existen 20 secuencias multienzimáticas diferentes en los vertebrados. Todas estas secuencias convergen al piruvato, al acetil-CoA o a los intermediarios del ciclo de los ácidos tricarbóxicos. Tal como se muestra en la fig. 1, los esqueletos carbonados de diez de los aminoácidos rinden en último término acetil-CoA, bien por la vía del piruvato o la del aceto acetil-CoA, otros cinco aminoácidos se convierten en alfa-cetoglutarato, tres rinden succinil-CoA y dos producen oxalacetato. Dos aminoácidos, la tirosina y la fenilalanina, se degradan de modo que una porción de su esqueleto carbonado se incorpora al ciclo de los ácidos tricarbóxicos como acetil-CoA y la otra como fumarato. Sin embargo, no todos los átomos de carbono de cada uno de los veinte aminoácidos se incorporan al ciclo de los ácidos tricarbóxicos, ya que algunos se pierden en la ruta mediante reacciones de descarboxilación.

Las rutas catabólicas de los aminoácidos son largas y complejas, con muchos intermediarios. Los diversos grupos amino terminan por ser incorporados al alfa-cetoglutarato para formar glutamato, que es desaminado oxidativamente por la glutamato deshidrogenasa para dar  $\text{NH}_3$  y alfa-cetoglutarato.

El catabolismo de aminoácidos tiene lugar, en gran parte en el hígado, aunque el riñón también es significativamente activo.

Los átomos de nitrógeno de los grupos alfa-amino, separados de los aminoácidos durante su degradación oxidativa, son finalmente excretados por la orina de los vertebrados en forma de urea (organismos ureotélicos), de amoníaco (organismos amonotélicos) o de ácido úrico (organismos uricotélicos), según las especies.

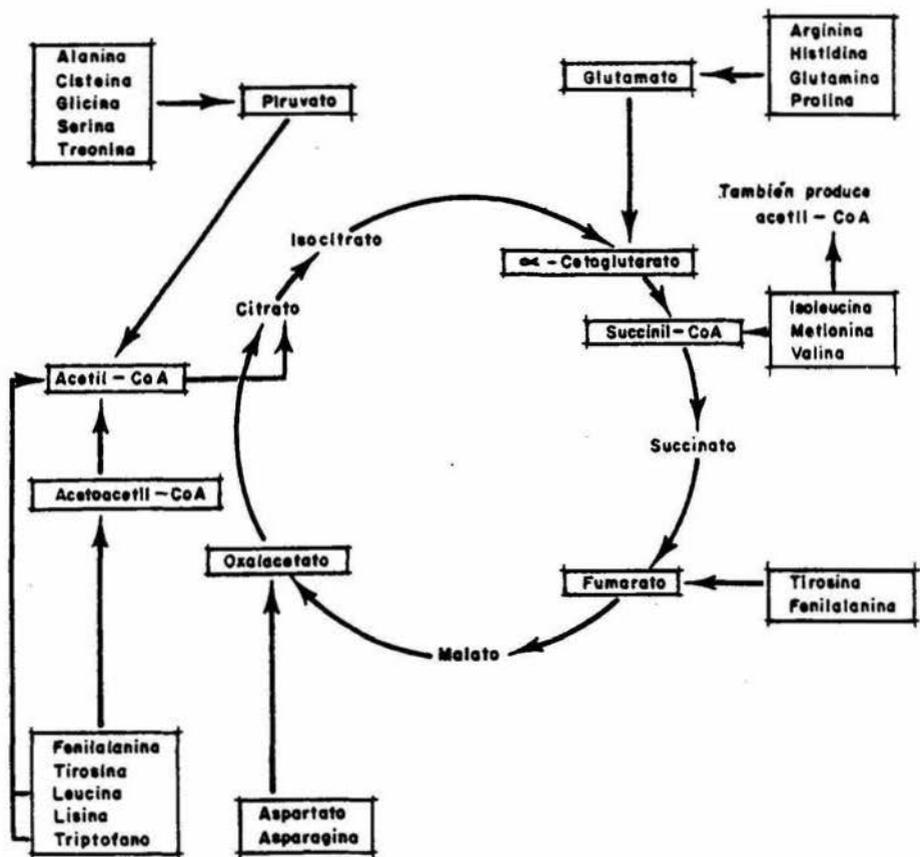


FIG. 1 Rutas de entrada de los aminoácidos de el ciclo de los ácidos tricarbóxicos.(45)

- Ruta del alfa-cetoglutarato.

Los esqueletos carbonados de cinco aminoácidos (arginina, histidina, glutamina, ácido glutámico y prolina) se incorporan al ciclo de los ácidos tricarboxílicos por la vía del alfa-cetoglutarato: todos ellos son glucogénicos (fig. No. 2).

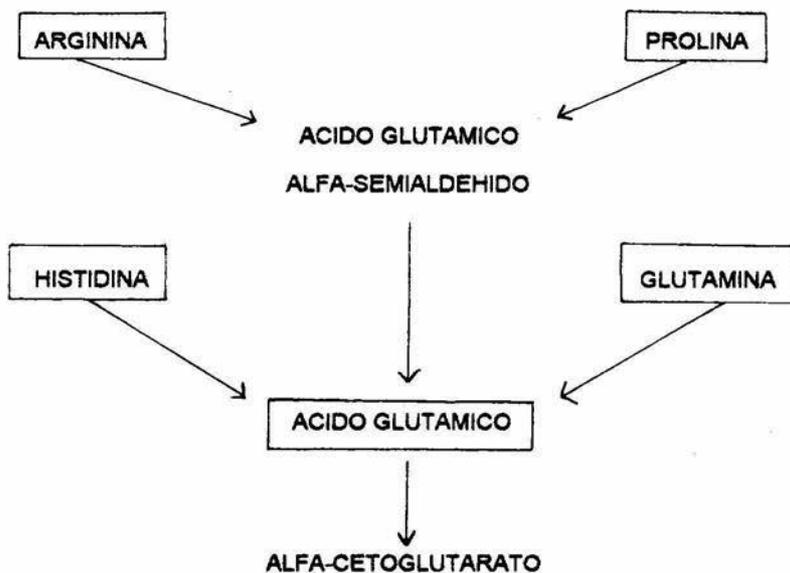


FIG. 2 Rutas que conducen al alfa-cetoglutarato (45).

La ornitina se convierte después en semialdehído del ácido glutámico que es también un intermediario en la oxidación de prolina (fig. No. 3).



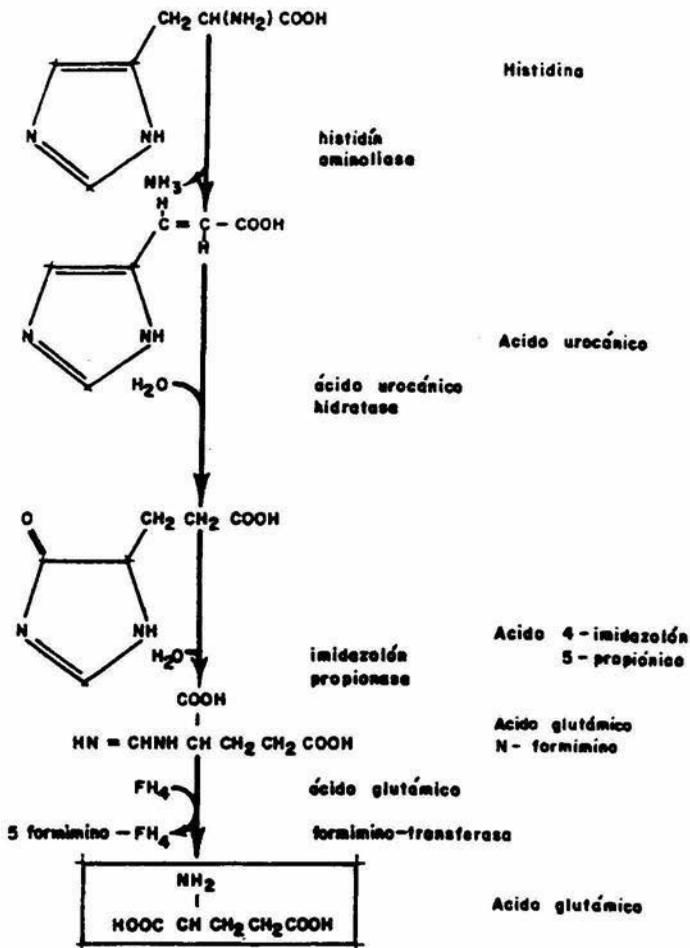
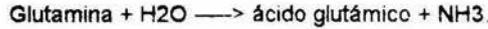


FIG. 4 Ruta principal de conversión de histidina en ácido glutámico, en los mamíferos. El tetrahydrofolato FH4 actúa como aceptor del grupo formimino.(45)

La glutamina se hidroliza a ácido glutámico por acción de la enzima glutaminasa, particularmente en el riñón:



La glutamina se convierte también en ácido glutámico por la glutamato sintasa:



Mediante una tercera ruta la glutamina puede experimentar transaminación con el ácido alfa-cetoglutarático rindiendo ácido alfa-cetoglutarámico, que a su vez, se puede o bien hidrolizar formando alfa-cetoglutarato y amoníaco, o bien se cicliza para formar una lactama, la 2-hidroxi-5-cetoprolina.

La L-prolina después de su deshidrogenación, experimenta la apertura del anillo rindiendo el semialdehído del ácido L-glutámico (fig. 5).

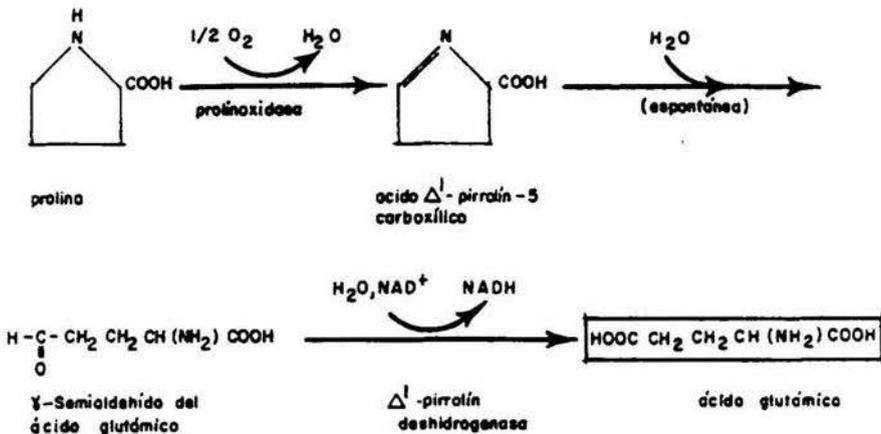


FIG. 5 Catabolismo de la prolina y de la hidroxiprolina. Conversión de prolina en ácido glutámico.(45)

## Ciclo de urea

La mayoría de los vertebrados e invertebrados excretan finalmente cierta fracción de amoníaco formado en una de estas tres formas: urea, amoníaco o ácido úrico.

La formación de urea, que tiene lugar en el hígado de los organismos ureotélicos, es catalizada por el mecanismo cíclico denominado ciclo de la urea.

La ecuación global del ciclo de la urea es:



La formación de una molécula de urea necesita, por todo ello la hidrólisis de cuatro grupos fosfato de elevada energía aportados por el ATP.

A la secuencia del ciclo de la urea se incorporan dos grupos amino, originalmente derivados de los alfa-aminoácidos y una molécula de dióxido de carbono, mediante este proceso cíclico que necesita ATP, se da lugar a la formación de una molécula de urea, compuesto neutro y no tóxico que es transportado por la sangre a los riñones y se excreta en la orina.

El ciclo de la urea consiste en cinco pasos regulados enzimáticamente (fig. 6)

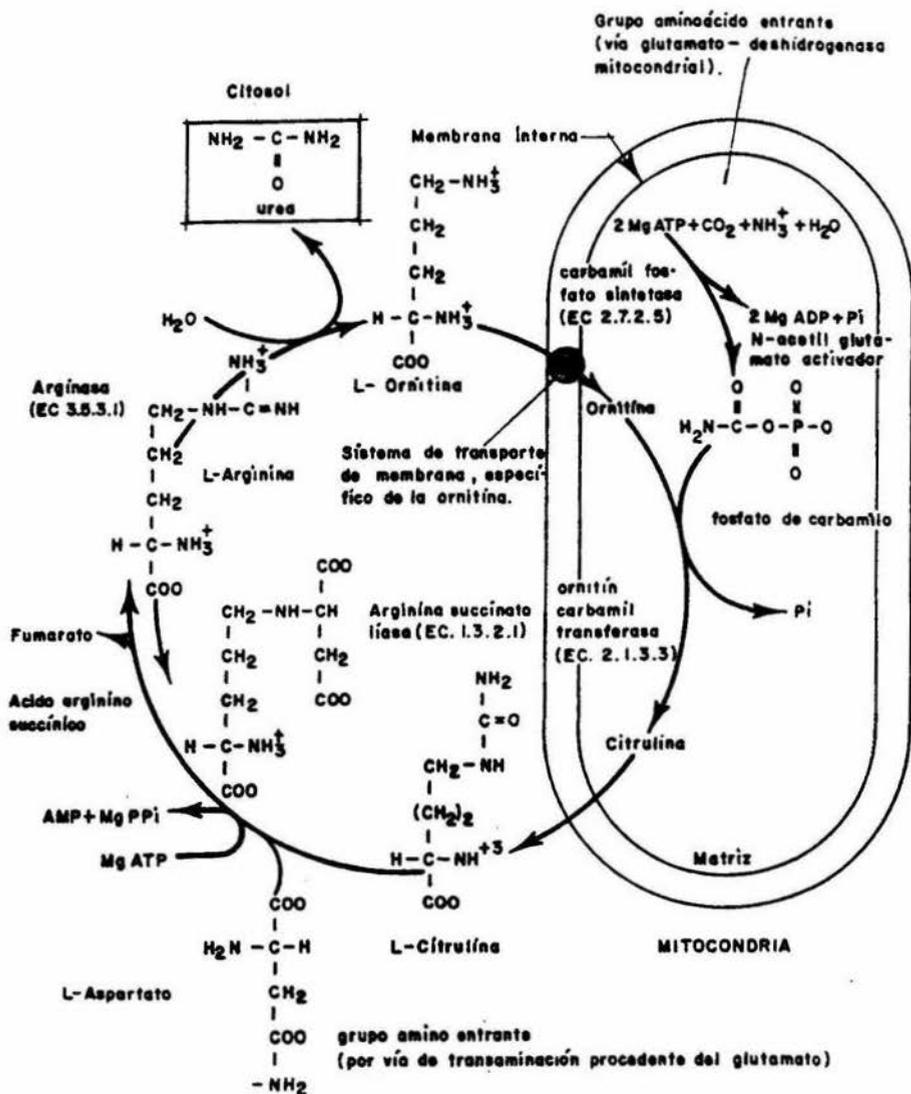
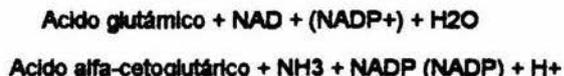
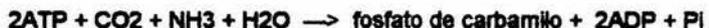


FIG. 6 Ciclo de la urea que muestra las etapas citoplásmicas y mitocondrial (45)

1. El primer grupo de amino que entra en el ciclo de la urea surge en forma de amoníaco libre como consecuencia de la desaminación oxidativa del glutamato en las mitocondrias hepáticas:



El amoníaco libre es utilizado entonces junto con el dióxido de carbono para formar fosfato de carbamilo, en una compleja reacción catalizada por la carbamil fosfato sintetasa (amoníaco), presente en la matriz mitocondrial:

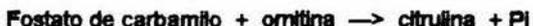


Se necesitan dos moléculas de ATP para formar cada molécula de fosfato de carbamilo que interviene en esta reacción, la cual es esencialmente irreversible. Esta reacción, que se produce al menos en dos etapas, necesita de N-acetilglutamato, un activador alostérico.

La formación de fosfato de carbamilo en las mitocondrias, por esta ruta, está especializada en la síntesis de urea. Sin embargo, en el citosol de algunos tejidos, así como en las bacterias y en los hongos, el fosfato de carbamilo es sintetizado por una reacción diferente, catalizada por otra enzima, la carbamil fosfato sintetasa (glutamina).

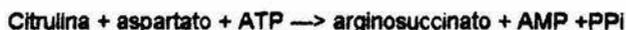
2. El fosfato de carbamilo producido en la mitocondria cede después su grupo carbamilo a la ornitina, que se forma en el citosol pero que penetra en la mitocondria a través de un sistema de transporte específico de la membrana interna.

El producto es la citrulina:



Esta reacción es catalizada por la ornitina carbamil transferasa de la matriz mitocondrial. La citrulina formada abandona después la matriz mitocondrial, pasando al citosol, en el que tienen lugar las restantes reacciones del ciclo de la urea. (fig. 6)

3. El segundo grupo amino necesario para la síntesis de urea llega ahora en forma de aspartato que lo adquirió a su vez del glutamato por acción de la aspartato transaminasa en el citoplasma. El grupo amino del aspartato se condensa reversiblemente con el átomo de carbono carbamílico de la citrulina en presencia del ATP, para formar arginosuccinato, esta reacción es catalizada por la arginosuccinato sintetasa:



El pirofosfato formado en ésta reacción queda hidrolizado por la pirofosfatasa a fosfato inorgánico, impulsando, de éste modo, la reacción global hacia la derecha.

4. En la reacción siguiente, el arginosuccinato experimenta una reacción de eliminación en alfa, por acción de la arginosuccinato liasa para formar arginina libre y fumarato:



5. La arginina formada en ésta reacción se transforma en el precursor inmediato de la urea, mientras que el fumarato retoma al conjunto de intermediarios del ciclo de los ácidos tricarbónicos.

Hasta este punto, la secuencia de reacción es la empleada por todos los organismos capaces de efectuar la biosíntesis de la arginina. Sin embargo, únicamente los animales ureotélicos poseen cantidades elevadas de arginasa, la cual separa la urea de la arginina, reacción que tiene lugar en el citosol:



La arginina se sintetiza de nuevo a partir de la ornitina, por carbamilación de esta última a citrulina, a expensas del fosfato de carbamilo y seguida de la adición de un grupo amino a la citrulina procedente del ácido aspártico.

Las enzimas que catalizan las reacciones suministradoras de grupos amino al ciclo de la urea, (aspartato transaminasa, glutamato deshidrogenasa, carbamilo fosfato sintetasa y ornitina carbamilo transferasa) se hayan localizadas en las mitocondrias de la célula hepática, proporcionando de este modo una compartimentación muy compleja de las reacciones del catabolismo de aminoácidos y de la síntesis de urea entre el citosol y las mitocondrias. Esta separación parece necesaria para impedir la acumulación de amoníaco libre de la sangre, el cual es sumamente tóxico para los vertebrados ureotélicos, particularmente para el sistema nervioso central.

Se han observado deficiencias genéticas de cada una de las diversas enzimas del ciclo de la urea en el ser humano.

- Interacciones entre el ciclo de la urea y otras vías metabólicas.

La ornitina que se genera en el ciclo de la urea puede seguir varios destinos metabólicos, entre ellos la formación de citrulina y de semialdehído glutámico. Por su importancia destaca también la síntesis de poliaminas que se describe a continuación.

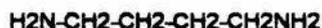
### Biosíntesis de poliaminas.

Las poliaminas putrescina, espermidina y espermina están ampliamente distribuidas en los sistemas vivos, aunque las concentraciones relativas de estos aminos varían notablemente en células diferentes.

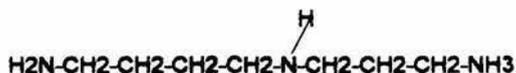
La función biológica de estas moléculas ha sido estudiada en microorganismos, en células animales y vegetales.

En general, los procariontes tienen concentraciones más altas de putrescina que de espermidina y carecen de espermina, mientras que los eucariotes tienen bajas concentraciones de putrescina y cantidades altas de espermidina y espermina.

Los poliaminas son de gran importancia, ya que se ha demostrado que éstas son factores de crecimiento y que su presencia es esencial para la regularización de múltiples procesos, entre ellos la división, proliferación y diferenciación celulares.



**PUTRESCINA**



**ESPERMIDINA**



**ESPERMINA**

**FIG. 7 Fórmulas de las poliaminas.(45)**

En los mamíferos, la biosíntesis de poliaminas se lleva a cabo a partir de ornitina, por lo tanto, la ruta que conduce a la formación de putrescina es a través de la enzima ornitina descarboxilasa (ODC). (fig.8)

La ornitina disponible para éstas reacciones proviene del plasma, además de que puede formarse dentro de las células por acción de la arginasa. Por esta razón se ha pensado que la arginasa puede ser una de las enzimas que regulan la etapa inicial en la biosíntesis de poliaminas, además de su participación fisiológica relacionada con el ciclo de la urea, donde ha sido tradicionalmente estudiada.

La inhibición específica de la biosíntesis de poliaminas puede ser un medio para el control de algunos estados patológicos. Por otra parte, la determinación de la concentración de estas aminas en orina y en otros fluidos corporales, constituye, en algunos casos un indicador del estado de salud.(fig. 8)

#### Ciclo del ácido cítrico.

Los componentes del ciclo de la urea de los vertebrados terrestres, como mamíferos y anfibios, están muy relacionados con el ciclo del ácido cítrico (fig. 9).

La síntesis de arginina succinato es un paso muy importante en la interacción del ciclo de la urea con el ciclo del ácido cítrico. La alanina es transaminada para formar piruvato y su grupo amino lo cede el alfa-cetoglutarato, pasando este a glutamato. El piruvato es descarboxilado para entrar al ciclo del ácido cítrico como un fragmento de dos carbonos.

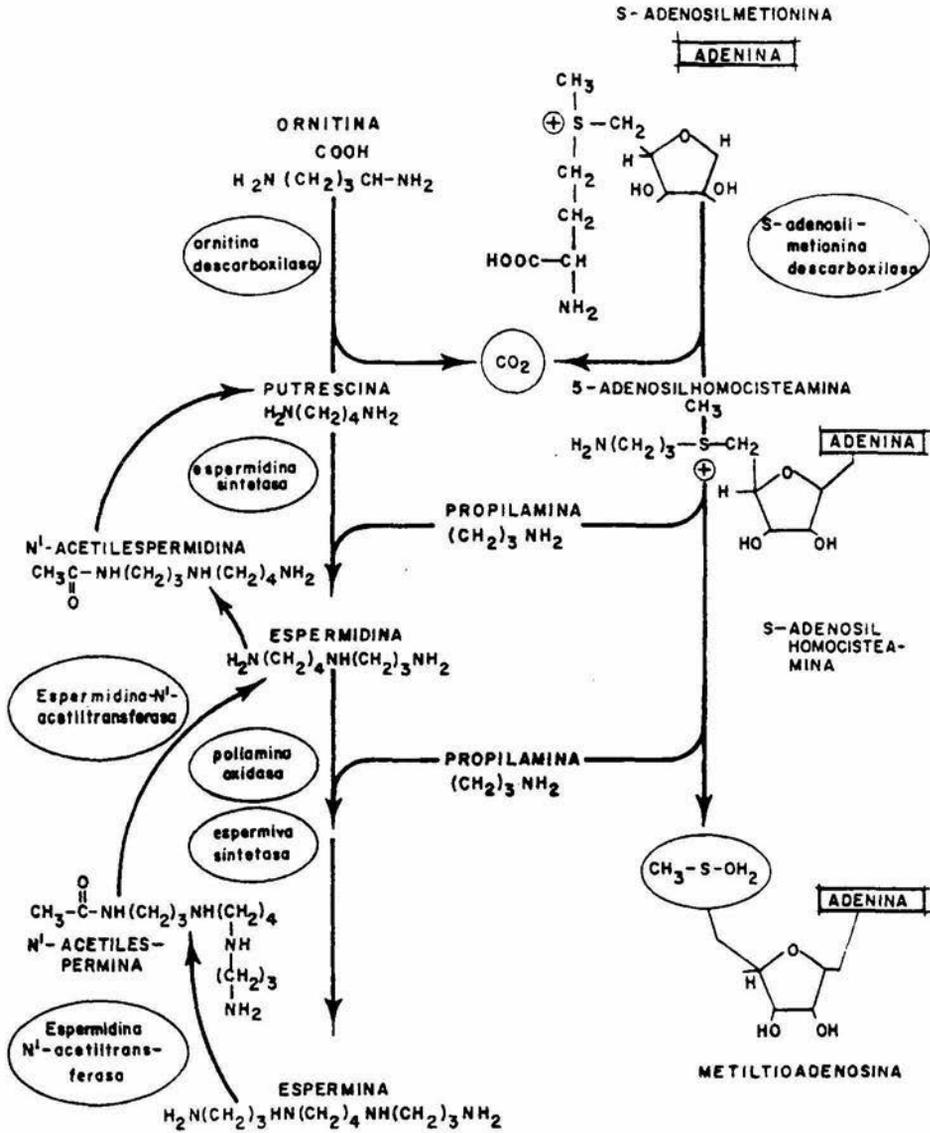


FIG. 8 Biosíntesis de poliaminas. (45)

El glutamato, por una reacción de transaminación con el oxalacetato, forma aspartato y se genera el alfa cetoglutarato. El aspartato así formado, contiene el segundo grupo amino destinado para la síntesis de urea. El fumarato que se obtiene por hidrólisis de arginosuccinato, regresa al ciclo del ácido cítrico y la arginina queda disponible para la síntesis de proteínas en tejidos extrahepáticos o para proseguir con el ciclo de la urea.

Por otra parte, la arginasa efectúa la conversión de arginina en urea y ornitina y así el ciclo se completa. Cuando aumenta la síntesis de poliaminas se ha visto que aumenta la actividad de arginasa y que así se incrementa el suministro de ornitina hacia ornitina descarboxilasa.

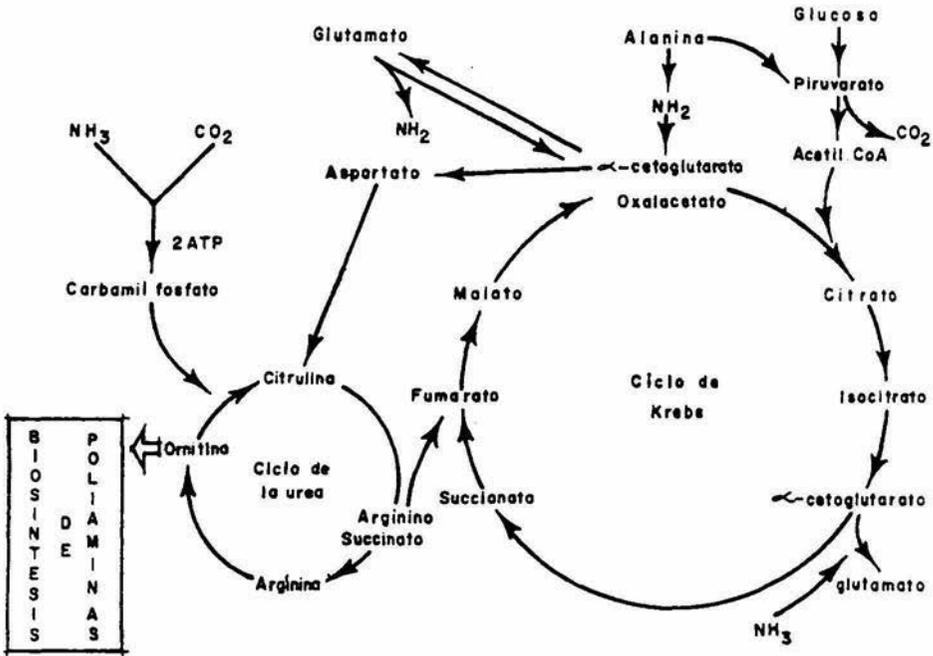


FIG. 9 Ciclo del ácido cítrico y su interacción con otras vías metabólicas.(45)

Los componentes del ciclo de la urea funcionan como una unidad, como lo muestra el hecho de que las cinco enzimas del ciclo se incrementan en el hígado de las ratas sometidas a una dieta alta de proteínas. En estos animales también se incrementan las enzimas relacionadas con el ciclo de la urea, como la alanino amino transferasa y aspartato amino transferasa. Todo esto comprueba que el ciclo de la urea funciona como una vía metabólica.

Los pasos limitantes de este ciclo son la formación de carbamil fosfato y la síntesis de arginosuccinato. A este respecto, se ha visto que la arginosuccinato sintetasa funciona al 60% de su actividad por lo que en este paso debe haber limitación en la disponibilidad de sus sustratos, ya sea aspartato, citrulina o ATP.

A diferencia del hígado, varios tejidos extrahepáticos contienen solamente los últimos tres mecanismos enzimáticos del ciclo de la urea; en el cerebro y músculo, la biosíntesis de urea depende del aporte de citrulina que viene del hígado.

El desarrollo más dramático de la actividad de arginasa se presenta en el hígado, esto ocurre en 2 fases distintas; la prenatal, durante el último período fetal y la postnatal, durante la tercera semana.

La actividad de arginasa en la glándula mamaria aumenta a partir de cero en la glándula virgen a actividades significativas durante la preñez y la lactancia.

Herzefeld y Raper (41) mostraron la distribución de arginasa en 16 tejidos diferentes de rata adulto normal (ratas Kx de 90 días de edad o ratas Kx fetales). A partir de esta distribución, otro tejido (el duodeno) se cuenta entre los órganos que presentan actividades relativamente altas de arginasa, mientras que las actividades en piel, adrenales y timo fueron las más bajas. Más de la mitad de los tejidos muestreados tuvieron actividades de arginasa muy bajas (0.4 - 7.9 unidades/g.). La piel de rata presentó menos de 0.1% de la actividad del hígado.

Harri et al (8), compararon la actividad de arginasa en la mucosa del intestino delgado con la actividad en el hígado de ratas (Wistar) hembras y machos. La actividad de arginasa de varias partes del intestino delgado es casi del 5 al 10% de la actividad en el hígado por 1 gramo de peso de tejido húmedo.

Cuando los dos sexos se comparan, la actividad de arginasa en el hígado de los machos es significativamente más alta que en las hembras en la cepa utilizada (Wistar). Al comparar la mucosa de varias partes del intestino delgado se observa que la mucosa yeyunal es el sitio de mayor actividad de arginasa. La actividad en la mucosa duodenal de ratas macho es significativa ( $2P < 0.05$ ) y en la mucosa ileal de los machos es significativamente mayor que en la de las hembras. Esto demuestra algunas diferencias del sexo en cuanto a la retención intestinal de arginina en la rata.

Debido a la importancia que tiene la utilización de la ornitina en la realización de los procesos básicos de la función celular, consideramos importante estudiar la actividad de la arginasa en el tejido pulpar humano durante el desarrollo y crecimiento de los dientes.

## **P U L P A**

### **FUNCION:**

La pulpa dentaria es de origen mesodérmico y contiene la mayor parte de los elementos celulares y fibrosos encontrados en el tejido conjuntivo laxo.

La función primaria de la pulpa dentaria es la producción de dentina.

La pulpa proporciona nutrición a la dentina, mediante los odontoblastos, utilizando sus prolongaciones. Los elementos nutritivos se encuentran en el líquido tisular.(50)

Los nervios de la pulpa contienen fibras sensitivas y motoras. Las fibras sensitivas, que tienen a su cargo la sensibilidad de la pulpa y la dentina, conducen la sensación de dolor énicamente. Sin embargo, su función principal parece ser la iniciación de reflejos para el control de la circulación en la pulpa. La parte motora del arco reflejo es proporcionada por las fibras viscerales motoras, que terminan en los músculos de los vasos sanguíneos pulpaes.

### **ANATOMIA**

La pulpa dental es el tejido conectivo blando que mantiene a la dentina. Cuando se examina su histología, se pueden distinguir cuatro zonas diferentes: 1) la zona odontoblástica en la periferia pulpar; 2) una zona acelular (la zona de Weil o capa basal de Weil) por debajo de los odontoblastos, la cual es muy visible en la pulpa coronaria; 3) una zona celular, un área de tejido pulpar donde la densidad celular es alta, que se ve fácilmente en la pulpa coronaria adyacente a la zona celular, y 4) el corazón zona central de la pulpa, que se caracteriza por la presencia de los vasos y los nervios de la pulpa.(51)

Las células principales de la pulpa son los odontoblastos, los fibroblastos, las células mesenquimatosas indiferenciadas y los macrófagos.

## ODONTOBLASTOS

La célula más distintiva de la pulpa dental, y por lo tanto la que se reconoce más fácilmente, es el odontoblasto. Estas células forman una sola capa que recubre la periferia de la pulpa y poseen una prolongación que se extiende en la dentina. En la porción coronaria de diente, los odontoblastos a menudo aparecen como una disposición en empalizada, apareciendo como una capa de tres a cinco células. Este es un artefacto ocasionado por el apilamiento de los odontoblastos. Si bien no se han hecho verdaderos recuentos celulares, el número de túbulos dentarios presentes en la superficie pulpodentaria, y por lo tanto el número de odontoblastos, se ha estimado en el rango de 45,000 por milímetro cuadrado en la dentina coronaria, con un menor número en la dentina radicular. Los odontoblastos de la corona son también más grandes que los odontoblastos de la raíz. En la corona, el cuerpo celular del odontoblasto es cilíndrico y mide aproximadamente 35  $\mu\text{m}$  de largo, mientras que en la porción media de las células son más cúbicas y en la zona apical son de aspecto aplanado.

La vida del odontoblasto en cuanto a duración no se conoce, pero es probable que sea la misma del diente. El odontoblasto es una célula terminal, lo que quiere decir que una vez diferenciada no puede dividirse ya más.(51)

## FIBROBLASTOS

Las células que aparecen en mayor número en la pulpa son los fibroblastos. Son especialmente numerosos en la parte coronaria de la pulpa, donde forman la zona celular. La función del fibroblasto en la pulpa es la de formar y mantener la matriz de la pulpa, la cual consta de colágeno y sustancia fundamental. En la pulpa joven, los fibroblastos se hallan sintetizando activamente matriz, y por lo tanto poseen un citoplasma desarrollado que contiene cantidades excesivas de organelas habitualmente asociadas con la síntesis y secreción, y un núcleo abierto con, la edad, la necesidad de la síntesis disminuye y los fibroblastos aparecen

como achatados, adoptando la forma fusiforme con núcleos de cromatina más densa. Recientemente se ha demostrado que los fibroblastos pulpares tienen la capacidad de ingerir y degradar colágeno cuando se les estimula adecuadamente. Se piensa también que estas células pueden tener el potencial de originar nuevos odontoblastos en la periferia de la pulpa cuando sobreviene tal necesidad.

#### **CELULAS MESEQUIMATICAS INDIFERENCIADAS.**

Las células mesenquimáticas indiferenciadas representa el "pool" celular a partir del cual derivan otras células conectivas de la pulpa. Dependiendo del estímulo, estas células pueden originar odontoblastos, fibroblastos o macrófagos. Se hallan en toda el área celular y en la zona central de la pulpa, y se relacionan a menudo con los vasos sanguíneos. Poseen abundante citoplasma y prolongaciones citoplasmáticas periféricas. En pulpas más viejas, el número de células mesenquimáticas indiferenciadas disminuye junto con otras células de la zona central, asociada con otros factores de envejecimiento, resulta en una reducción del potencial regenerativo de la pulpa.(51)

#### **OTRAS CELULAS DE LA PULPA DENTAL.**

Además de las células asociadas con los elementos vasculares y nerviosos, se considera que otros dos tipos de células son residentes normales de la pulpa dental: el macrófago y el linfocito.

El macrófago, que se considera un residente normal de la zona central de la pulpa, muestra una distribución prevascular.

El macrófago activo elimina células muertas y ocasionalmente partículas de la pulpa dental. En la inflamación de la pulpa dental, el macrófago puede remover bacterias e interactuar con otras células inflamatorias.

El linfocito es otra célula de defensa que a veces se ve en el tejido pulpar. Se han encontrado acúmulos focales de estas células en dientes no erupcionados y en dientes que acaban de erupcionar, pero la razón de su presencia en la pulpa no ha sido establecida. Se sabe que en otros tejidos los linfocitos son los precursores de la célula plasmática (o plasmocito) productora de anticuerpos y que participa en la inmunidad celular.

## **SENSIBILIDAD DENTINARIA**

Una de las características más extraordinarias del complejo pulpodentinario es su sensibilidad. Es difícil explicar por qué este complejo debería ser tan sensible, puesto que aparentemente no hay beneficios de tipo evolutivo respecto de la supervivencia de un organismo.

Muchos estímulos son capaces de provocar una respuesta dolorosa cuando se aplican a la dentina, tales como los estímulos térmicos, provocados por aerosoles acuosos; los estímulos mecánicos, ocasionados al tocar la dentina expuesta.

La dentina no es uniformemente sensible. Existe un consenso bien establecido, de que la dentina es sensible a nivel del límite amelodentinario y muy sensible cerca de la pulpa; en general su sensibilidad está aumentada cuando se encuentra localizada sobre una pulpa inflamada.

La sensibilidad aumenta a nivel del límite amelodentinario es explicada por la profusa ramificación de los túbulos en esta región.

Otro mecanismo posible para explicar la sensibilidad dentinaria es considerar que el odontoblasto es una célula receptora. (50)

## CAMBIOS CON LA EDAD

El complejo pulpodentinario, como todos los tejidos corporales, sufre cambios con el tiempo. El cambio más conspicuo es la disminución del volumen de la cámara pulpar y del conducto radicular originado por la continua aposición de dentina. En los dientes viejos, el conducto radicular no es más que un conducto delgado y puede aparecer en ocasiones completamente obliterado. Esta disminución continua de volumen pulpar origina probablemente una reducción en la irrigación de la pulpa, e inicia muchos de los otros cambios relacionados con la edad hallados en este tejido.

Desde los 20 años aproximadamente, las células disminuyen gradualmente su número hasta alrededor de los 70 años, cuando la densidad celular se ha reducido a casi la mitad. Antes se creía que el contenido de colágeno de la pulpa aumentaba con la edad. Investigaciones recientes han demostrado, que después del período de erupción dentaria y formación de la raíz, en el que hay una ligera reducción en la síntesis del colágeno de la pulpa, no hay cambios significativos en el contenido de colágeno de la pulpa asociados con la edad.

Uno de los cambios reales que se dan con la edad es la presencia de zonas irregulares de calcificación *distrófica*, especialmente en las zonas centrales de la pulpa. Si tales zonas llegan a tener cierto tamaño, se las conoce como nódulos pulpares falsos.

## RESPUESTAS A ESTIMULOS AMBIENTALES

Muchos de los cambios que ocurren con la edad en el complejo pulpodentinario lo hacen más resistente a los daños provenientes del ambiente. Por ejemplo, el avance de las caries es retardada por la oclusión de los túbulos. Los cambios de la edad pueden también ser acelerados en respuesta a estímulos ambientales tales como caries o atrición del esmalte.

Sin embargo, los cambios con la edad también disminuyen la capacidad del complejo pulpodentinario de autorrepararse. El daño ha sido definido como una interferencia del estímulo con el metabolismo celular. Si hay daño pulpar, la edad de la pulpa determina en grado importante su capacidad de reparar los daños. Debido a que el metabolismo celular es alto en la pulpa joven, sus células son proclives al daño; el cual se manifiesta como una función celular alterada; sin embargo, la recuperación ocurre rápidamente. Un ejemplo, es el daño fisiológico que se origina en los cambios que ocurren en el nacimiento. Los odontoblastos están dañados y responden formando por breve tiempo, dentina alterada. Si el daño es tal que el odontoblasto se destruye, existe la posibilidad de que en las pulpas jóvenes se diferencien en nuevos odontoblastos a partir de sus células mesenquimáticas indiferenciadas y de que se forma dentina de reparación. Este potencial se reduce mucho con la edad.(50)

## **OBJETIVO**

**Determinar la actividad de arginasa en el tejido pulpar en diferentes estadios del desarrollo dentario humano y correlacionar esta actividad con la concentración de proteínas, peso húmedo y el contenido de materia orgánica.**

## **METODOLOGIA**

Se utilizó la pulpa de dientes humanos con las siguientes características:

- 1) Dientes deciduos sanos. (n=5)
- 2) Dientes sanos con dos terceras partes de la raíz formada. (n=5)
- 3) Dientes sanos con la raíz totalmente formada. (n=13)

Las pulpas se extrajeron rompiendo la pieza dental, cuidando de dejar expuestas las pulpas sin dañarlas, y fueron homogenizadas en una proporción de 1.5 ml de Cloruro de sodio a 0.9% por cada 50 mg de tejido pulpar en el homogenizador con motor Talboys Engineering Corp. Mod. 106 y se separaron en alícuotas de 100  $\mu$ l, conservándose en congelación hasta que fueron procesadas.

A los homogenizados obtenidos y previamente identificados se les aplicaron las siguientes técnicas bioquímicas:

### **MEDICION DE ACTIVIDAD DE ARGINASA**

La actividad de arginasa se determinó a través del contenido de urea utilizando el método modificado propuesto por Geyer y Dabich (34).

### **DETERMINACION DE MATERIA ORGANICA**

Se empleó el método colorimétrico de Bernal y Col. para determinar la cantidad de materia orgánica. (47)

## **DETERMINACION DE PROTEINAS**

La concentración de proteínas se determinó por el método de Lowry. (48,49)

## **ANALISIS ESTADISTICO**

Se compararon los resultados obtenidos de la actividad de arginasa y de los otros parámetros bioquímicos por medio del Análisis de Varianza de un factor, así como la prueba de comparación múltiple de medias (prueba de Tukey). (52)

Para relacionar los parámetros estudiados, se utilizó el Análisis de Correlación.

## **RESULTADOS.**

En la tabla 1 se muestran los promedios y las desviaciones estándar de las diferentes determinaciones realizadas en el tejido pulpar.

En la figura 1 se presenta el peso húmedo de la pulpa de los diferentes tipos de dientes utilizados en este estudio. Después de realizado el Análisis de Varianza, no se encontraron diferencias significativas en la determinación de éste parámetro. ( $p > 0.05$ ).

La figura 2 representa el peso seco, que en otras palabras expresa el contenido de materia orgánica total, que fue mayor en la pulpa de los dientes con la raíz totalmente formada ( $p < 0.05$ ). Las figuras 3 y 4 muestran las concentraciones de proteínas y la actividad de arginasa respectivamente determinadas en la pulpa dental. La arginasa presentó mayor actividad en la pulpa de dientes que tienen la raíz en formación ( $p < 0.05$ ). En la figura 5 se grafica la variación del peso seco en función del peso húmedo del tejido pulpar, mientras que en la figura 6 se expresa la relación del peso húmedo con respecto a la edad. La figura 7 representa los cambios en la actividad de arginasa dependiente de la edad y la concentración de proteínas con respecto a la edad se presenta en la figura 8.

**PROMEDIOS  $\pm$  SD DE LOS VALORES ENTRE DIFERENTES PARAMETROS  
MEDIDOS EN PULPA DENTAL HUMANA.**

PARAMETROS DETERMINADOS	TIPO DE DIENTE		
	TEMPORALES (n=5)	RAIZ EN FORMACION (n=5)	RAIZ TOTALMENTE FORMADA (n=13)
PESO HUMEDO (mg)	0.9725 $\pm$ 0.2712	1.2164 $\pm$ 0.4990	1.03020 $\pm$ 0.2503
$\mu$ g PESO SECO/mg PESO HUMEDO	2.4875 $\pm$ 0.1399	2.0358 $\pm$ 0.1187	2.5711 $\pm$ 0.1764
$\mu$ g PROTEINAS/mg PESO HUMEDO	1.7729 $\pm$ 0.1451	1.6853 $\pm$ 0.1745	1.8440 $\pm$ 0.1065
ARGINASA ( $\mu$ g UREA/mg PROT/min)	0.1261 $\pm$ 0.1092	1.0394 $\pm$ 0.0638	0.4489 $\pm$ 0.2130

Tabla I. Valores promedio entre los diferentes parámetros determinados en cada tipo de diente.

PESO HUMEDO DE LA PULPA DE DIENTES HUMANOS EN DIF. FASES DE DESARROLLO

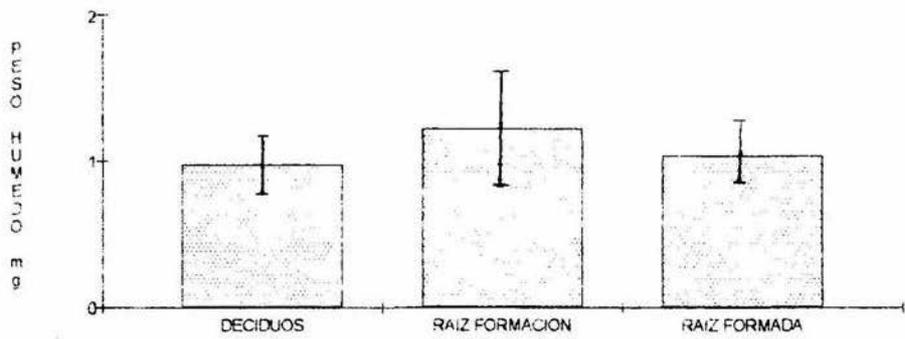


FIG.1

PESO SECO DE LA PULPA DE DIENTES HUMANOS EN DIF. FASES DE DESARROLLO

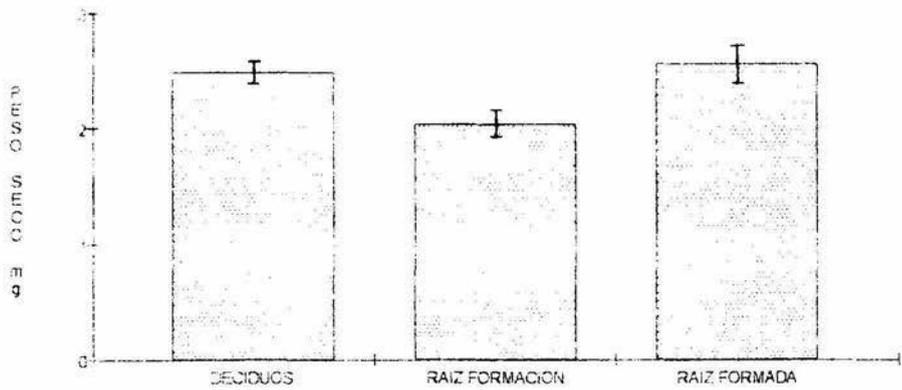


FIG.2

PROTEINAS DE LA PULPA DE DIENTES HUMANOS EN DIF. FASES DE DESARROLLO

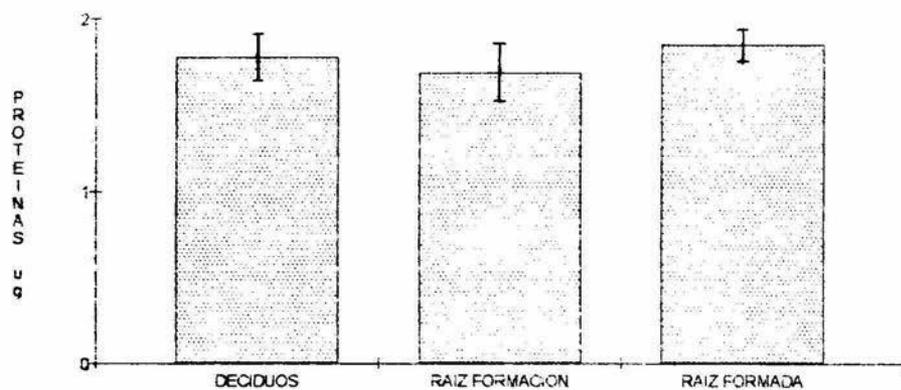


FIG.3

ARGINASA DE LA PULPA DE DIENTES HUMANOS EN DIF FASES DE DESARROLLO

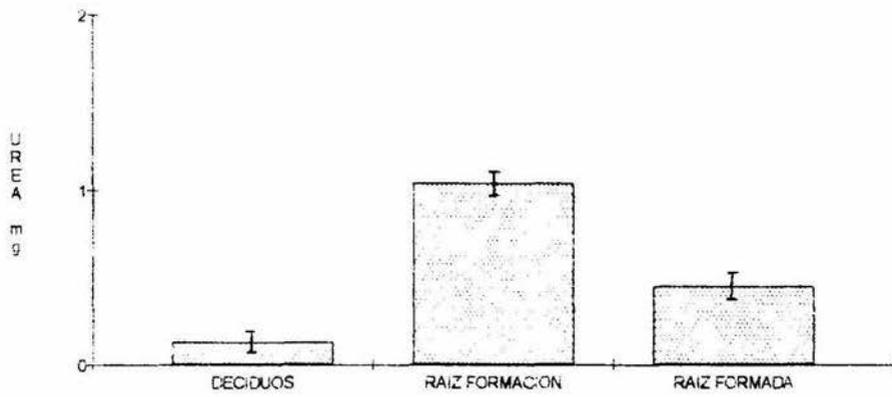


FIG.4

MATERIA ORGANICA (ug peso seco /mg peso humedo ).

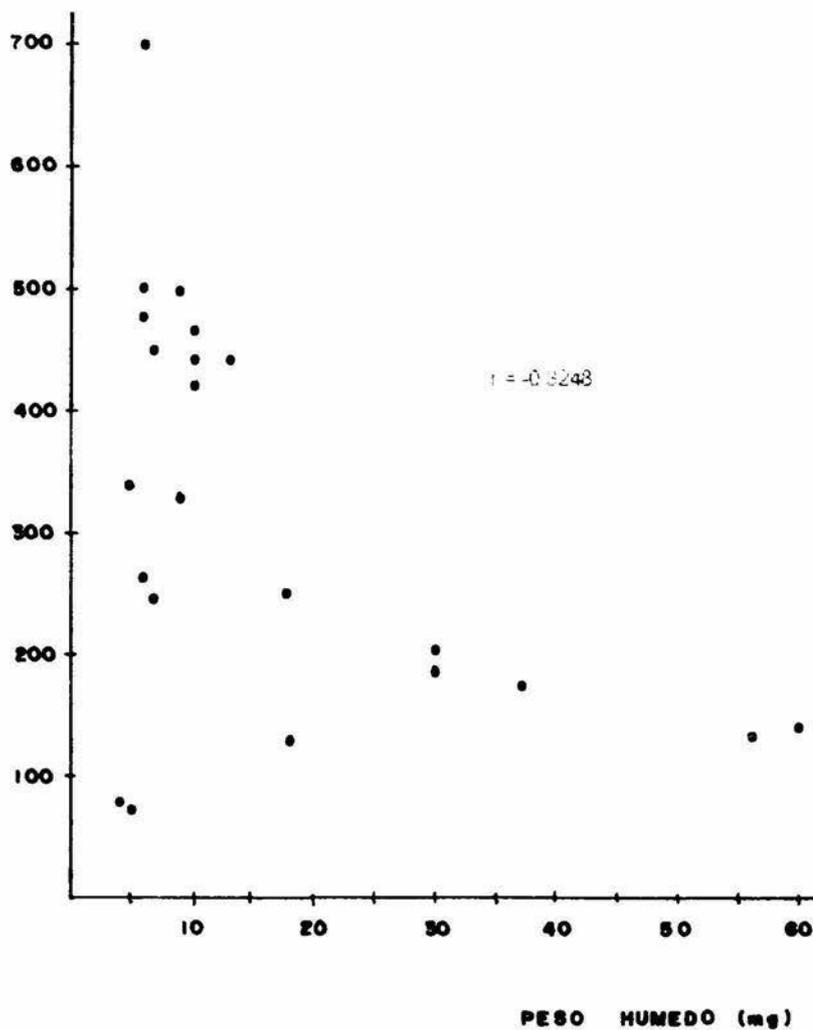


FIG. 5 VARIACION DEL PESO SECO, EN FUNCION DEL PESO HUMEDO

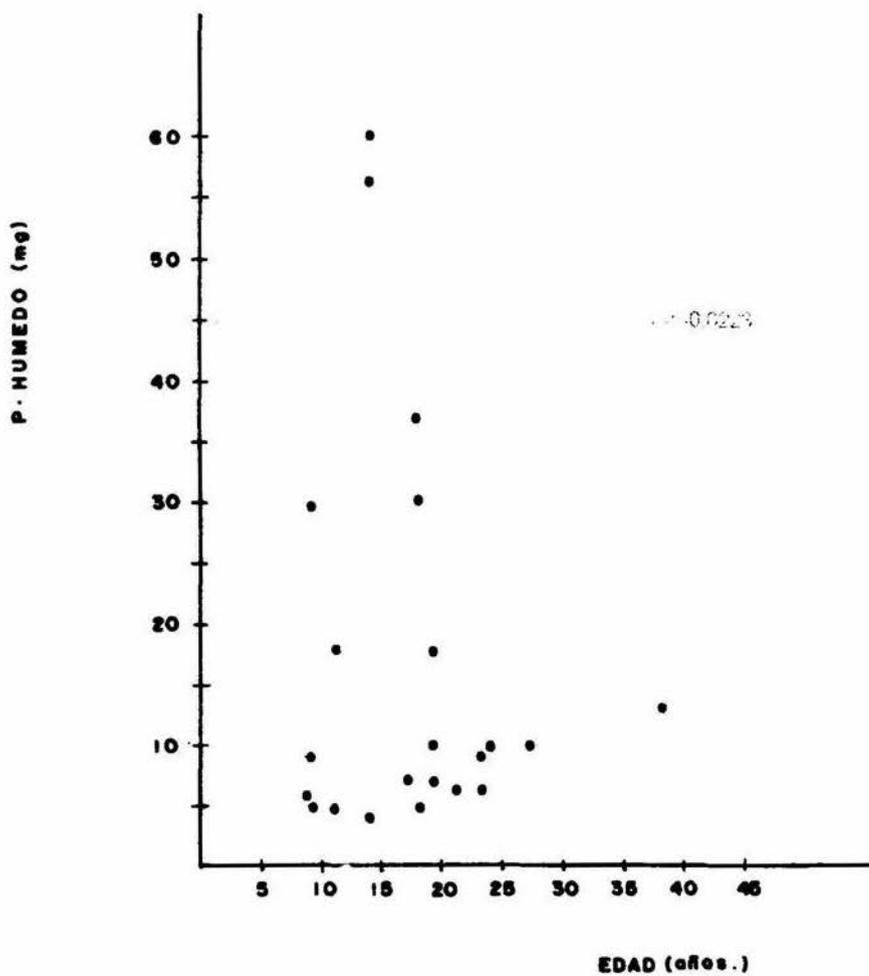


FIG. 6 RELACION DEL PESO HUMEDO, CON RESPECTO A LA EDAD

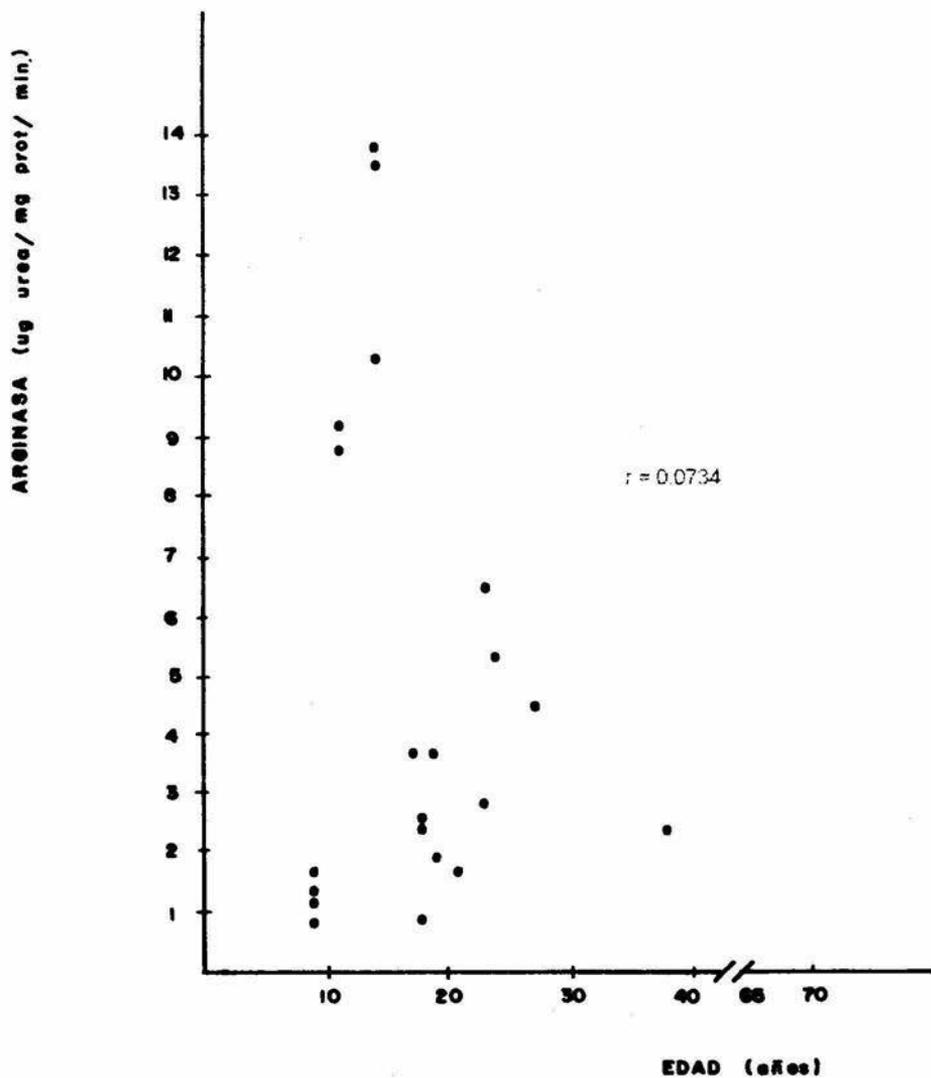


FIG. 7 CAMBIOS EN LA ACTIVIDAD DE LA ARGINASA, CON RESPECTO A LA EDAD

PROTEINAS (mg prot / mg tejido)

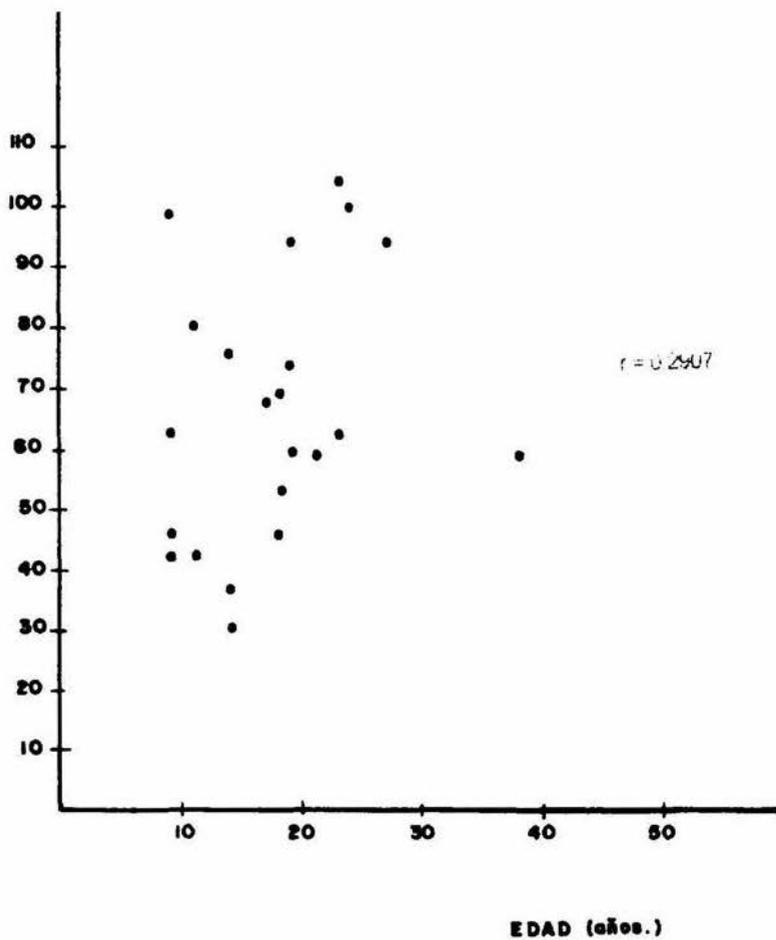


FIG. 8 CONCENTRACION DE PROTEINAS, EN FUNCION DE LA EDAD

	ESMALTE		DENTINA
	En desarrollo (vol. %)	Maduro (vol. %)	(peso %)
Inorgánico	16	88	72
Orgánico	20	0.3	20
Agua	64	11.7	Restante
Principal componente orgánico	Amelogenina y esmalteína	Proteína insoluble	Colágeno
Componente inorgánico	Fosfato de calcio de apatita		Fosfato de calcio de apatita

Tabla II. Principales componentes de los tejidos duros. (53)

## **DISCUSION.**

Nosotros encontramos que la actividad de la arginasa es más elevada en la pulpa de dientes en formación, lo que sugiere una actividad metabólica intensa. El aumento de la actividad de arginasa coincide con los datos reportados para otros tejidos durante la formación dentaria, tal como ocurre con los tejidos mineralizados principalmente relacionados con el contenido de agua, que es mayor en la pulpa de dientes que tienen la raíz en proceso de formación concomitante a una menor cantidad de materia orgánica. Estas diferencias deben verse en la tabla I I donde se aprecia, que tanto la dentina como el esmalte tienen un mayor contenido de agua, que es del 64% en dientes en formación y 11.7% para los que están completamente formados en donde los cambios en la concentración de materia orgánica son notables.

La arginasa está directamente relacionada con la biosíntesis de poliaminas (32), cuya función se acompaña de los procesos de síntesis de ácidos nucleicos, proteínas (33) y como consecuencia con los procesos de división, multiplicación y diferenciación celulares (36).

Las poliaminas también se ven relacionadas con la formación de neurotransmisores como el ácido gama aminobutírico (GABA), que se forma a partir de la putrescina con la participación de aminoxidasas y, es bien sabido que la pulpa es un tejido altamente innervado, constituyendo, así, la principal fuente de dolor en la boca.

Investigaciones anteriores reportan que los cambios relacionados con la edad de la pulpa dental, como son la disminución progresiva del volumen pulpar desde la erupción del diente hasta que éste llega a "viejo", la calcificación distrófica y la disminución de células, fibras de colágeno y de la sustancia fundamental, se observan en dientes de individuos mayores de 50 años, que por consiguiente, presentan una disminución considerable en su actividad metabólica.

Aunque los dientes deciduos y los totalmente formados utilizados en éste estudio no pueden considerarse tejidos envejecidos, su actividad de arginasa es menor, comparada con aquellos que están en pleno desarrollo. Sin embargo, esperabamos encontrar una disminución marcada en la actividad de arginasa en aquellos dientes que tienen la raíz totalmente formada, lo que no pudo ser observado, debido a que el rango de las edades de los dientes estudiados no fue lo suficientemente amplio (de 9 a 38 años).

Esto nos abre la posibilidad de continuar el estudio en la pulpa dental, donde, en primera instancia, se cuantifique la actividad de arginasa en la pulpa de dientes totalmente desarrollados, para así poder observar el patrón de comportamiento esperado, así como la medición de otras enzimas, como la ODC (ornitina descarboxilasa) y las poliaminas, que son sintetizadas a partir de ésta enzima, cuyo sustrato (ornitina) es proporcionado por la reacción catalizada por la arginasa sobre la arginina.

## **CONCLUSIONES**

- 1.- En la pulpa dental humana hay actividad de arginasa. La actividad más elevada de ésta enzima corresponde a la pulpa de dientes con la raíz en formación y es menor en dientes temporales o deciduos.
- 2.- De las determinaciones de proteínas, peso húmedo y peso seco, fue éste último el que mostró mayor significancia, particularmente en la pulpa de los dientes totalmente formados..

## ANEXO 1

Tablas de resultados obtenidos en las determinaciones de los diferentes parámetros realizados y su transformación logarítmica.

### DIENTES DECIDUOS

(n=5)

---

EDAD	PESO HUMEDO	(log. peso húmedo)	PESO SECO	(log. peso seco)	PROTEINAS	(log. prot.)	ARGINASA	(log. arginasa)
9	5	0.6989	340	2.5314	98	1.9912	1.71	0.2329
9	9	0.9542	500	2.6989	62.5	1.7958	0.88	-0.0555
9	30	1.4771	190	2.2787	41.8	1.6211	1.72	0.2355
9	6	0.7781	255	2.4065	62.5	1.7958	1.18	0.0718
9	9	0.9542	333	2.5224	45.8	1.6608	1.4	0.1461

---

$\bar{x}=0.9725 \pm 0.2712$      $\bar{x}=2.4875 \pm 0.1399$      $\bar{x}=1.7729 \pm 0.1451$      $\bar{x}=0.1281 \pm 0.1082$

### DIENTES CON LA RAIZ EN FORMACION

(n=5)

EDAD	PESO HUMEDO	(log peso húmedo)	PESO SECO	(log peso seco)	PROTEINAS	(log prof)	ARGINASA	(log arginasa)
11	5	0.6989	75.7	1.8790	80	1.9030	9.17	0.9623
11	18	1.2552	133	2.1238	41.66	1.6197	8.80	0.9444
14	4	0.6020	80	1.9030	75.7	1.8790	13.8	1.1399
14	56	1.7481	134	2.1271	35.8	1.5538	10.33	1.0141
14	60	1.7781	140	2.1461	29.6	1.4712	13.7	1.1367

$\bar{x}=1.2164 \pm 0.4990$

$\bar{x}=2.0358 \pm 0.1187$

$\bar{x}=1.6853 \pm 0.1745$

$\bar{x}=1.0394 \pm 0.0838$

**DIENTES CON LA RAZ TOTALMENTE FORMADA**

(n=13)

EDAD	PESO	(log peso	PESO	(log peso	PROTEINAS	(log prot.)	ARGINASA	(log. arginasa)
	HUMEDO	húmedo)	SECO	seco)				
17	7	0.8450	247	2.3926	67.2	1.8273	3.73	0.5717
18	6	0.7781	475	2.6766	68.2	1.8369	2.64	0.4216
18	30	1.4771	205	2.3117	45.62	1.6591	2.53	0.4031
18	37	1.5682	174	2.2405	53.24	1.7282	0.96	-0.0177
19	7	0.8450	451	2.6541	59.13	1.7718	3.67	0.5646
19	10	1	421	2.6242	73.30	1.8651	2.0	0.3010
19	18	1.2552	250	2.3979	93.7	1.9717	2.04	0.3086
21	6	0.7781	500	2.6969	59.3	1.7730	1.74	0.2405
23	6	0.7781	700	2.8450	103.0	2.0128	2.88	0.4583
23	9	0.9542	333	2.5224	62.5	1.7958	6.5	0.8129
24	10	1	443	2.6464	99.62	1.9963	5.33	0.7267
27	10	1	466	2.6683	93.9	1.9726	4.52	0.6551
38	13	1.1139	443	2.6464	57.8	1.7619	2.44	0.3873

$\bar{x}=1.0302 \pm 0.2503$

$\bar{x}=2.5711 \pm 0.1764$

$\bar{x}=1.8440 \pm 0.1065$

$\bar{x}=0.4489 \pm 0.2130$

## ANEXO 2

Tablas de resultados obtenidos con el análisis de varianza simple.

### PESO HUMEDO

FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADOS MEDIOS	Fo	0.05 F 2,20
Debida al tratamiento	3-1=2	0.1719	0.0859		
				0.7081	3.49
Debida al error	23-3=20	2.4268	0.1213		
Total	23-1=22	2.5987			

**PESO SECO**

FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	DE CUADRADOS MEDIOS	Fo	0.05 F 2.20
Debida al tratamiento	3-1=2	1.0249	0.5124		
				18.9777	3.49
Debida al tratamiento	23-3=20	0.5405	0.0270		
<b>Total</b>	<b>23-1=22</b>	<b>1.5654</b>			

### PROTEINAS

FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	DE CUADRADOS MEDIOS	F <sub>0</sub>	0.05 F 2,20
Debida al tratamiento	3-1=2	0.0937	0.0468		
				2.4123	3.49
Debida al error	23-3=20	0.3889	0.0194		
Total	23-1=22	0.4826			

**ARGINASA**

FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	DE CUADRADOS MEDIOS	Fo	0.05 F 2,20
Debida al tratamiento	3-1=2	2.1865	1.0932		
				32.0586	3.49
Debida al error	23-3=20	0.6837	0.0341		
Total	23-1=22	2.8702			

**PRUEBA DE TUKEY DE COMPARACION MULTIPLE  
DE MEDIAS PARA ARGINASA**

	GRUPO 1= 0.1261	GRUPO 3= 0.4489	GRUPO 2= 1.0394
X GRUPO 1	—	0.3228	0.9133
X GRUPO 3		—	0.5905
X GRUPO 2			—

$$Q_{0.05, 20, 3} = 3.38$$

ENTRE LOS GRUPOS 1 - 2

$$DMSR = 3.38 \sqrt{\frac{0.0341}{2} \frac{(1+1)}{5 \cdot 5}}$$

$$DMSR = 3.38 \sqrt{0.0068} = 0.2248$$

ENTRE LOS GRUPOS 1 - 3 Y 2 - 3

$$DMSR = 3.38 \sqrt{\frac{0.0341}{2} \frac{(1+1)}{5 \cdot 13}}$$

$$DMSR = 3.38 \sqrt{0.0047} = 0.2047$$

**PRUEBA DE TUKEY DE COMPARACION MULTIPLE  
DE MEDIAS PARA PESO SECO**

GRUPO 2 = 2.0358    GRUPO 1 = 2.4875    GRUPO 3 = 2.5711

X GRUPO 2	_____	0.4517	0.5353
X GRUPO 1		_____	0.0836
X GRUPO 3			_____

$$\begin{array}{l} 0.05 \\ Q = 3.38 \\ 20,3 \end{array}$$

ENTRE LOS GRUPOS 1 - 2

$$DMSR = 3.38 \sqrt{\frac{0.0270 (1 + 1)}{2 \cdot 5 \cdot 5}}$$

$$DMSR = 3.38 \sqrt{0.0054} = 0.2133$$

ENTRE LOS GRUPOS 1 - 3 Y 2 - 3

$$DMSR = 3.38 \sqrt{\frac{0.0270 (1 + 1)}{2 \cdot 5 \cdot 13}}$$

$$DMSR = 3.38 \sqrt{0.0037} = 0.1907$$

## **BIBLIOGRAFIA**

1. Milner, J.A.: Metabolic aberrations associated with arginine deficiency. *J. Nutr.*, 115 (4): 516-523, 1985.
2. Musil, J., Nováková, O., Kuna, K.: *Biochemistry in Schematic perspective avicinum*. Czechoslovak Medical Press. Prague, 1997.
3. Méndez, J.D.: Polyamine and human reproduction en: *The Physiology of polyamines*. Vol. I. Bachrach, U. and Hermer. (Eds). C.R.C. Press Inc. Florida. USA. 1989. pp 24-38
4. Spector, E. B., Rice, S.C.H., Moedjono, S., Bernard, B. and Cederbaum, S. D.: Biochemical properties of arginase in human adult and fetal tissues. *Biochem. Med.* 28, 156-175, 1982.
5. Ruegg, U. and Russell, A.: A rapid and sensitive assay for arginase. *Anal. Biochem.*, 102:206-212. 1980.
6. Kaysen, G.A. and Strecker, H. J.: Purification and properties of arginase of rat Kidney. *Biochem. J.*, 133:779-778, 1973.
7. Grazi, E., Magn. E.: Molecular characteristics of chicken liver arginase. *Biochem. J.* 126:667-674, 1972.
8. Harri, M. and Hartiala, K.: Arginase activity in rat small intestinal mucosa. *Acta. Physiol. Scand.*, 89:126-128, 1973.

9. Konarska, L. Tomaszewki, L.: Studies on L-arginase of the small intestine. 1. Topographical distribution and some properties of the small intestine L-arginase in the rat. *Biochem. Med.* 14:250-262, 1975.
10. Stewart, J. and Caron, H.: Arginase of mouse brain and liver. *J. Neurochem.* 29:657-663, 1977.
11. Matsuzaki, S., Suzuki, M. and Hamana, K.: A possible role of arginase in the regulation of polyamine biosynthesis in the rat thyroid. *Acta. Endocrinol (Copenh)*, 98(1):57-61, 1981.
12. Pohjanpelto, P. and Holtta, E.: Arginase activity of different cells in tissue culture. *Biochimica et Biophysica Acta.* 757:191-195, 1983.
13. Verma, A. and Boutwell, B.: Characterization of arginase activity from mouse epidermis and its relation to ornithine decarboxylase induction by tumor-promoting agent, 12-O-tetra-decanoylphorbol-12-acetate. *Biochim. Biophys. Acta.*, 677:184-189, 1981.
14. Kochakian, C.D., Endahl, B.R. and Hall, D.H.: Arginase activity of the salivary glands and its regulation by androgens. *Med. Reserch* 89:289-291, 1955.
15. Greengard, O., Sahib, B.R. and Knox, E.W.: Developmental formation and distribution of arginase in rat tissues. *Arch Biochem an Biop.* 137:477-482, 1970.
16. Terheggen, H.G., Schwenk, A., Lowenthal, A., Van Sande, M. and Colombo, J. P.: Arginemia with arginase deficiency. *Lancet* 2:748-749, 1969.

17. Baldwin, R.L. and Milligan, L.P.: Enzymatic changes associated with the initiation and maintenance of lactation in the rat. *J. Biol. Chem.*; 241:2058-2065, 1966.
18. Folley, S. J. and Greenbaum, A.L.: Changes in the arginase and alkaline phosphatase contents of the mammary gland and liver of the rat during pregnancy, lactation and mammary involution. *Biochem. J.* 41:261-268, 1947.
19. Konarska, L. and Tomaszewski, L.: A simple quantitative micromethod of arginase assay in blood spots dried on filter paper. *Clínica Chimica Acta*, 154:7-18, 1986.
20. Pace, C. and Landers, R.: Arginase Inhibition. *Biochem. Biophys. Acta.* 658(2): 410-412, 1981.
21. Beruter, J., Colombo, J. and Bachmann, C.: Purification and properties of arginase from human liver and erythrocytes. *Biochem. J.*, 175:449-454, 1978.
22. Oka, T. and Perry, J.: Arginase effects lactogenesis through its influence on the biosynthesis of spermidine. *Nature*, 250:660-661, 1971.
23. Rodríguez, C. A., Nuñez, C. J.: La enzima arginasa: Bioquímica general, metabolismo, interés de la determinación sérica en patología hepática. *Revista Clínica Española*. 213-219, 1971.
24. Freeman, James, J. and Williams, M.: Estrogenic induction of uterine arginase activity. *Horm. Metab. Res.* 3:352, 1971.

25. Cederbaum, S. D., Shaw, K. N. F. and Valente, M. D.: Hiperarginemia. *J. Pediatrics*, **90**:569-573, 1977.
26. Remesar, X., Arola, Ll., Palou, A. and Alemany, M.: Arginase activity during pregnancy and lactation. *Horm. Metab. Res.*, **16**:468-470, 1984.
27. Jakway, J. and Morris, H.: Serum factors required for arginase induction in macrophages. *Cellular Immunol.*, **54**:253-263, 1980.
28. Reddy, S. R. R. and Campbell, J. W.: Arginine metabolism in insects. *Biochem. J.*, **115**:495-502, 1969.
29. Van Elsen, A. and Leroy, G.: Arginasa isoenzymes in human diploid fibroblast. *J. Biol. Chem.*, **62**(2):191-198, 1975.
30. Baranczyk-Kuzma, A., Skrzypel-Osiecka, I., and Porembaska, Z.: Arginasa from human blood serum. *Biochem. Med.*, **26**:174-184, 1981.
31. Herzfeld, A. and Raper, S.: The heterogeneity of arginase in rat tissues. *Biochem. J.*, **153**:469-478, 1976.
32. Glass, R. and Knox, E.: Arginase isozymes of rat mammary gland, liver and other tissues. *J. Biol. Chem.*, **248**:5785-5789, 1983.
33. King, J., Brooks, S. and Jackway, J.: Suppression of "in vitro" cytotoxic response by macrophages due to induced arginase. *J. Exp. Med.*, **149**:665-672, 1977.

34. Geyer, J. and Dabich, D: Rapid method for determination of arginase activity in tissue homogenates. *Anal. Biochem.*, 39:412-417, 1971.
35. Davis, R. and Paulus, T: Uses of arginasless cell in the study of polyamine metabolism. (*Neurospora crassa*). *Methods. Enzimol.*, 94:112-116, 1983.
36. Hicks, J. J., Díaz Zagaya, J. C.: *Bioquímica e Inmunología*. Tomo I, 1era edición, 687-688,280, 1988.
37. Spector, E. B., Rice, S. C., Kern, R. M., Hendrikson, R. and Cederbaum, S. D.: Comparison of arginase activity in red blood cells of lower mammals, primates, and man: evolution to high activity in primates. *Am. J. Hum. Genet.*, 37(6):1138-1145, 1985.
38. Bernar, J., Hansen, R. A., Phoenix, P. M. S., Shaw, N. F. and Cederbaum, S. D. : Arginase deficiency in a 12 year old boy with impairment of intellectual function. *J. Pediatr.*, 108(3):432-435, 1986.
39. Kanales, J. J., Spector, E. B. and Cederbaum, S. D.: Hollow-fiber reactors containing mammalian arginase: an approach to enzyme replacement therapy. *Biochem. Med.* 27:46-55, 1982.
40. Negoya, M.: Ultramicromethod for determination of human arginase in the presence of urea. *Clin. Chim. Acta.*, 71:413-418, 1976.
41. Schimke, R. T.: Enzymes of arginine metabolism in mammalian cell cultivation. 239:136-144, 1964.

42. Mora, J., Martuscelli, J., Ortiz-Pineda, J. and Soberon, G.: The regulation of urea-byosynthesis enzymes in vertebrates. *Biochem. J.*, 96:28-35, 1965.
43. Redmond, A. F: and Rothberg, S.: Arginase activity and other cellular events associated with epidermal hyperplasia. *J. Cell. Physiol.*, 94:99-104, 1978.
44. Herzfeld, A. and Raper, S.: The heterogeneity of arginase in lactating mamary gland. *Biochem. J.*, 127:893-899, 1972.
45. Lehninger, A. L.: *Biochemistry*. Worth, New York, 1970.
46. Fujimoto, M., Kameji, T. and Kanaya, A.: Purification and properties of rat small intestinal arginase. *J. Biochem.*, 79:441-449,1976.
47. Bernal, A., Méndez, J. D. y Rosado, A: Determinación rápida del peso seco por colorimetría. *Arch. Invest. Med. (Méx.)*, 12:83, 1981.
48. Lowry, O. H., Rosenbrough, N. J., Parr, A. L. and Randall, R. J.: Protein meassurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 193:265-275, 1951.
49. Gary, L. P.: Review of the Folin Phenol protein quantitation method of Lowry, Rosenbrough, Farr and Randall. *Analyt. Biochem.*, 100, 201-220.
50. Harry, S.: *Histología y Embriología Bucales de Orban*. Revisión. La Prensa Médica Mexicana. México, 1981.

51. Ten Cate, A. R.: **Histología Oral. 2a Edición. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires, Argentina, 1986.**

52. Duran, D. A., Cisneros, C. A. E., Fernandez, A. M., Gersenowies, R.J., Meraz, M.S., Vargas, V. A.:**Manual de Técnicas Estadísticas.U.N.A.M., México. 1989.**