



**UNIVERSIDAD DE TALCA
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
DEPARTAMENTO DE REHABILITACIÓN BUCOMAXILOFACIAL,
UNIDAD DE CARIOLOGIA**

**Rol de los Inhibidores de α -amilasa salival como Protectores en Caries – Revisión
Sistemática de la Literatura**

*Role of Salivary α -amylase inhibitors as Protective Agents in Caries - Systematic
Literature Review*

Memoria presentada a la Escuela de Odontología de la Universidad de Talca
como parte de los requisitos científicos exigidos para la obtención del título
de Cirujano Dentista.

ESTUDIANTE: Fernanda Belén Villalobos Chamorro.

PROFESOR GUÍA: Dr. Rodrigo Giacaman Sarah.

PROFESOR CO-GUÍA: Tm. Natalia García Manríquez.

PROFESOR INFORMANTE: Dr. Ramiro Castro.

TALCA - CHILE

2020

CONSTANCIA

La Dirección del Sistema de Bibliotecas a través de su unidad de procesos técnicos certifica que el autor del siguiente trabajo de titulación ha firmado su autorización para la reproducción en forma total o parcial e ilimitada del mismo.



Talca, 2021

INFORMACIONES CIENTÍFICAS DEL PROFESOR GUÍA

Nombre
Rodrigo A. Giacaman Sarah
ORCID
https://orcid.org/0000-0003-3362-5173
Google Scholar
https://scholar.google.com/citations?user=Oa_CitgAAAAJ&hl=es
Correo electrónico
giacaman@utalca.cl

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar quiero agradecer a quienes me acompañaron y cooperaron en todo el proceso de esta memoria Dr. Rodrigo Giacaman y TM. Natalia García, quienes con su motivación e infinitos conocimientos, me guiaron hasta alcanzar esta anhelada meta.

A mi familia, por su esfuerzo y amor en cada una de las etapas de mi vida, y quienes fueron siempre el motor para alcanzar este punto. A mis amigos hermosos y mis queridas maps, quienes me entregaron miles de risas, abrazos e infinito cariño. A mis docentes, compañeros y pacientes quienes depositaron su confianza y me acompañaron paso a paso durante toda mi formación. A mi querido seba, por ser mi compañero en esta aventura y llenar mi camino con los más hermosos recuerdos.

Y a Dios por permitirme emprender este camino que ha llenado desde sus inicios con personas increíbles y hermosas.

ÍNDICE

1. RESUMEN	1
1.1. Palabras clave.....	1
2. ABSTRACT	2
2.1. Keywords	2
3. INTRODUCCIÓN.....	3
4. MÉTODOS	6
4.1. Diseño Experimental.....	6
4.2. Fuentes de Información y Estrategia de búsqueda	6
4.3. Criterios de elegibilidad	8
4.4. Selección de estudios	8
4.5. Extracción de datos	9
4.6. Análisis de riesgo de sesgo de los estudios.....	9
5. RESULTADOS	10
5.1. Estudios seleccionados y excluidos	10
5.2. Análisis cualitativo de los estudios	11
5.3. Análisis de riesgo de sesgo de los estudios.....	13
5.4. Análisis cuantitativo de los estudios	14
6. DISCUSIÓN	15
7. REFERENCIAS	19

ÍNDICE DE FIGURAS Y TABLAS

Figura 1. Hidrólisis del almidón por alfa amilasa.	3
Figura 2. Polifenoles. Clasificación y estructuras químicas.	5
Figura 3. Estrategia de búsqueda. Se indican los términos de búsqueda utilizados para P e I en las diferentes bases de datos. #= indica el número de artículos obtenidos para P e I individualmente, y luego ambos combinados con operador AND.	7
Figura 4. Flujograma Prisma. Flujo que representa la búsqueda sistemática de la literatura entorno a los inhibidores de alfa amilasa salival y su rol en la caries dental	10
Tabla 1. Dominios y categorías de riesgo de sesgo por TooxRTool.	9
Tabla 2. Análisis Cualitativo de los artículos seleccionados.	12
Tabla 3. Análisis de riesgo de sesgo por dominio mediante TooxRTool.	13
Tabla 4. Riesgo de sesgo de cada estudio mediante ToxRTool.	14

1. RESUMEN

La α -amilasa salival (AS) es la enzima que facilita la digestión del almidón con la consecuente generación de ácidos, por lo que podría desempeñar un rol activo en caries. El objetivo de esta revisión fue determinar si la inhibición de AS posee un rol protector en caries. Se revisó la evidencia con criterios PRISMA-P, sobre el efecto de los inhibidores de AS en caries. Se seleccionaron artículos que utilizan inhibidores farmacológicos o naturales de AS y que como resultado reportaran variables relacionadas con caries. La revisión fue efectuada de forma independiente utilizando las bases de datos PubMed, SCOPUS y WOS. Para la búsqueda se emplearon términos MeSH y términos libres, basados en una pregunta estructurada P.I.C.O, encontrándose 188 artículos. Luego de revisados por título y resumen, se seleccionaron 13 para revisión a texto completo y 4 fueron incluidos en la revisión. Los estudios *in vitro* que utilizaron maltitol y acarbosa como inhibidores de la AS sobre *streptococcus* orales, mostraron una baja producción de ácidos. En los estudios *in situ* en humanos, los taninos del té revelaron una reducción de productos finales desde almidón, mientras que las antocianinas provocaron una reducción tanto en los niveles de AS como en los recuentos de *Streptococcus mutans*. La acarbosa como inhibidor, redujo la incidencia de lesiones de caries en ratas con dieta exclusiva de almidón. Los inhibidores de AS parecen reducir la cariogenicidad de almidones, limitando el desarrollo bacteriano, lo que sugiere potenciales aplicaciones nutricionales o tecnológicas con AS para el manejo moderno de caries. Se necesitan más estudios para confirmar estos hallazgos.

1.1. Palabras clave

Saliva, Alfa amilasa, Caries, Inhibición enzimática, Revisión Sistemática.

2. ABSTRACT

Salivary α -amylase (AS) is an enzyme that facilitates the digestion of starch with the consequent generation of acids, potentially playing an active role in caries. The objective of this review was to determine whether AS inhibition has a protective effect on caries. The evidence was reviewed with PRISMA-P criteria, on the effect of AS inhibitors in caries. Articles that use pharmacological or natural inhibitors of AS and that reported caries-related variables, were selected. The review was carried out independently using the PubMed, SCOPUS and WOS databases. For the search, MeSH terms and free terms were used, based on a structured P.I.C.O question, finding 188 articles. After reviewing for title and abstract, 13 were selected for full-text review and 4 were included in the review. In vitro studies using maltitol and acarbose as inhibitors of AS on oral streptococcus showed low acid production. In human in situ studies, tea tannins revealed a reduction in end products from starch, while anthocyanins caused a reduction in both AS levels and *Streptococcus mutans* counts. Acarbose as an inhibitor, reduced the incidence of caries lesions in rats with an exclusive starch diet. Inhibitors of AS appear to reduce the cariogenicity of starches, limiting bacterial growth, which suggests potential nutritional or technological applications with AS for modern caries management. More studies are needed to confirm these findings.

2.1. Keywords

Saliva, Alpha amylase, Caries, Enzyme inhibition, Systematic Review.

3. INTRODUCCIÓN

La saliva es un fluido biológico compuesto por una gran variedad de componentes orgánicos e inorgánicos contenidos entre un 95% a 99% de agua (1). Su importancia ha sido demostrada en numerosos estudios y su rol en la mantención de la homeostasis es fundamental para mantener la salud de la cavidad oral (2)(3)(4). Dentro de sus componentes orgánicos, la enzima α -amilasa salival (AS) destaca por ser la enzima más abundante, alcanzando entre un 40% a un 50% del total de todas las proteínas (5). Es excretada por las glándulas del paladar y las glándulas salivales mayores, siendo producida en una mayor proporción por la glándula parótida (1)(6). El páncreas y la bacterias orales también producen esta enzima, y se estima que un pequeño porcentaje de la AS es representada por ellas.

La AS es clasificada como una hidrolasa (7) debido a su función en la hidrólisis de los enlaces α -1,4-glucosídicos encontrados en el almidón, glucógeno y otros oligosacáridos, generando el inicio de la digestión de los carbohidratos (8). La acción de esta enzima provoca la liberación de azúcares simples en el medio ambiente oral y sistémico, siendo asociada con la enfermedad de caries y con trastornos metabólicos como la obesidad y la diabetes (9)(10).

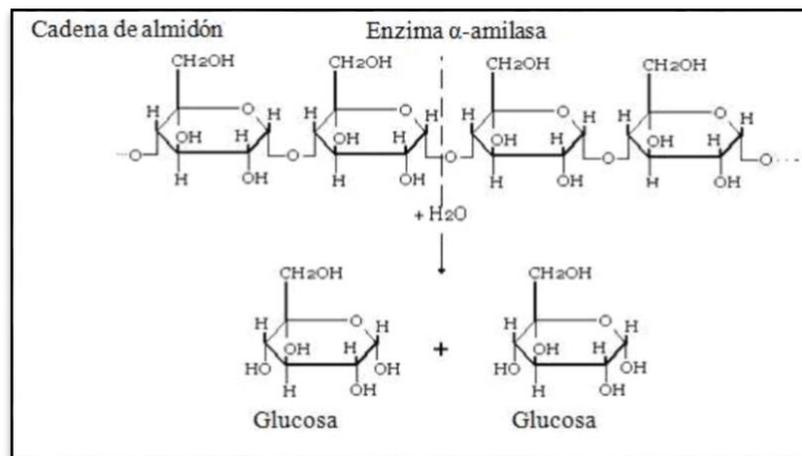


Figura 1. Hidrólisis del almidón por alfa amilasa.

Los azúcares simples liberados son fácilmente metabolizables por bacterias, provocando una disminución del pH oral lo cual puede ocasionar la desmineralización de superficies dentales (11). Por otro lado, la evidencia indica que AS es parte constitutiva de la película adquirida del esmalte, encontrándose en altas cantidades y enzimáticamente activa (12)(13)

entre los 30 a 60 minutos desde el inicio de la formación de la película (14)(15). Su presencia, modula la adhesión y crecimiento bacteriano en las superficies dentales, presentando una alta afinidad por los *Streptococcus* orales (16), observándose la unión de esta enzima con la mayoría de las cepas de *S. sanguinis*, *S. gordonii* y *S. mitis*, y solo algunas cepas de *S. anginosus* y *S. salivarius* (17)(16). *S. mutans* no posee la habilidad para unirse directamente a la AS, sin embargo, diferentes estudios indican que la presencia de esta enzima en la película adquirida en conjunto con partículas retenidas de sacarosa y almidón, direccionan los mecanismos bacterianos a producir un aumento de glucosiltransferasas (18), provocando una mayor colonización del biofilm cariogénico, favoreciendo la disbiosis y una transición desde salud bucal a enfermedad de caries (19).

Los beneficios de inhibir la actividad de la AS utilizando compuestos naturales como farmacológicos, han sido ampliamente estudiados como estrategia para la reducción postprandial de glucosa (20). Dentro de los inhibidores selectivos farmacológicos más utilizados se encuentra la acarbosa, la cual presenta diversos efectos adversos en humanos como distensión abdominal, flatulencia, meteorismo y diarrea (21). Por lo anterior, se han analizado compuestos de origen natural que puedan inhibir la actividad enzimática sin tales efectos (22). Los polifenoles han sido estudiados como potenciales inhibidores naturales, encontrándose en la naturaleza de formas variadas y abundantes, siendo la forma más común de consumo a través del té, frutas y plantas medicinales. La capacidad de inhibición de estos componentes sobre la AS puede ser alterada con las variaciones estructurales de cada polifenol, lo que quiere decir que dentro de esta gran familia, existen compuestos que tienen un efecto inhibitorio mayor que otros (23).

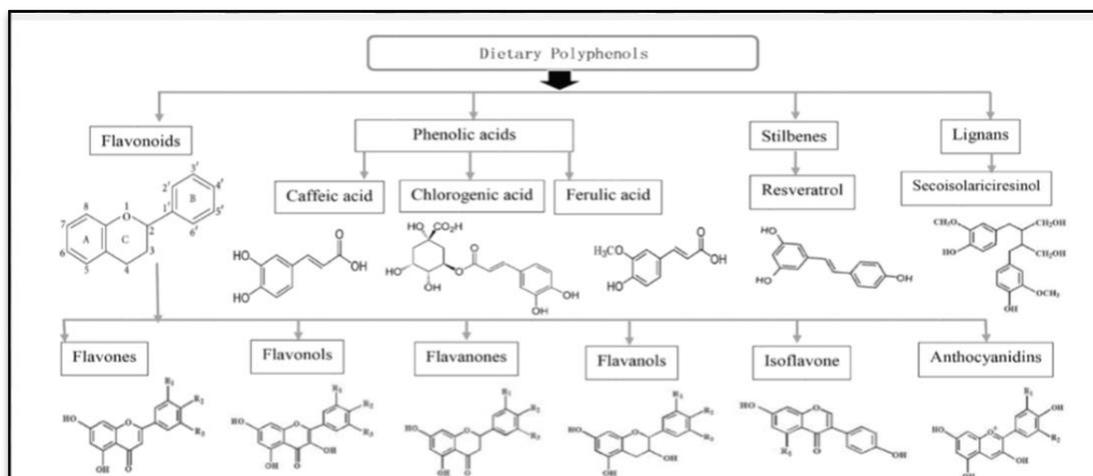


Figura 2. Polifenoles. Clasificación y estructuras químicas.

La asociación de la actividad enzimática de la AS con el desarrollo de lesiones de caries es controversial. Algunos estudios, han descrito un aumento significativo de la actividad de AS en presencia de lesiones activas de caries (24)(25). Además, se encontró una relación directamente proporcional entre los niveles de AS en película y saliva con el índice COPD que expresa la historia de caries, mediante la sumas de dientes con lesión de caries, obturados y perdidos por enfermedad de caries (COPD) (24). En contraste, otro estudio muestra que la actividad de AS presenta una correlación negativa con la pérdida de mineral, mostrando un efecto protector contra la enfermedad caries (26). Estas inconsistencias obligan a revisar la literatura existente a fin de esclarecer el rol de AS en caries.

La función y ubicación de la AS sugiere que su inhibición en la cavidad oral podría ser beneficiosa en la prevención y manejo de caries (9)(18)(19). Sin embargo, son escasos los estudios clínicos en humanos sobre la inhibición enzimática, así como los efectos sobre el desarrollo de lesiones de caries, además de que no existen revisiones sistemáticas que hayan analizado la literatura en busca de una respuesta. Por lo anterior, y para esclarecer la relación entre la inhibición de AS y caries, se desarrolló la presente revisión sistemática de la literatura (RSL), con el objetivo de determinar si la inhibición de la actividad enzimática de esta enzima mediante sustancias de origen natural o sintético generan un rol protector contra la enfermedad de caries.

4. MÉTODOS

4.1. Diseño Experimental

Se llevó a cabo la RSL con el objetivo de recopilar y evaluar estudios tanto *in-vitro* como *in-vivo* que analicen el potencial efecto anticariogénico producido al inhibir la AS. El protocolo de esta revisión se realizó siguiendo los criterios PRISMA-P (27). Se examinó la base de datos Medline vía PubMed, Scopus y Web of Science utilizando términos de búsqueda predefinidos por nuestra pregunta P.I.C.O. Para la ejecución de la búsqueda no se aplicaron restricciones de año ni de idioma. La selección de los artículos y la extracción de datos se realizó en duplicado y de forma independiente por dos investigadoras (FV y NG). Además, se realizó un análisis de riesgo de sesgo para cada estudio.

4.2. Fuentes de Información y Estrategia de búsqueda

La búsqueda inicial en las bases de datos Medline vía PubMed, Scopus y Web of Science, fue basada en los elementos P e I (Figura 3) de la pregunta P.I.C.O. donde P: Población/Pacientes/Problema, I: Intervención, C: Comparación, O: Variable dependiente. Se utilizaron términos MeSH y términos libres, combinados con el operador booleano OR para cada elemento de P e I, obtenidos de palabras claves y de títulos/resúmenes de estudios primarios. Luego, estos términos definidos para P e I fueron combinados entre sí utilizando el operador booleano AND y de esta forma se generó la estrategia de búsqueda sin restricciones por idioma o año. La literatura gris no se incluyó. La búsqueda fue finalizada el 17 de julio de 2020.

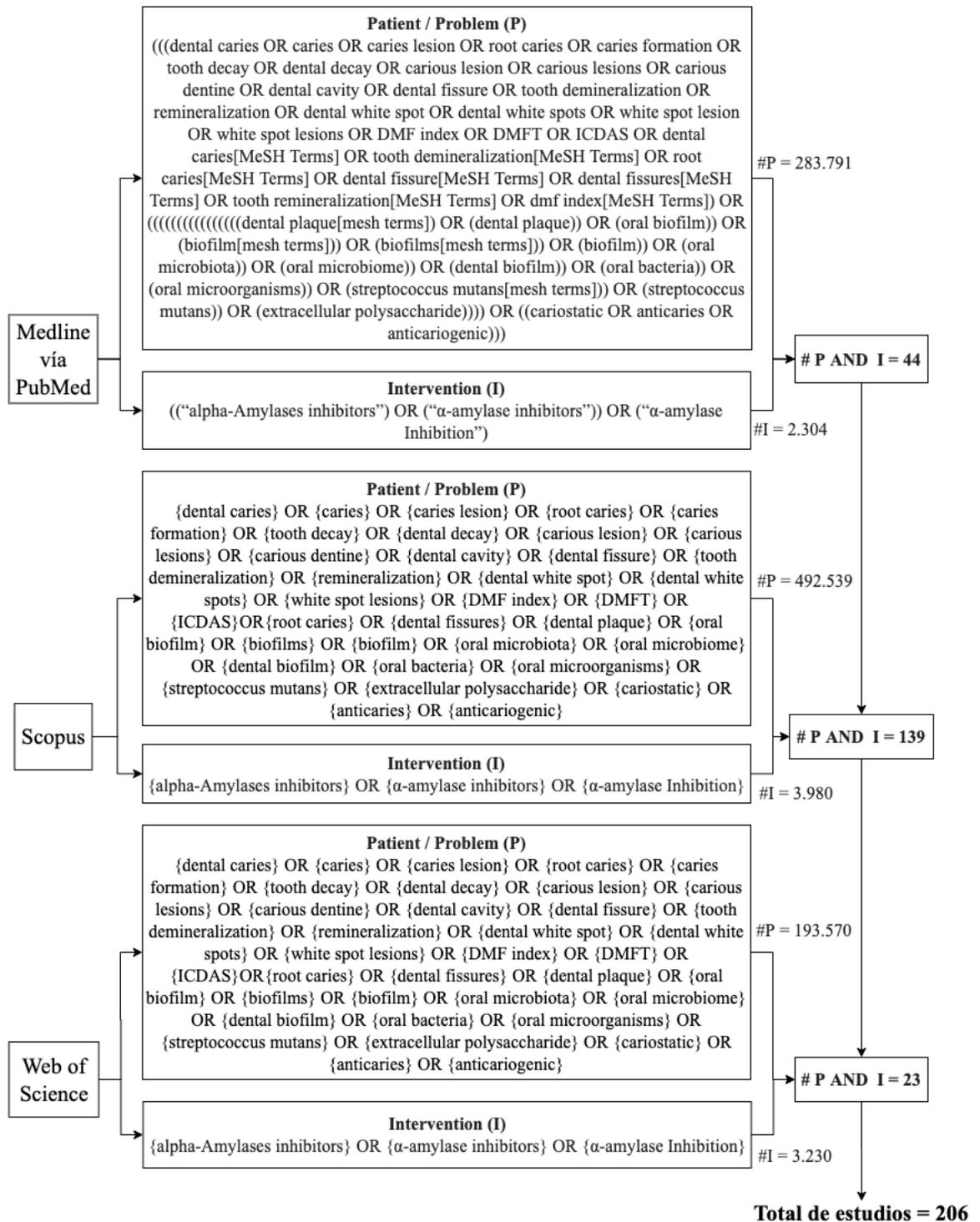


Figura 3. Estrategia de búsqueda. Se indican los términos de búsqueda utilizados para P e I en las diferentes bases de datos. #= indica el número de artículos obtenidos para P e I individualmente, y luego ambos combinados con operador AND.

4.3. Criterios de elegibilidad

Criterios de Inclusión:

- Paciente/Población (P): Estudios *in vitro* e *in vivo* en humanos y animales.
- Intervención (I): La intervención de los estudios corresponde a compuestos de diversa naturaleza (de origen natural o sintéticos) que ejerzan un efecto inhibitor sobre AS.
- Comparación (C): Estudios con grupo control a la intervención.
- Outcome o Variable Dependiente (O): Estudios que evalúen los efectos de los inhibidores de α -amilasa salival sobre los fenómenos de remineralización y desmineralización en los tejidos duros dentarios, sobre la prevalencia o incidencia de caries o sobre variables microbiológicas en bacterias o biofilm dental involucrados en el desarrollo de la caries dental.
- Diseño Experimental (S): Estudios primarios experimentales.

Criterios de Exclusión:

- Estudios sobre saliva o enzimas salivales que no hayan considerado a la α -amilasa salival.
- Estudios que evalúen los efectos de la inhibición de α -amilasa salival a nivel del periodonto.
- Estudios que analicen la inhibición de α -amilasa salival, pero que no la relacionen con variables asociadas a caries dental.

4.4. Selección de estudios

Los estudios obtenidos en las diferentes bases de datos fueron exportados a la plataforma de Rayyan (28), en donde se eliminaron los estudios duplicados. Previo a la selección de los estudios, se realizó la calibración entre las investigadoras de acuerdo a los criterios de elegibilidad, obteniendo un Índice Kappa de 95%. La selección de los estudios se realizó en dos etapas; la primera por título y resumen y la segunda mediante la lectura a texto completo, ambas etapas de manera ciega entre las investigadoras. Todo el proceso de selección fue efectuado de forma independiente y guiado por los criterios PRISMA para las distintas fases de la RSL. Los desacuerdos se resolvieron con la intervención de un tercer revisor (RAG).

4.5. Extracción de datos

La extracción de datos fue realizada de manera independiente y estandarizada entre ambas investigadoras. Los datos necesarios y relevantes para extraer fueron predefinidos, para posteriormente realizar un análisis cualitativo. Los datos predefinidos y recopilados por ambas investigadoras incluyeron:

- Identificación del estudio: Autores, año y país.
- Diseño de estudio.
- Características de los participantes: Cantidad de participantes (N), especie y grupos de estudio.
- Tipo de Inhibidor.
- Variable dependiente y resultados.
- Conclusiones.

4.6. Análisis de riesgo de sesgo de los estudios

Para el análisis de riesgo de sesgo de los estudios seleccionados, se utilizó la herramienta TooxRTool, la cual permite utilizar parámetros de calidad comunes para todos los estudios según su diseño experimental (29). Esta herramienta analiza información indispensable para que un estudio se considere confiable. Contempla 5 dominios (Tabla 1) y considera 21 criterios para estudios *in vivo* y 18 para estudios *in vitro*. La puntuación total establece si el riesgo de sesgo del estudio es bajo, moderado o alto.

Tabla 1. Dominios y categorías de riesgo de sesgo por TooxRTool.

Dominios	Bajo riesgo		Moderado riesgo		Alto riesgo	
	<i>in vivo</i>	<i>in vitro</i>	<i>in vivo</i>	<i>in vitro</i>	<i>in vivo</i>	<i>in vitro</i>
Identificación de sustancia	18-21	15-18	13-17	11-14	<13	<11
Caracterización del sistema de prueba						
Descripción del diseño						
Documentación de resultados						
Posibilidad de repetir diseño o datos						

5. RESULTADOS

5.1. Estudios seleccionados y excluidos

La filtración de los estudios, representado en el flujograma PRISMA (Figura 4) muestra 18 artículos duplicados entre los 206 estudios obtenidos desde las diferentes bases de datos, estos luego de ser eliminados, redujo la cantidad total de estudios a 188. Posteriormente, se realizó la filtración de los estudios por título y resumen, finalmente se seleccionaron 13 para su revisión a texto completo. De acuerdo a los criterios de elegibilidad, se excluyeron 9 artículos (30)(31)(32)(33)(34)(35)(36)(37)(38), las razones de exclusión obedece a que no efectuaban la relación entre los inhibidores de AS y la caries dental. Los 4 estudios incluidos en esta revisión cumplen con todos los criterios de elegibilidad, presentando diseños experimentales *in-vivo* (39)(40) e *in-vitro* (41) uno de ellos, incluyendo ambos diseños (42).

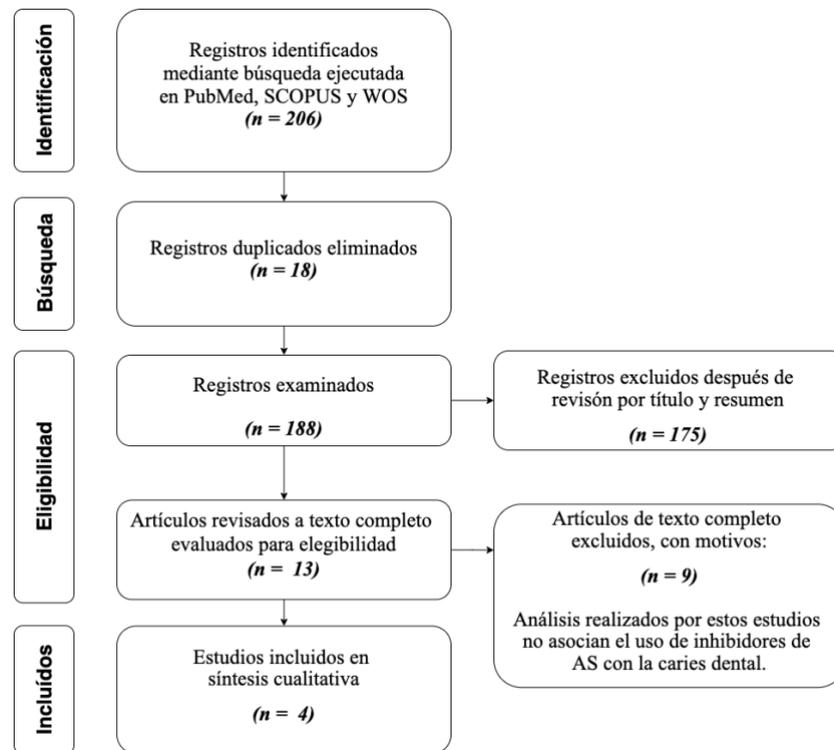


Figura 4. Flujograma Prisma. Flujo que representa la búsqueda sistemática de la literatura entorno a los inhibidores de alfa amilasa salival y su rol en la caries dental

5.2. Análisis cualitativo de los estudios

En la síntesis cualitativa (Tabla 2), es posible observar la extracción de los datos con las principales características de los 4 estudios seleccionados. Observamos como en los estudios con diseño experimental *in-vivo*, dos eligieron como sujeto de observación a humanos (39)(42), mientras que otro utilizó ratas como animal de experimentación (40). En todos ellos, se incluyeron grupos de casos y de controles. En los estudios con diseño *in-vitro*, se utilizaron diferentes cepas de *Streptococcus* orales (42)(41), presentando como cepa en común a *Streptococcus mutans*. La cantidad de participantes varió de 6 a 96 (animales, humanos y cultivos). En los estudios en humanos, los participantes consideraron niños desde los 12 años, hasta adultos, mayores de 30 años. En todos los estudios, se reportó un rol protector en el uso de inhibidores de AS, obteniendo efectos como la disminución en la tasa de producción de ácidos, menor caída de pH, menor cantidad de productos finales desde almidones y una menor incidencia de lesiones dentinarias.

Tabla 2. Análisis Cualitativo de los artículos seleccionados.

Estudio	Diseño	Características de los Participantes	Inhibidor de la alfa amilasa	Variables Dependiente	Resultados	Conclusiones
S. Aizawa, H. Miyasawa-Horib K. Nakajo.	In Vitro	N= 96 Especie: Streptococcus orales: Mutans, Sobrinus, Sanguinis, Mitis. Grupo Estudio: A1)Almidón + Amilasa + Acarbosa. A2)Almidón + Amilasa + Maltitol.	Maltitol Acarbosa	-Caída de pH -Tasa de producción de ácido	A1) – A2) Reducción en la producción de ácidos desde almidón cocido.	Los inhibidores de alfa amilasa son capaces de moderar la cariogenicidad del almidón en humanos.
Judit Homoki. Gyöngyi Gyémánt. Hungría, 2018	Estudio en Humanos	N= 70 Especie: Humanos de 3 grupos etarios: Niños, adultos jóvenes, adultos Grupo Estudio: A) Goma de mascar con extracto Grupo Control: B) Goma de mascar con extracto	Antocianina del extracto de cereza ácida	-Actividad de alfa amilasa - Unidad formadora de colonias (UFC) de S. mutans - COPD	A) Disminución progresiva de la actividad de AS y UFC de S.mutans. Los valores medios de COPD se redujeron.	La antocianina que contiene el extracto inhibe la AS, retrasando la degradación del almidón y previene el crecimiento de S. mutans
J. E. Mormann. R. Schmid, H. R. Mühlemann. Suiza, 1983	Estudio en Animales	N= 72 Especie: Ratas Osborne- Mendel: Machos de 20 días. Grupo Estudio: A1)Trigo cocido +Trigo sin cocer + BAY e 4609. A2)Trigo cocido +Sacarosa +BAY e 4609. Grupo Control: -Trigo sin cocer + trigo cocido. -Trigo cocido + sacarosa.	BAY e 4609	-Extensión de la placa. - Desmineralización	A1) - A2) Sin diferencias en la extensión de la placa. A1) - A2) Disminuye la incidencia de caries inicial de la fisura dentinaria, frente a una dieta exclusiva de almidón	Los inhibidores de α -amilasa y α -glucosidasa en la rata muestran una reducción moderada de caries.
J. Zhang, S. Kashket. USA, 1997	In Vitro	N= 14 Especie: Cepas de S.Mutans. Grupo Estudio: A1) Té negro y verde + AS A2) Té negro y verde + AS estreptocócica Grupo Control: B1)Té verde y negro con taninos removidos + AS salival B2) Té verde y negro con taninos removidos + AS estreptocócica	Taninos	-Inhibición de AS y amilasa estreptocócica.	A1) Inhibieron la actividad amilasa de AS A2) Inhibieron la actividad amilasa estreptocócica. B1) y B2) Carecían de actividad inhibitoria después de la eliminación de los taninos.	El té negro y verde pueden reducir la contribución de los almidones al potencial cariogénico de una variedad de alimentos. Las propiedades anticariogénicas de los té, pueden deberse, en gran parte, a los efectos que tienen en la descomposición de los almidones
J. Zhang, S. Kashket. USA, 1997	In Vivo	N= 6 Especie: Humanos entre 23 y 45 años, alimentados con galletas saladas. Grupo Estudio: A) Enjuagues con Té. Grupo Control: B) Enjuagues con Agua destilada.	Taninos	- Proporción Maltosa/Sacarosa - Proporción Glucosa/Sacarosa	A) Redujo la liberación de maltosa en aproximadamente un 70%. A) Las proporciones de Glucosa /Sacarosa se mantuvieron sin cambios. A)-B) Las diferencias entre los enjuagues con agua y té son significativas.	El té negro y verde pueden reducir la contribución de los almidones al potencial cariogénico de una variedad de alimentos. Las propiedades anticariogénicas de los té, pueden deberse, en gran parte, a los efectos que tienen en la descomposición de los almidones

5.3. Análisis de riesgo de sesgo de los estudios

El análisis por dominio (Tabla 3), reveló que el 100% de los estudios *in vivo* (39)(43)(42) presentan un bajo riesgo en los datos presentados en la identificación de sustancia, caracterización de la prueba y descripción del diseño, mientras que la documentación de resultados y la plausibilidad de diseño y resultados, se presentó con un riesgo moderado en el estudio de acarbosa en ratas (43). Los estudios *in vitro* presentan un bajo riesgo en todos los dominios, a excepción de la identificación de sustancia en el estudio de maltitol y acarbosa en *Streptococcus* orales, el cual presenta un riesgo moderado(41).

El análisis de riesgo de sesgo final de cada estudio (Tabla 4), arrojó que la información de los estudios es confiables en todos ellos, a excepción del estudio de acarbosa en ratas (43), el cual fue catalogado como confiable pero con restricciones, determinando un riesgo moderado, esto se debe principalmente a que no se declaran los esquemas de administración de acarbosa como inhibidor en la dieta, ni se presenta una descripción de los resultados para todos los criterios investigados, ni tampoco se describen los métodos estadísticos aplicados.

Tabla 3. Análisis de riesgo de sesgo por dominio mediante TooxRTool.

Estudio	Identificación de sustancia	Caracterización del sistema de prueba	Descripción del diseño	Documentación de resultados	Posibilidad de repetir diseño o datos
Homoki et al. 2018	●	●	●	●	●
Mormann et al. 1983(43)	●	●	●	●	●
Zhang et al. 1998	●	●	●	●	●
Zhang et al. 1998	●	●	●	●	●
Aizawaa et al. 2009	●	●	●	●	●

Estudios In vivo.
 Estudios In Vitro.

Bajo riesgo.
 Moderado riesgo.
 Alto riesgo.

Tabla 4. Riesgo de sesgo de cada estudio mediante ToxRTool.

Estudio	Puntaje	Riesgo de Sesgo
Homoki et al. 2018	20	Bajo
Mormann et al. 1983	17	Moderado
Zhang et al. 1998	18	Bajo
Zhang et al. 1998	17	Bajo
Aizawaa et al. 2009	16	Bajo

■ Estudios In vivo.

■ Estudios In Vitro.

5.4. Análisis cuantitativo de los estudios

Debido a la heterogeneidad entre estudios seleccionados, no se realizó la evaluación cuantitativa mediante meta-análisis. Esta falta de homogeneidad radica en los diseños de estudios aplicados en diferentes especies, la utilización de inhibidores de AS de diversa naturaleza y su administración mediante distintos vehículos como la goma de mascar o el té.

6. DISCUSIÓN

El análisis de la información recopilada muestra que la incorporación por la vía oral de inhibidores de AS genera un potencial efecto protector sobre el desarrollo de caries. Según la evidencia, la inactivación de la actividad enzimática de AS, mantendría a los almidones en cadenas de alto peso molecular y la incorporación de estos inhibidores en la dieta habitual, disminuiría el potencial cariogénico de estos (39). Además, la acción de estos inhibidores no solo provocaría efectos sobre la AS humana, sino que también sobre la alfa amilasa estreptocócica producida por los *streptococcus* presentes en la cavidad oral (42). Todo esto repercutiría en una reducción de la producción de ácidos, manteniendo el ambiente bucal en un pH favorable para la salud de los tejidos (41)(40). Sin embargo, se encontraron pocos estudios en esta temática, a pesar de que la búsqueda no fue del todo restrictiva, pues los desenlaces no solo incluyeron el efecto directo sobre lesiones de caries, sino también aquellas variables indirectas. Por lo anterior, el uso de AS a nivel clínico para la prevención y manejo de caries puede ser controversial y carecer de suficientes bases en la evidencia científica que lo sustente.

Las similitudes más evidentes en los estudios incluidos, se observa con la utilización de los inhibidores de AS en conjunto con la administración de una dieta o medios de cultivo que presentaban entre otros carbohidratos, almidón, promoviendo un medio experimental cariogénico (39)(42)(40)(41). Se sabe que la AS hidroliza el almidón principalmente a maltosa y maltotriosa, además de otras dextrinas como maltotetrosa, maltopentosa y maltohexosa, todas azúcares simples de bajo peso molecular (9)(43), estas dextrinas pueden ser utilizadas en el metabolismo bacteriano para permitir su crecimiento, ya que los *streptococcus* orales poseen un sistema de transporte capaz de integrar estas dextrinas, incluso de forma más eficaz que la maltosa (44)(45). Por lo anterior, la principal finalidad del uso de inhibidores tanto sintéticos (40)(41) como naturales (39)(42) en los estudios, es evitar la producción de ácidos desde el metabolismo bacteriano. De esta forma, los estudios evaluaron la inhibición de la actividad de AS en medios cariogénicos, para obtener resultados en diferentes variables involucradas en el desarrollo de nuevas lesiones de caries, como lo

son variables microbiológicas (39)(41)(42), disponibilidad de azúcares (42) y la desmineralización de los tejidos dentales (40).

En relación a las variables microbiológicas involucradas en caries, se observa que el uso de los inhibidores de AS, actúan de forma favorable y podrían desempeñar un rol en la prevención de un entorno oral en disbiosis (39)(41)(42). Uno de los artículos seleccionados, describe como los *streptococcus* orales incubados anaeróticamente en presencia de inhibidores, acarbosa y maltitol, pueden moderar su actividad bacteriana ante la disponibilidad de carbohidratos, demostrando que la acarbosa inhibe eficazmente el metabolismo del almidón por los *streptococcus* orales, particularmente por *Streptococcus mutans* (*Sm*), esta acción se debe a que es un inhibidor competitivo reversible de las alfa glucosidasas mientras que el maltitol sólo inhibió moderadamente el metabolismo, siendo este último un poliol que interfiere el metabolismo de la maltosa por *Sm* (41). Por otra parte, los taninos provenientes de té, también demostraron ser capaces de inhibir tanto en la actividad de AS bacteriana producida por *Sm*, como la AS humana (42). Similar resultado, se obtuvo con la utilización de goma de mascar enriquecida con antocianinas del extracto de cereza ácida, la cual mostró una reducción tanto del nivel de AS como de las unidades formadoras de colonias (UFC) de *Sm* (39). Estos dos últimos inhibidores, taninos como antocianinas, pertenecen a inhibidores naturales correspondientes a flavonoides de la familia de los polifenoles, los cuales son conocidos y reportados por presentar una fuerte afinidad hacia enzimas, provocando su inhibición (46)(47)(48).

En cuanto a los efectos del uso de inhibidores de AS, sobre la disponibilidad de azúcares en el medio oral, se evaluó en conjunto con la administración de comidas cariogénicas ricas en almidones. En estas circunstancias, el estudio experimental *in-situ*, aleatorizado y con grupos casos-contróles (42) quiso comprobar la inhibición de AS, utilizando los taninos del té, lo que resultó en una disminución de las proporciones de maltosa/sacarosa después de la administración de las infusiones de té en todos los sujetos. Sin embargo, estos efectos inhibitorios del té sobre la AS, se perdieron a los pocos minutos del enjuague, encontrando una relación directa entre el tiempo de enjuague y el tiempo de su efecto inhibitorio antes de su aclaramiento. Por lo anterior, es posible señalar que la unión de

los taninos a la AS es débil y la obtención de beneficios inhibitorios a partir de estos, se lograrían con un mayor tiempo de exposición o una mayor periodicidad de su administración. Por tanto, y desde una perspectiva tecnológica, la aplicación de inhibidores de AS debiese ser dirigida a blancos de productos comerciales, como por ejemplo pastas dentales o colutorios, en vez de dianas alimentarias.

Respecto a las variables directamente relacionadas con la salud de los tejidos dentales, estas fueron evaluadas utilizando un inhibidor farmacológico de AS, por el estudio *in-vivo* en ratas separadas en grupos casos y controles (40). Ante este inhibidor, las ratas intervenidas y alimentadas con una dieta exclusiva de almidón mostraron una reducción en la desmineralización y en la incidencia de lesiones de caries dentinaria versus sus controles. Esto se explica a que BAY e 4609 es un inhibidor selectivo de Alfa amilasas (49), lo que provoca una total detención del metabolismo del almidón, ya que este fármaco tendría efectos en AS, AS estreptocócica y alfa amilasa pancreática.

Desde el análisis de los estudios y de acuerdo a la información recopilada, podemos señalar que la principal limitación de la presente RSL, esta dada por la insuficiencia de estudios en torno al uso de inhibidores de AS, por lo tanto, sus efectos son poco concluyentes. Además, estos estudios son heterogéneos, y no permiten esclarecer la concentración, vehículo ideal y tampoco los esquemas de administración más favorables para obtener reales beneficios. Esta disparidad entre los estudios, podría atribuirse a que los niveles basales de AS se ven influenciados a corto y largo plazo por una serie de factores como la dieta, el estrés y el ejercicio, provocando una variabilidad interindividual (50). Asimismo, se podría especular que las variables orales como el uso de aparatos externos u otros factores que modifiquen el ambiente oral, alteren los niveles basales de AS, provocando diferencias en los resultados. Debido a estas variaciones, la frecuencia, los intervalos de muestreo y la selección de los participantes, son difíciles de estandarizar para obtener diseños experimentales más homogéneos. Por lo anterior, no es posible extrapolar lo experimental a lo clínico, ni tampoco recopilar datos para un análisis cuantitativo.

Debido a la escasa información recopilada, no es posible aún recomendar el uso de los inhibidores de AS como acción terapéutica contra caries. Sin embargo, los inhibidores naturales por sus múltiples propiedades bioactivas, podrían llegar a ser parte del asesoramiento dietético para la prevención de caries (51)(52) o bien en su incorporación en productos de cuidado dental como pastas o colutorios. Estas propiedades han sido estudiadas en estudios *in vivo* e *in vitro*, determinando diferentes cualidades anticariogénicas (53)(54)(55)(56). Lo anterior, podría acompañar las actuales recomendaciones preventivas de caries, que se sustentan en el uso de suplementos de flúor, la reducción del consumo de azúcar, la colocación de sellantes dentales y chequeos dentales regulares (57)(58)(59). En cuanto a los inhibidores farmacológicos como la acarbosa, no existe literatura que avale sus efectos y aplicabilidad en la terapia de caries.

En conclusión es posible afirmar que la incorporación de inhibidores de AS en la dieta o en otras aplicaciones, puede reducir la disponibilidad de carbohidratos fermentables de liberación lenta proveniente de los alimentos y con ellos reducir cariogenicidad de los almidones. Se sugiere que los polifenoles pueden ser un candidato apropiado para su potencial uso en el manejo de caries, pero se necesitan más estudios, principalmente ensayos clínico aleatorizado para confirmar estos hallazgos.

7. REFERENCIAS

1. Humphrey SP, Williamson RT. A review of saliva: Normal composition, flow, and function. *J Prosthet Dent*. 2001; doi: 10.1067/mpr.2001.113778.
2. Tenovuo J. Antimicrobial agents in saliva - Protection for the whole body. *Journal of Dental Research*. 2002. doi: 10.1177/154405910208101202.
3. Hofman LF. Human saliva as a diagnostic specimen. In: *Journal of Nutrition*. 2001. doi: 10.1093/jn/131.5.1621s.
4. Gao X, Jiang S, Koh D, Hsu CYS. Salivary biomarkers for dental caries. *Periodontology 2000*. 2016. doi: 10.1111/prd.12100.
5. Chicharro JL, Lucía A, Pérez M, Vaquero AF, Ureña R. Saliva composition and exercise. *Sports Medicine*. 1998. doi: 10.2165/00007256-199826010-00002.
6. Veerman ECI, Van Den Keybus PAM, Vissink A, Nieuw Amerongen A V. Human glandular salivas: Their separate collection and analysis. *Eur J Oral Sci*. 1996; doi: 10.1111/j.1600-0722.1996.tb00090.x.
7. Fisher SZ, Govindasamy L, Tu C, Agbandje-McKenna M, Silverman DN, Rajaniemi HJ, et al. Structure of human salivary α -amylase crystallized in a C-centered monoclinic space group. *Acta Crystallogr Sect F Struct Biol Cryst Commun*. 2006; doi: 10.1107/S1744309105042491.
8. Butterworth PJ, Warren FJ, Ellis PR. Human α -amylase and starch digestion: An interesting marriage. *Starch/Staerke*. 2011. doi: 10.1002/star.201000150.
9. Kashket S, Zhang J, Van Houte J. Accumulation of fermentable sugars and metabolic acids in food particles that become entrapped on the dentition. *J Dent Res*. 1996; doi: 10.1177/00220345960750111101.
10. Oboh G, Ademosun AO. Shaddock peels (*Citrus maxima*) phenolic extracts inhibit α -amylase, α -glucosidase and angiotensin I-converting enzyme activities: A nutraceutical approach to diabetes management. *Diabetes Metab Syndr Clin Res Rev*. 2011; doi: 10.1016/j.dsx.2012.02.008.

11. Scannapieco FA, Torres G, Levine MJ. Salivary α -amylase: Role in dental plaque and caries formation. In: *Critical Reviews in Oral Biology and Medicine*. 1993. doi: 10.1177/10454411930040030701.
12. Scannapieco FA, Bergey EJ, Reddy BMS, Levine MJ. Characterization of salivary α -amylase binding to *Streptococcus sanguis*. *Infect Immun*. 1989; doi: 10.1128/iai.57.9.2853-2863.1989.
13. Yao Y, Berg EA, Costello CE, Troxler RF, Oppenheim FG. Identification of protein components in human acquired enamel pellicle and whole saliva using novel proteomics approaches. *J Biol Chem*. 2003; doi: 10.1074/jbc.M206333200.
14. Deimling D, Breschi L, Hoth-Hannig W, Ruggeri A, Hannig C, Nekrashevych Y, et al. Electron microscopic detection of salivary α -amylase in the pellicle formed in situ. *Eur J Oral Sci*. 2004; doi: 10.1111/j.1600-0722.2004.00168.x.
15. Lamkin MS, Arancillo AA, Oppenheim FG. Temporal and compositional characteristics of salivary protein adsorption to hydroxyapatite. In: *Journal of Dental Research*. 1996. doi: 10.1177/00220345960750021101.
16. Scannapieco FA, Levine MJ, Torres GI. Salivary Amylase Promotes Adhesion of Oral Streptococci to Hydroxyapatite. *J Dent Res*. 1995; doi: 10.1177/00220345950740070701.
17. Kilian M, Nyvad B. Ability to bind salivary α -amylase discriminates certain viridans group streptococcal species. *J Clin Microbiol*. 1990; doi: 10.1128/jcm.28.11.2576-2577.1990.
18. Chaudhuri B, Rojek J, Vickerman MM, Tanzer JM, Scannapieco FA. Interaction of salivary alpha-amylase and amylase-binding-protein A (AbpA) of *Streptococcus gordonii* with glucosyltransferase of *S. gordonii* and *Streptococcus mutans*. *BMC Microbiol*. 2007; doi: 10.1186/1471-2180-7-60.
19. Klein MI, DeBaz L, Agidi S, Lee H, Xie G, Lin AHM, et al. Dynamics of *Streptococcus mutans* transcriptome in response to starch and sucrose during biofilm development. *PLoS One*. 2010; doi: 10.1371/journal.pone.0013478.

20. Xiao JB, Hogger P. Dietary Polyphenols and Type 2 Diabetes: Current Insights and Future Perspectives. *Curr Med Chem*. 2014; doi: 10.2174/0929867321666140706130807.
21. Liu S, Li D, Huang B, Chen Y, Lu X, Wang Y. Inhibition of pancreatic lipase, α -glucosidase, α -amylase, and hypolipidemic effects of the total flavonoids from *Nelumbo nucifera* leaves. *J Ethnopharmacol*. 2013; doi: 10.1016/j.jep.2013.06.034.
22. Yao X, Zhu L, Chen Y, Tian J, Wang Y. In vivo and in vitro antioxidant activity and α -glucosidase, α -amylase inhibitory effects of flavonoids from *Cichorium glandulosum* seeds. *Food Chem*. 2013; doi: 10.1016/j.foodchem.2012.12.045.
23. Xiao J, Ni X, Kai G, Chen X. A review on structure-activity relationship of dietary polyphenols inhibiting α -amylase. *Critical reviews in food science and nutrition*. 2013. doi: 10.1080/10408398.2010.548108.
24. Vitorino R, De Moraes Guedes S, Ferreira R, Lobo MJC, Duarte J, Ferrer-Correia AJ, et al. Two-dimensional electrophoresis study of in vitro pellicle formation and dental caries susceptibility. *Eur J Oral Sci*. 2006; doi: 10.1111/j.1600-0722.2006.00328.x.
25. Balekjian AY, Meyer TS, Montague ME, Longton RW. Electrophoretic Patterns of Parotid Fluid Proteins from Caries-Resistant and Caries-Susceptible Individuals. *J Dent Res*. 1975; doi: 10.1177/00220345750540042501.
26. Bardow A, Hofer E, Nyvad B, Ten Cate JM, Kirkeby S, Moe D, et al. Effect of saliva composition on experimental root caries. *Caries Res*. 2005; doi: 10.1159/000081660.
27. Shamseer L, Moher D, Clarke M, Ghersi D, Liberati A, Petticrew M, et al. Preferred reporting items for systematic review and meta-analysis protocols (prisma-p) 2015: Elaboration and explanation. *BMJ (Online)*. 2015. doi: 10.1136/bmj.g7647.
28. Ouzzani M, Hammady H, Fedorowicz Z, Elmagarmid A. Rayyan-a web and mobile app for systematic reviews. *Syst Rev*. 2016; doi: 10.1186/s13643-016-0384-4.
29. Schneider K, Schwarz M, Burkholder I, Kopp-Schneider A, Edler L, Kinsner-

- Ovaskainen A, et al. 'ToxRTool', a new tool to assess the reliability of toxicological data. *Toxicol Lett.* 2009; doi: 10.1016/j.toxlet.2009.05.013.
30. Würsch P, Koellreutter B. Maltitol and maltotriitol as inhibitors of acid production in human dental plaque. *Caries Res.* 1982; doi: 10.1159/000260583.
 31. Rawel HM, Frey SK, Meidtnr K, Kroll J, Schweigert FJ. Determining the binding affinities of phenolic compounds to proteins by quenching of the intrinsic tryptophan fluorescence. *Mol Nutr Food Res.* 2006; doi: 10.1002/mnfr.200600013.
 32. FIEHN N -E, MOE D. α -amylase activity in supragingival dental plaque in humans. *Eur J Oral Sci.* 1983; doi: 10.1111/j.1600-0722.1983.tb00831.x.
 33. Hara K, Ohara M, Hayashi I, Hino T, Nishimura R, Iwasaki Y, et al. The green tea polyphenol (-)-epigallocatechin gallate precipitates salivary proteins including α -amylase: Biochemical implications for oral health. *Eur J Oral Sci.* 2012; doi: 10.1111/j.1600-0722.2012.00947.x.
 34. Bhagath K, Prashith Kekuda TR, Mallikarjun N, Raghavendra HL. Anticaries and α -amylase inhibitory activity of *jasminum arborescens* roxb. (oleaceae) leaves extract. *Int J Res Ayurveda Pharm.* 2013; doi: 10.7897/2277-4343.04622.
 35. Yanagida A, Kanda T, Tanabe M, Matsudaira F, Cordeiro JGO. Inhibitory effects of apple polyphenols and related compounds on cariogenic factors of mutans streptococci. *J Agric Food Chem.* 2000; doi: 10.1021/jf000363i.
 36. Vinotha V, Iswarya A, Thaya R, Govindarajan M, Alharbi NS, Kadaikunnan S, et al. Synthesis of ZnO nanoparticles using insulin-rich leaf extract: Anti-diabetic, antibiofilm and anti-oxidant properties. *J Photochem Photobiol B Biol.* 2019; doi: 10.1016/j.jphotobiol.2019.111541.
 37. Kandra L, Gyémánt G, Zajác Á, Batta G. Inhibitory effects of tannin on human salivary α -amylase. *Biochem Biophys Res Commun.* 2004; doi: 10.1016/j.bbrc.2004.05.122.
 38. Udupa SL, Prabhakar AR, Tandon S. α -amylase inhibitors in foodstuffs. *Food Chem.* 1989; doi: 10.1016/0308-8146(89)90077-0.

39. Homoki J, Gyémánt G, Balogh P, Stündl L, Bíró-Molnár P, Paholcsek M, et al. Sour cherry extract inhibits human salivary α -amylase and growth of *Streptococcus mutans* (a pilot clinical study). *Food Funct.* 2018; doi: 10.1039/c8fo00064f.
40. Mörmann JE, Schmid R, Mühlemann HR. Effect of α -amylase and α -glucosidase inhibitors on caries incidence and plaque accumulation in rats: (Short communication). *Caries Res.* 1983; doi: 10.1159/000260687.
41. Aizawa S, Miyasawa-Hori H, Nakajo K, Washio J, Mayanagi H, Fukumoto S, et al. Effects of α -amylase and its inhibitors on acid production from cooked starch by oral streptococci. *Caries Res.* 2009; doi: 10.1159/000189703.
42. Zhang J, Kashket S. Inhibition of Salivary Amylase by Black and Green Teas and Their Effects on the Intraoral Hydrolysis of Starch. *Caries Res.* 1998; doi: 10.1159/000016458.
43. Mormann JE, Muhlemann HR. Oral starch degradation and its influence on acid production in human dental plaque. *Caries Res.* 1981; doi: 10.1159/000260514.
44. Russell RRB, Opoku JA, Sutcliffe IC, Tao L, Ferretti JJ. A binding protein-dependent transport system in *Streptococcus mutans* responsible for multiple sugar metabolism. *J Biol Chem.* 1992;
45. Tao L, Sutcliffe IC, Russell RRB, Ferretti JJ. Cloning and expression of the multiple sugar metabolism (msm) operon of *Streptococcus mutans* in heterologous streptococcal hosts. *Infection and Immunity.* 1993. doi: 10.1128/iai.61.3.1121-1125.1993.
46. Gao J, Xu P, Wang Y, Wang Y, Hochstetter D. Combined effects of green tea extracts, green tea polyphenols or epigallocatechin gallate with acarbose on inhibition against α -amylase and α -glucosidase in vitro. *Molecules.* 2013; doi: 10.3390/molecules180911614.
47. Hara Y, Honda M. The inhibition of α -amylase by tea polyphenols. *Agric Biol Chem.* 1990; doi: 10.1080/00021369.1990.10870239.
48. Havsteen B. Flavonoids, a class of natural products of high pharmacological

- potency. *Biochem Pharmacol.* 1983; doi: 10.1016/0006-2952(83)90262-9.
49. Bounias M. Kinetic study of the inhibition of the honeybee haemolymph α -glucosidase in vitro by BAYe 4609, BAYg 5421 and BAYn 5595. *Biochem Pharmacol.* 1982; doi: 10.1016/0006-2952(82)90131-9.
 50. Rohleder N, Nater UM. Determinants of salivary α -amylase in humans and methodological considerations. *Psychoneuroendocrinology.* 2009. doi: 10.1016/j.psyneuen.2008.12.004.
 51. Melok AL, Lee LH, Yussof SAM, Chu T. Green Tea Polyphenol Epigallocatechin-3-Gallate-Stearate Inhibits the Growth of *Streptococcus mutans*: A promising new approach in caries prevention. *Dent J.* 2018; doi: 10.3390/dj6030038.
 52. Delimont NM, Carlson BN. Prevention of dental caries by grape seed extract supplementation: A systematic review. *Nutrition and Health.* 2020. doi: 10.1177/0260106019887890.
 53. Benjamin S, Roshni, Thomas SS, Nainan MT. Grape seed extract as a potential remineralizing agent: A comparative in vitro study. *J Contemp Dent Pract.* 2012; doi: 10.5005/jp-journals-10024-1162.
 54. Boteon AP, Kato MT, Buzalaf MAR, Prakki A, Wang L, Rios D, et al. Effect of Proanthocyanidin-enriched extracts on the inhibition of wear and degradation of dentin demineralized organic matrix. *Arch Oral Biol.* 2017; doi: 10.1016/j.archoralbio.2017.09.027.
 55. Bancirova M. Comparison of the antioxidant capacity and the antimicrobial activity of black and green tea. *Food Res Int.* 2010; doi: 10.1016/j.foodres.2010.04.020.
 56. Epasinghe DJ, Yiu CKY, Burrow MF, Tsoi JKH, Tay FR. Effect of flavonoids on the mechanical properties of demineralised dentine. *J Dent.* 2014; doi: 10.1016/j.jdent.2014.07.002.
 57. Beauchamp J, Caufield PW, Crall JJ, Donly KJ, Feigal R, Gooch B, et al. Evidence-Based Clinical Recommendations for the Use of Pit-and-Fissure Sealants: A Report of the American Dental Association Council on Scientific Affairs. *Dental Clinics of*

North America. 2009. doi: 10.1016/j.cden.2008.09.003.

58. Tinanoff N. Association of diet with dental caries in preschool children. *Dental Clinics of North America*. 2005. doi: 10.1016/j.cden.2005.05.011.
59. Guideline on caries-risk assessment and management for infants, children, and adolescents. *Pediatric Dentistry*. 2016.