
ACTIVIDAD Y EFECTOS DE UREASA Y ARGININA DEIMINASA EN SALIVA Y BIOPELÍCULA ORAL HUMANA

ACTIVITY AND EFFECTS OF UREASE AND ARGININE DEIMINASE IN SALIVA AND HUMAN ORAL BIOFILM

ÉVELYN REYES BELTRÁN¹, JAVIER MARTÍN CASIELLES¹, ISMAEL YEVENES LÓPEZ², MIGUEL NEIRA JARA², PATRICIA PALMA FLUXÁ³, VALERIA GORDAN VEIGA⁴, GUSTAVO MONCADA CORTÉS¹

RESUMEN. *El objetivo de esta revisión es mostrar los hallazgos emergentes de las potenciales propiedades anticariogénicas de biomoléculas del metabolismo oral relacionados con la producción de amonio. El análisis de la literatura soporta una nueva dimensión preventiva en el conocimiento de la enfermedad caries dental al estudiar la evidencia in vitro publicada, en la que el amonio producido desde la urea y la arginina del ambiente oral presentan importantes factores endógenos inhibitorios del desarrollo de lesiones de caries dental. Este hecho apoyaría la hipótesis que la producción de amonio por urealisis y por el sistema de arginina deiminasa, podrían inhibir potencialmente el desarrollo de la caries dental por la neutralización de ácidos y la estabilización de la microbiota oral, favoreciendo las condiciones para el mantenimiento de la salud oral. Esta revisión presenta estudios de la actividad enzimática oral, que puede constituir un prometedor campo para establecer nuevas líneas de investigación en cariología, particularmente in vivo e in situ, destinados a establecer la efectividad y aplicación clínica de estos compuestos en la prevención de caries dental.*

Palabras clave: amonio, ureasa, arginina deiminasa, saliva, biopelícula, caries dental.

Reyes É, Martín J, Yevenes I, Neira M, Palma P, Gordan V, *et al.* Actividad y efectos de ureasa y arginina deiminasa en saliva y biopelícula oral humana. Rev Fac Odontol Univ Antioq 2012; 23(2): 343-352.

Abstract. *The purpose of this review is to present the emerging findings on the potential anti-cariogenic properties of the bioactive molecules of oral metabolism related with ammonia production. The literature analysis supports a new preventive dimension in the knowledge of dental caries disease by studying the published evidence provided by in vitro and clinical studies, in which the ammonia produced from urea and arginine in the oral environment represents an important endogenous inhibitory factor in the development of dental caries lesions. This fact would support the hypothesis that ammonia production by urease and the arginine deiminase system could potentially inhibit the development of dental caries by neutralizing acids and stabilizing the oral microbiota, thus enhancing the conditions for oral health maintenance. This review presents studies on the oral enzyme activity which may constitute a promising field in the definition of new lines of research in cariology, particularly in vivo and in situ, aimed at establishing the effectiveness and clinical application of these compounds in the prevention of dental caries.*

Key words: ammonium, urease, arginine deiminase, saliva, biofilm, dental caries.

Reyes É, Martín J, Yevenes I, Neira M, Palma P, Gordan V, *et al.* Activity and effects of urease and arginine deiminase in saliva and oral human biofilm. Rev Fac Odontol Univ Antioq 2012; 23(2): 343-352.

1 Operatoria Dental, Facultad Odontología, Universidad de Chile.
2 Química, Facultad Odontología, Universidad de Chile.
3 Microbiología, Facultad Odontología, Universidad de Chile.
4 Operative Dentistry Department, College of Dentistry, University of Florida, Gainesville, FL, USA.

1 Operative Dentistry, School of Dentistry, Universidad de Chile.
2 Chemistry, School of Dentistry, Universidad de Chile.
3 Microbiology, School of Dentistry, Universidad de Chile.
4 Operative Dentistry Department, College of Dentistry, University of Florida, Gainesville, FL, USA.

INTRODUCCIÓN

De las enfermedades que afectan la cavidad bucal, la caries dental es la que presenta la mayor prevalencia en la población mundial, generando un problema epidemiológico que compromete en mayor o menor medida a todos los países afectando cerca del 100% de la población en la mayoría de ellos.¹

La caries dental representa el mayor problema de salud oral incluso en los países industrializados, afectando entre el 60 y el 90% de la población escolar y la gran mayoría de la población adulta. Además es la enfermedad bucodental prevalente en Latinoamérica y Asia, siendo menos común y severa en países africanos.² En Estados Unidos todavía constituye un importante problema de salud pública, siendo la enfermedad crónica más frecuente en la población, afectando a más del 96% de los adultos, y el 99,5% de individuos de 65 años o más han experimentado caries en este país.^{3,4}

A pesar del desarrollo de la odontología preventiva, la caries dental aún constituye un gran problema en la salud oral, para ello los investigadores hacen constantes exploraciones de nuevas estrategias tanto en prevención y tratamiento, como en la evaluación del riesgo cariogénico en diferentes condiciones.⁵

Actualmente existe consenso al afirmar que las bacterias orales que colonizan los dientes forman una comunidad denominada biopelícula que existe en equilibrio dinámico con la defensa del organismo, y es generalmente compatible con la integridad de los tejidos dentarios.⁶⁻⁸ La transición de salud oral a enfermedades orales, como la caries dental, es caracterizada por cambios composicionales y metabólicos de la biopelícula oral,^{7,9} generando una acidificación que favorece la proliferación de una microbiota acidogénica y acidúrica, con presencia de *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus spp*, entre otros, lo cual produce la rápida fermentación de hidratos de carbono, generando la baja del pH, alcanzando un punto donde se produce la significativa desmineralización del diente. La repetida acidificación de la placa promueve el establecimiento de la microbiota acidogénica. Esta microbiota ha sido asociada con el incremento de la vulnerabilidad a la caries dental.^{8, 10-14}

La prolongada acidificación de la placa dental, resultado de la actividad metabólica de la microbiota cariogénica, conduce a la desmineralización de los dientes.

INTRODUCTION

Out of all the diseases that affect the oral cavity, dental caries is the one with the greatest prevalence among the world's population, thus generating an epidemiological problem in all the countries to a greater or lesser extent, and affecting nearly 100% of the population in most of them.¹

Dental caries represents the greatest oral health problem even in highly industrialized countries, where it affects between 60 and 90% of the school population and most of the adult population. It is also the prevalent bucco-dental disease in Latin America and Asia, being less common and severe in African countries.² In the United States it is still an important public health problem, as it is the most frequent chronic disease among the population, affecting more than 96% of adults, and 99.5% of individuals aged 65 or older have experienced caries in this country.^{3,4}

In spite of the development of preventive dentistry, dental caries is still a big oral health problem; that is why researchers constantly explore new preventive and treatment strategies, as well as evaluation of cariogenic risk in different conditions.⁵

It is commonly accepted nowadays that oral bacteria colonizing teeth form a community called biofilm that exists in dynamic balance with the organism defenses and is generally compatible with the integrity of dental tissues.⁶⁻⁸ Transition from oral health to oral disease, such as dental caries, is characterized by structural and metabolic changes in the oral biofilm^{7,9} creating a kind of acidification that favors proliferation of acidogenic and aciduric microbiota harboring *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus spp*, to name just a few, which produce a rapid fermentation of carbon hydrates, thus generating pH decrease up to a point in which significant demineralization of teeth occurs. Continuous plaque acidification promotes the establishment of acidogenic microbiota. This microbiota has been associated with increasing vulnerability to dental caries.^{8, 10-14}

Extended acidification of dental plaque, as a result of the metabolic activity of cariogenic microbiota, leads to teeth demineralization.

Después de incorporar azúcar, el pH de la placa dental disminuye rápidamente, alcanzando valores mínimos, que luego gradualmente vuelven a su nivel inicial.¹⁵ El desarrollo de la caries dental es un prolongado proceso que involucra ciclos de desmineralización y remineralización. Cuando la fase de desmineralización es la dominante, se desarrolla la lesión de caries.

Álcalis de la biopelícula

Algunos factores de riesgo para la caries han sido identificados y estudiados,¹⁶⁻¹⁸ y con ello también la transición, desde un individuo libre de caries a un estado de actividad cariogénica, y este proceso podría relacionarse con el reducido potencial de generar álcali en la placa, sumado al incremento de un medio acidogénico. Aunque muchos estudios se han enfocado en la naturaleza acidogénica de la caries dental, el modo de aumentar la fase de alcalización y la homeostasis del pH, no ha sido totalmente explorado.

Entre los microorganismos menos acidúricos y que están más relacionados con salud dental se encuentran *Streptococcus sanguinis* (*S. sanguinis*), *Streptococcus gordonii* (*S. gordonii*),¹⁹⁻²² los cuales contribuyen a la alcalización de la placa, a través de la generación de amonio a partir de la vía de la deiminasa arginina y ureasa. Esta producción de amonio por bacterias orales influye positivamente en el equilibrio entre la nueva mineralización y la desmineralización del diente y puede ayudar a prevenir el desarrollo de la microbiota cariogénica.²³⁻²⁷

La comparación entre niveles de *S. mutans* observados en sujetos con caries activas fue significativamente alta en comparación con sujetos sin caries. Además bajos niveles de *Streptococcus sanguinis*, *Streptococcus gordonii*, *Actinomyces naeslundii*, y *Streptococcus salivarius*, fueron observados en los sujetos con caries activas comparados con sujetos libres de caries, aunque esta diferencia no fue estadísticamente significativa.⁵

Actividad enzimática ureasa y lesiones de caries

En el estudio, se observó la positiva relación entre el número de *Streptococcus salivarius* y niveles de actividad de ureasa, y la negativa relación entre el número de *Streptococcus mutans* y niveles de arginina deiminasa.²⁸

Once sugar is added, pH of the dental plaque quickly decreases, reaching minimum values that gradually return to their initial level.¹⁵ Development of dental caries is a prolonged process that involves demineralization and remineralization cycles. When the demineralization phase predominates, carious lesion develops.

The biofilm alkali

Some risk factors for dental caries have been identified and studied,¹⁶⁻¹⁸ as well as the transition from a caries-free individual to a state of cariogenic activity—a process that could be related to a reduced potential of generating alkali in the plaque, along with an acidogenic environment increase—. Although many studies have focused on the acidogenic nature of dental caries, the way of increasing the alkalization phase and pH homeostasis has not been fully explored.

Among the less aciduric microorganisms—and the more closely related to dental health—are *Streptococcus sanguinis* (*S. sanguinis*) *Streptococcus gordonii* (*S. gordonii*),¹⁹⁻²² which contribute to alkalization of the plaque by generating ammonium from arginine deiminase and urease. This ammonium production by oral bacteria positively influences the balance between the tooth's new mineralization and its demineralization and may contribute to prevent the development of cariogenic microbiota.²³⁻²⁷

Levels of *S. mutans* observed in subjects with active dental caries were significantly higher in comparison to subjects without it. Besides, lower levels of *Streptococcus sanguinis*, *Streptococcus gordonii*, *Actinomyces naeslundii*, and *Streptococcus salivarius* were observed in subjects with active caries compared to caries-free subjects, although this difference was not statistically significant.⁵

Urease enzymatic activity and carious lesions

One of the studies reviewed showed a positive relation between the number of *Streptococcus salivarius* and levels of urease activity was observed, as well as a negative relation between the number of *Streptococcus mutans* and levels of arginine deiminase.²⁸

En esta misma línea, resultados de un estudio *in vitro*, en el que se modificó una cepa de *Streptococcus mutans* para que produjera ureasa, generó aumentos en la actividad de esta, disminuyendo considerablemente la acidificación ambiental.²⁹

Dos fuentes significativas de álcali en la placa son la arginina y la urea. La urea es hidrolizada por la enzima ureasa que está presente en algunas bacterias orales. Llama la atención que el amonio generado desde la urealísis puede llegar a conducir al aumento considerable del pH en la placa a pesar de una dieta rica en carbohidratos.^{25, 30-32} El amonio puede también ser producido desde la arginina por la enzima arginina deiminasa. Existe bastante evidencia *in vitro* que apoya la hipótesis que el amonio producido desde la urea y la arginina, por medio de la producción de amonio vía urealísis, y por el sistema arginina deiminasa podría ser importante factor endógeno inhibitorio de la aparición de microbiota cariogénica y el desarrollo de la caries dental, a través de la neutralización de ácidos y estabilización de la microbiota oral que es afín con salud oral.^{5, 16, 23, 33} Se ha concluido que pequeñas diferencias en la concentración de urea y en la cantidad de enzima ureasa pueden inhibir significativamente la progresión de la caries dental.³⁴

La hidrólisis generada por la enzima bacteriana ureasa, genera amonio y CO₂ y es uno de los mejores caminos para la producción de álcali en la cavidad oral.³⁵ La urea llega a la cavidad oral a través de la secreción salival y del fluido crevicular, y su concentración oscila entre 1 y 10 mM en individuos sanos.³⁶⁻³⁸

Existen diversos estudios que apuntan en esta dirección, tanto en estudios *in vitro*^{15, 24, 29, 31, 33, 39-44} en animales,²⁹ como por algunas observaciones indirectas clínicas.^{18, 23, 40, 45, 46} A la vez la literatura también apoya, pero de forma indirecta, al hecho que el riesgo de caries está directamente asociado con pérdida del potencial generador de álcali.^{18, 25, 31} Por lo que el potencial alcalinogénico de una biopelícula podría establecerse como una estrategia prometedora en el control de la enfermedad caries dental.

Se ha demostrado que existe una placa más alcalina en sujetos con caries resistentes, comparados con sujetos con caries susceptibles.⁴¹

Similarly, the findings of an *in vitro* study, in which a *Streptococcus mutans* was modified so that it would produce urease, demonstrated increase of urease activity, while obtaining substantial reduction of environment acidification.²⁹

Two significant sources of alkali in the plaque are arginine and urea. Urea is hydrolyzed by the urease enzyme, which is part of some oral bacteria. Interestingly, the ammonium generated from urealísis may be able to lead to a pH increase in the plaque, despite a diet rich in carbohydrates.^{25, 30-32} Ammonium may also be produced from arginine by the enzyme arginine deiminase. There is ample *in vitro* evidence to support the hypothesis that the ammonium produced from urea and arginine, by means of ammonium production via urealísis, and by the arginine deiminase system, could be an important endogenous factor for inhibition of cariogenic microbiota and development of dental caries, by neutralization of acids and stabilization of oral microbiota, which is related to oral health.^{5, 16, 23, 33} It has been concluded that small differences in the concentration of urea and in the quantity of the urease enzyme may significantly inhibit the progression of dental caries.³⁴

The hydrolysis generated by the urease bacterial enzyme produces ammonium and CO₂ and it is one of the best ways for the production of alkali in the oral cavity.³⁵ Urea reaches the oral cavity by means of salivary secretions and the crevicular fluids, and its concentration oscillates between 1 and 10 mM in healthy individuals.³⁶⁻³⁸

There are several reports in this direction, either as *in vitro* studies^{15, 24, 29, 31, 33, 39-44} in animals²⁹ or as indirect clinical observations.^{18, 23, 40, 45, 46} The literature also supports, although in an indirect way, the fact that caries risk is directly associated to the loss of the potential to generate alkali.^{18, 25, 31} Therefore, the alkaligenic potential of a biofilm could be established as a possible strategy in the control of dental caries disease.

It has been demonstrated that there exists a more alkaline plaque in subjects with resistant caries, in comparison to subjects with susceptible caries.⁴¹

Adicionalmente se ha estudiado que la producción de álcali en placa y saliva de individuos con diverso estado cariogénico, en los que los sujetos libres de caries presentaron altos niveles de actividad de arginina deiminasa comparados con sujetos con caries activas, en saliva y placa. A la vez sujetos libres de caries presentaron tres veces más altos niveles de ureasa que los sujetos con caries activas en muestras de placa.²⁸

Se ha determinado positiva relación entre altos niveles de producción de álcali y resistencia a caries, como niveles considerablemente altos de actividad de ureasa y arginina deiminasa, fueron observadas en individuos sin experiencia de caries, comparados con individuos en actividad de caries.⁵ Datos existentes apoyan indirectamente la idea que la producción de álcali tiene efecto en el pH de la placa y su homeostasis. Parte de este hallazgo, según se informa, está relacionado con la concentración mayor de amonio generado en la placa de estos sujetos resistentes a caries.⁴⁰

Otra observación interesante es la encontrada en pacientes nefróticas, cuyos estudios clínicos han mostrado alta concentración de urea salival en pacientes con insuficiencia renal crónica,^{47, 48} quienes, mostraron notable baja incidencia en los niveles de caries dental^{36, 49, 50} a pesar de consumir dieta predominantemente con base en hidratos de carbono.⁴⁵

La razón de la baja actividad en la producción de álcali en individuos con caries activas puede estar relacionada con falta de urea como sustrato, generando menor número de organismos productores de ureasa y menor actividad de esta enzima. La urea por lo general no es encontrada en altas cantidades en la placa dental, esta es rápidamente hidrolizada por los relativamente altos niveles de ureasa que presentan la placa dental y saliva.⁵¹ Sin embargo, se ha observado que individuos que producen bajo nivel de ureasa tienen reducida capacidad para compensar la acidificación glicolítica, aun cuando estén provistos de gran cantidad de urea.⁵¹

Podría ocurrir, que los individuos que presentan bajos niveles de actividad de ureasa, en realidad poseen reducida presencia de bacterias productoras de ureasa. Validando este pensamiento, un reciente estudio mostró una considerable asociación positiva entre número de *Streptococcus salivarius* y los niveles de ureasa.

Also, the production of alkali in plaque and saliva of individuals with diverse cariogenic status has been studied: caries-free subjects present higher levels of activity of arginine deiminase compared to subjects with active caries, in both saliva and plaque. Likewise, caries-free subjects presented urease levels three times higher than subjects with active caries in plaque samples.²⁸

A positive relation between higher levels of alkali production and caries resistance has been demonstrated; as considerably high levels of urease activity and arginine deiminase were observed in individuals without caries records compared to individuals with active caries.⁵ Some available data indirectly support the idea that alkali production affects the plaque pH and its homeostasis. Part of this result, according to the researchers, is related to the greater concentration of ammonia generated in the plaque of these caries-resistant subjects.⁴⁰

Another interesting observation is the one related with nephropatic patients. Some clinical studies have showed a high concentration of salivary urea in patients with chronic renal failure,^{47, 48} who presented a significant low incidence of dental caries^{36, 49, 50} in spite of consuming a diet based on carbon hydrates.⁴⁵

The reason for the low activity in the production of alkali in individuals with active caries may be related to the lack of urea as substratum, which generates a lower number of urease-producing organisms and less activity of such enzyme. Urea is usually found at high concentrations in dental plaque, which is rapidly hydrolyzed by the relatively high levels of urease in dental plaque and saliva.⁵¹ Nevertheless, it has been observed that individuals with low levels of urease have a reduced capacity of compensating glycolytic acidification, even if they are provided with a great amount of urea.⁵¹

It may well be that individuals with lower levels of urease activity have a reduced number of urease-producing bacteria. By supporting this idea, a recent study showed a considerable positive association between the number of *Streptococcus salivarius* and the urease levels.

El *Streptococcus salivarius* usa la urea como fuente de nitrógeno para su crecimiento, por un camino dependiente de ureasa.³⁴ Se ha confirmado la capacidad de la biopelícula oral y del *Streptococcus salivarius* para regular la expresión de ureasa en respuesta al aumento del pH, generando un impacto significativo sobre la biopelícula oral, pH, homeostasis y ecología microbiana.⁵²

Para destacar la importancia de esta actividad enzimática, se ha llegado a sugerir que la urealísis en la placa puede ser casi completamente explicada por el porcentaje de bacterias urealíticas presentes en la microbiota de la placa.⁴³

En esta misma línea de análisis, resultados de un estudio *in vitro* demostraron que niveles de actividad de ureasa producida por un mutante de *Streptococcus mutans* modificado o también llamado recombinante, podría estar relacionado con pequeños aumentos en la actividad de la ureasa, disminuyendo considerablemente la acidificación ambiental.²⁹

Clínicamente, se ha comprobado que la actividad de la ureasa en la placa se asocia con sujetos libres de caries, presentando altos niveles de actividad enzimática en estos individuos.⁴⁶ Esto concuerda con estudios anteriores en que la cantidad media de urealísis en la placa dental fue 2,5 veces más alto que en saliva. En aquel estudio la cantidad de urealísis en la placa era casi completamente explicado por el porcentaje total de bacterias urealíticas en la microbiota de la placa.⁴³

Otra variable importante que influye en la actividad de la ureasa es el entorno oral. El pH del medio afecta la capacidad del *Streptococcus salivarius* y el metabolismo de la ureasa, niveles de pH bajo 4 pueden inactivar la ureasa de los *Streptococcus salivarius*.^{53, 54}

En relación con la actividad de arginina deiminasa, se ha podido asociar un elevado nivel de arginina salival con resistencia a caries,¹⁸ y se ha empezado a estudiar clínicamente la capacidad de la biopelícula oral para producir álcali desde arginina y su relación con la caries.

El resultado de un reciente estudio muestra diferencia significativa entre los niveles de actividad de arginina deiminasa, entre individuos con diferentes estados de caries. Confirmando que los niveles de actividad de la arginina deiminasa, en saliva no estimulada, eran altos en sujetos libres de caries.⁵

Streptococcus salivarius uses urea as a source of nitrogen for growing, on a urease-dependent path.³⁴ It has been confirmed that both the oral biofilm and the *Streptococcus salivarius* have a capacity to regulate the urease expression in response to pH increase, thus generating a significant impact on oral biofilm, pH, homeostasis, and microbial ecology.⁵²

In order to underline the importance of this enzymatic activity, it has been suggested that urealísis in the plaque may be almost completely explained by the percentage of urealytic bacteria in the plaque's microbiota.⁴³

In the same direction, the results of an *in vitro* study showed that levels of urease activity produced by a mutant (or recombinant) *Streptococcus mutans* may be related to small increases of urease activity, considerably decreasing environment acidification.²⁹

It has been clinically proven that urease activity in the plaque is associated to caries-free subjects with high levels of enzymatic activity.⁴⁶ This agrees with previous studies in which the mean urealísis quantity in the dental plaque was 2.5 times higher than in saliva. In that study, the quantity of urealísis in the plaque was almost completely explained by the total percentage of urealytic bacteria in the plaque's microbiota.⁴³

Another important variable influencing urease activity is oral environment. The environment's pH affects both the *Streptococcus salivarius* capacity and the urease metabolism; pH levels under 4 may inactivate the urease of *Streptococcus salivarius*.^{53, 54}

In terms of arginine deiminase, an elevated level of salivary arginine has been associated with caries resistance,¹⁸ and current clinical studies have started to study the capacity of the oral biofilm to produce alkali from arginine, as well as its relation to caries.

The results of a recent study show significant differences between the levels of arginine deiminase activity among individuals with different caries status, thus confirming that levels of arginine deiminase activity in non-stimulated saliva were high in caries-free subjects.⁵

Adicionalmente el estudio mostró una considerable relación positiva, entre el número de *Streptococcus sanguinis* y los niveles de actividad de arginina deiminasa.

Es importante considerar que la actividad metabólica, de arginina deiminasa y ureasa, es de alta sensibilidad y los resultados del ensayo pueden variar dentro de las mismas especies de bacterias o entre diferentes cepas bacterianas de la misma especie. Otro aspecto importante de destacar es que las bacterias son sumamente dependientes de su entorno, tanto para la producción de ácido como de álcali.⁵

Nuevos estudios apuntan a identificar cepas bacterianas y asociaciones microbianas, capaces de contribuir para la total arginólisis y ureólisis en la cavidad oral. De igual forma, se pretende establecer la naturaleza y función de los factores que controlan la actividad que genera álcali en la microbiología oral.⁵

Sin embargo, mayores avances son necesarios en esta línea de investigación, para la total comprensión del rol que representan en la intimidad bioquímica de cada una de las partes involucradas en este proceso, y es de vital importancia establecer protocolos de investigación en la medición de esta actividad alcalinogénica, protocolo que permita ser reproducible a largo plazo, estableciendo una línea de acción, para la medición de esta actividad, y con ello establecer la base que permita a la cariología seguir los estudios, hacia la mayor comprensión de la microbiología, la bioquímica, y el impacto en la salud y en la enfermedad de la producción de álcalis en saliva y biopelícula oral humana.

El conocimiento de la actividad de estas enzimas podría proporcionar información valiosa para explicar por ejemplo los posibles efectos y mecanismos bioquímicos de acción de elementos terapéuticos que en su contenido presentan formulaciones que contengan urea como son los blanqueadores dentales o como pastas dentales que contienen arginina utilizadas para la disminución de la sensibilidad dentinaria, sobre las cuales también se ha reportado notable efecto inhibitorio en la aparición de nuevas lesiones cariosas y en su tasa de progresión, observándose que presentan resultados superiores a la sola utilización de fluoruros, constituyendo una simple y económica herramienta para reducir sustancialmente una de las enfermedades prevalentes en los niños.^{55, 56}

Additionally, this study showed a considerable positive relation between the number of *Streptococcus sanguinis* and the levels of arginine deiminase activity.

It is important to consider that the metabolic activity of both, arginine deiminase and urease, is highly sensitive, and the results of the trial may vary within the same bacteria species or among different bacterial strains of the same species. Another important aspect to underline is that bacteria are extremely dependent of their environment for production of both, acid and alkali.⁵

Newer studies seek to identify bacterial strains and microbial associations capable of contributing to the total arginolysis and ureolysis in the oral cavity. Similarly, they pretend to establish the nature and function of the factors that control the activity that produces alkali in oral microbiology.⁵

Nevertheless, further advances are needed in this direction in order to totally understand the role of each of the involved parts in their biological intimacy; it is also critical to establish research protocols for measuring this alkalinogenic activity. Such protocols should be reproducible in the long term in order to define a line of action for the measurement of this activity and to provide cariology with a base that allows following the studies towards a better understanding of microbiology, biochemistry, and the impact of the production of alkalis in saliva and human oral biofilm on health and disease.

Knowing the activity of these enzymes may provide valuable information to explain, for example, the possible effects and biochemical mechanisms of action of therapeutic elements that contain urea such as dental whitening products or toothpaste containing arginine, which are used to reduce teeth sensitivity. The inhibitory effect of such products on the occurrence of new carious lesions and their progression rate has been reported, as well as their superior performance compared to the single use of fluorides, thus constituting a simple and economic tool to substantially reduce one of the prevalent diseases in children.^{55, 56}

CONCLUSIÓN

La alcalinización del medio oral, autogenerada a través de una microbiota específica y sustratos determinados puede ser una gran contribución a la prevención de la caries dental. La evidencia actual indicaría que la producción de amonio por urealisis y por el sistema de arginina deiminasa, podrían inhibir potencialmente el desarrollo de la caries dental, a través de la neutralización de ácidos y estabilización de la microbiota oral, dando origen a condiciones afines con salud oral. Adicionalmente, se ha estudiado el rol que cumplen ciertas especies bacterianas en este proceso, encontrándose positiva relación entre esta actividad enzimática y especies como *Streptococcus sanguinis* y *Streptococcus salivarius*.

CORRESPONDENCIA

Gustavo Moncada C.
Avenida Kennedy 7120 Of. 301
Vitacura, RM, Santiago, Chile
Correo electrónico: gmoncada@adsl.tie.cl
Teléfono: 562-656-7051
Fax: 562-655-9082

CONCLUSION

Alkalization of the oral environment, self-generated by means of a given microbiota and specific substrates, may be a great contribution to the prevention of dental caries. Current evidence would indicate that ammonia production by urease and the arginine deiminase system could potentially inhibit the development of tooth decay by neutralizing acids and stabilizing the oral microbiota, thus providing conditions that favor oral health. Besides, the role of certain species in this process has been studied, showing a positive relation between this enzymatic activity and species such as *Streptococcus sanguinis* and *Streptococcus salivarius*.

CORRESPONDING AUTHOR

Gustavo Moncada C.
Avenida Kennedy 7120 Of. 301
Vitacura, RM, Santiago, Chile
E-mail address: gmoncada@adsl.tie.cl
Phone number: 562-656-7051
Fax: 562-655-9082

REFERENCIAS / REFERENCES

- Petersen PE, Bourgeois D, Ogawa H, Estupinan-Day S, Ndiaye C. The global burden of oral diseases and risks to oral health. *Bull World Health Organ.* 2005; 83(9): 661-669.
- Petersen PE. Continuous improvement of oral health in the 21st century-the approach of the WHO Global Oral Health Programme. *Community Dent Oral Epidemiol* 2003; 31 (supl 1): 3-23.
- Beltrán-Aguilar ED, Barker LK, Canto MT, Dye BA, Gooch BF, Griffin SO et al. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Surveillance for dental caries, dental sealants, tooth retention, edentulism, and enamel fluorosis-United States, 1988-1994 and 1999-2002 *MMWR Surveill Summ* 2005; 54(3): 1-43.
- US Department of Health and Human Services. Oral health in America: a report of the surgeon general. Rockville: US Department of Health and Human Service, National Institute of Dental and Craniofacial Research, National Institutes of Health; 2000.
- Nascimento MM, Gordan VV, Garvan CW, Browngardt CM, Burne RA. Correlations of oral bacterial arginine and urea catabolism with caries experience. *Oral Microbiol Immunol* 2009; 24(2): 89-95.
- Bradshaw DJ, Marsh PD. Analysis of pH-driven disruption of oral microbial communities in vitro. *Caries Res* 1998; 32(6): 456-462.
- Burne RA. Oral streptococci... products of their environment. *J Dent Res* 1998; 77(3): 445-452.
- Marsh PD. Microbial ecology of dental plaque and its significance in health and disease. *Adv Dent Res* 1994; 8(2): 263-271.
- Van Houte J, Lopman J, Kent R. The predominant cultivable flora of sound and carious human root surfaces. *J Dent Res* 1994; 73(11): 1727-1734.
- Bradshaw DJ, McKee AS, Marsh PD. Effects of carbohydrate pulses and pH on population shifts within oral microbial communities. *J Dent Res* 1989; 68(9): 1298-1302.
- Dennis DA, Gawronski TH, Sudo SZ, Harris RS, Folke LA. Variations in microbial and biochemical components of four-day plaque during a four-week controlled diet period. *J Dent Res* 1975; 54(4): 716-722.
- Featherstone JD. The science and practice of caries prevention. *J Am Dent Assoc* 2000; 131(7): 887-899.
- Loesche WJ. Role of *Streptococcus mutans* in human dental decay. *Microbiol Rev* 1986; 50(4): 353-380.

14. Marsh PD, Bradshaw DJ. Dental plaque as a biofilm. *J Ind Microbiol* 1995; 15(3): 169-175.
15. Stephan RM. Changes in hydrogenion concentration on tooth surfaces and in carious lesions. *J Am Dent Assoc* 1940; 27(5): 718-723.
16. Burne RA, Marquis RE. Alkali production by oral bacteria and protection against dental caries. *FEMS Microbiol Lett* 2000; 193(1): 1-6.
17. Kleinberg I. A mixed-bacteria ecological approach to understanding the role of the oral bacteria in dental caries causation: an alternative to *Streptococcus mutans* and the specific-plaque hypothesis. *Crit Rev Oral Biol Med* 2002; 13(2): 108-125.
18. Van Wuyckhuysse BC, Perinpananayam HER, Bevacqua D, Raubertas RF, Billings RJ, Bowen WH et al. Associations of free arginina and lysine concentrations in human parotid saliva with caries experience. *J Dent Res* 1995; 74(7): 686-690.
19. Aas JA, Griffen AL, Dardis SR, Lee AM, Olsen I, Dewhirst FE et al. Bacteria of dental caries in primary and permanent teeth in children and young adults. *J Clin Microbiol* 2008; 46(4): 1407-1417.
20. Becker MR, Paster BJ, Leys EJ, Leys EJ, Moeschberger ML, Kenyon SG et al. Molecular analysis of bacterial species associated with childhood caries. *J Clin Microbiol* 2002; 40(3): 1001-1009.
21. Bowden GH. Possibilities for modifying the caries attack by altering the oral microflora. *J Can Dent Assoc* 1984; 50(2): 169-172.
22. Corby PM, Lyons-Weiler J, Bretz WA, Hart TC, Aas JA, Boumenna T et al. Microbial risk indicators of early childhood caries. *J Clin Microbiol* 2005; 43(11): 5753-5759.
23. Dawes C, Dibdin GH. Salivary concentrations of urea released from a chewing gum containing urea and how these affect the urea content of gel-stabilized plaques and their pH after exposure to sucrose. *Caries Res* 2001; 35(5): 344-353.
24. Dibdin GH, Dawes C. A mathematical model of the influence of salivary urea on the pH of fasted dental plaque and on the changes occurring during a cariogenic challenge. *Caries Res* 1998; 32(1): 70-74.
25. Kleinberg I. Effect of urea concentrations on plaque pH in vivo. *J Dent Res* 1961; 40(4): 751-752.
26. Sissons CH, Hancock EM, Cutress TW. The source of variation in ureolysis in artificial plaques cultured from human salivary bacteria. *Arch Oral Biol* 1988; 33(10): 721-726.
27. Sissons CH, Hancock EM, Perinpanayagam HE, Cutress TW. The bacteria responsible for ureolysis in artificial dental plaque. *Arch Oral Biol* 1988; 33(10): 727-733.
28. Gordan VV, Garvan CW, Ottenga ME, Schulte R, Harris PA, McEdward D et al. Could alkali production be considered an approach for caries control? *Caries Res* 2010; 44(6): 547-554.
29. Clancy KA, Pearson S, Bowen WH, Burne RA. Characterization of recombinant, ureolytic *Streptococcus mutans* demonstrates an inverse relationship between dental plaque ureolytic capacity and cariogenicity. *Infect Immun* 2000; 68(5): 2621-2629.
30. Clancy KA, Burne RA. Construction and characterization of a recombinant ureolytic *Streptococcus mutans* and its use to demonstrate the relationship of urease activity to pH modulating capacity. *FEMS Microbiol Lett* 1997; 151(2): 205-211.
31. Imfeld TN, Birkhed D, Lingstrom P. Effect of urea in sugar-free chewing gums on pH recovery in human dental plaque evaluated with three different methods. *Caries Res* 1995; 29(3): 172-180.
32. Stephen KW. Caries in young populations-worldwide. En: Bowen WH, Tabak LA eds. *Cariology for the Nineties*. Rochester: University of Rochester Press; 1993. p. 37-50.
33. Kleinberg I. Effect of urea concentration on human plaque pH levels in situ. *Arch Oral Biol* 1967; 12(12): 1475-1484.
34. Chen YY, Weaver CA, Burne RA. Dual functions of *Streptococcus salivarius* urease. *J Bacteriol* 2000; 182(3): 4667-4669.
35. Biswas SD, Kleinberg I. Effect of urea concentration on its utilization, on the pH and the formation of ammonia and carbon dioxide in a human salivary sediment system. *Arch Oral Biol* 1971; 16(7): 759-780.
36. Al-Nowaiser A, Roberts GJ, Trompeter RS, Wilson M, Lucas VS. Oral health in children with chronic renal failure. *Pediatr Nephrol* 2003; 18(1): 39-45.
37. Golub LM, Borden SM, Kleinberg I. Urea content of the gingival crevicular fluid and its relationship to periodontal disease in humans. *J Periodontal Res* 1971; 6(4): 243-251.
38. Kopstein J, Wong OM. The origin and fate of salivary urea and ammonia in man. *Clin Sci Mol Med* 1977; 52(1): 9-17.
39. Kleinberg I. Prevention and dental caries. *J Prev Dent* 1978; 5(3): 9-17.
40. Margolis HC, Duckworth JH, Moreno EC. Composition and buffer capacity of pooled starved plaque fluid from caries-free and caries-susceptible individuals. *J Dent Res* 1988; 67(12): 1476-1482.
41. Margolis HC, Duckworth JH, Moreno EC. Composition of pooled resting plaque fluid from caries free and caries-susceptible individuals. *J Dent Res* 1988; 67(12): 1468-1475.
42. Shu M, Browgardt CM, Chen YY, Burne RA. Role of urease enzymes in stability of a 10-species oral biofilm consortium cultivated in a constant-depth film fermenter. *Infect Immun*. 2003; 71(12): 7188-7192.
43. Sissons CH, Cutress TW. PH changes during simultaneous metabolism of urea and carbohydrate by human salivary bacteria in vitro. *Arch Oral Biol* 1988; 33(8): 579-587.

44. Turtola LO, Luoma H. Plaque pH in caries-active and inactive subjects modified by sucrose and fluoride, with and without bicarbonate-phosphate. *Scand J Dent Res* 1972; 80(4): 334-343.
45. Peterson S, Woodhead J, Crall J. Caries resistance in children with chronic renal failure: plaque pH, salivary pH, and salivary composition. *Pediatr Res* 1985; 19(8): 796-799.
46. Shu M, Morou-Bermudez E, Suarez-Perez E, Rivera-Miranda C, Browngardt CM, Chen YY et al. The relationship between dental caries status and dental plaque urease activity. *Oral Microbiol Immunol* 2007; 22(1): 61-66.
47. Shannon IL, Feller RP, Eknoyan G, Suddick RP. Human parotid saliva urea in renal failure and during dialysis. *Arch Oral Biol* 1977; 22(2): 83-86.
48. Epstein SR, Mandel I, Scoop IW: Salivary composition and calculus formation in patients undergoing hemodialysis. *J Periodontol* 1980; 51(6):336-338.
49. Ertugrul F, Elbek-Cubukcu C, Sabah E, Mir S. The oral health status of children undergoing hemodialysis treatment. *Turk J Pediatr* 2003; 45(2):108-113.
50. Sirrakou M. Plaque pH and plaque organic acid production in end-stage renal dialysis patients on hemodialysis. Rochester: University of Rochester Press; 1994. MSc thesis.
51. Sissons CH, Cutress TW, Pearce EI. Kinetics and product stoichiometry of ureolysis by human salivary bacteria and artificial mouth plaques. *Arch Oral Biol* 1985; 30(11-12): 781-790.
52. Li YH, Chen YY, Burne RA. Regulation of urease gene expression by *Streptococcus salivarius* growing in biofilms. *Environ Microbiol* 2000; 2(2): 169-177.
53. Sissons CH, Perinpanayagam HE, Hancock EM, Cutress TW. PH regulation of urease levels in *Streptococcus salivarius*. *J Dent Res* 1990; 69(5): 1131-1137.
54. Sissons CH, Hancock EM. Urease activity in *Streptococcus salivarius* at low pH. *Arch Oral Biol* 1993; 38(6): 507-516.
55. Acevedo AM, Machado C, Rivera LE, Wolff M, Kleinberg I. The inhibitory effect of an arginine bicarbonate/calcium carbonate CaviStat-containing dentifrice on the development of dental caries in Venezuelan school children. *J Clin Dent* 2005; 16(3): 63-70.
56. Acevedo AM, Montero M, Rojas-Sánchez F, Machado C, Rivera LE, Wolff M et al. Clinical evaluation of the ability of CaviStat in a mint confection to inhibit the development of dental caries in children. *J Clin Dent* 2008; 19(1): 1-8.