



**CAPACIDAD AMORTIGUADORA Y PH SALIVAL EN MUJERES EN ETAPA REPRODUCTIVA Y  
MENOPÁUSICA POR EFECTO DE LA TERAPIA HORMONAL. PRUEBA PILOTO**  
**BUFFER CAPACITY AND SALIVARY PH IN MENOPAUSAL AND REPRODUCTIVE AGE WOMEN BY HORMONAL  
THERAPY EFFECT. PILOT STUDY**

*Recibido para Arbitraje: 25/07/2014*

*Aceptado para Publicación:*

**Luciano-Muscio, Rosa.** Profesor Asistente, Jefe de la Cátedra de Bioquímica de la Facultad de Odontología, Universidad Central de Venezuela.

**RESUMEN**

**OBJETIVO:** El propósito de este estudio fue evaluar la capacidad amortiguadora y pH salival de mujeres en etapa reproductiva sin terapia hormonal, con [anticonceptivos] (AC) y en etapa menopáusica. **MÉTODO:** Se recolectaron muestras de saliva estimulada (SE) y no estimulada (SNE) en 9 mujeres de entre 33 y 56 años de edad, las cuales se dividieron en tres grupos; el grupo 1, constituido por mujeres en etapa reproductiva sin terapia hormonal (grupo control), el grupo 2, constituido por mujeres en etapa reproductiva con terapia hormonal [anticonceptivos] AC y el grupo 3, constituido por mujeres en etapa menopáusica. La capacidad amortiguadora salival se determinó por titulación ácido-base utilizando el método descrito por Singer y col. (1983). El pH se midió en un potenciómetro marca Orion, modelo 710A y un electrodo para pH Accumet Fisher Scientific. **RESULTADOS:** La capacidad amortiguadora en SNE fue de  $(7,8 \pm 2,0)$  en el grupo control;  $(38,1 \pm 22,4)$  en las mujeres con terapia hormonal (AC) y  $(12,6 \pm 2,4)$  en el grupo de mujeres menopáusicas. Cuando se evaluaron las muestras de SE, el comportamiento fue similar y los resultados observados fueron  $(37,56 \pm 20,84)$  en el grupo 2 respecto al control  $(13,8 \pm 3,2)$ . No se observaron cambios en el pH tanto de la SE como SNE en los grupos evaluados a excepción del grupo 2 donde el pH fue significativamente menor ( $p < 0,05$ ). **Conclusión:** Los resultados parecían indicar que el uso de terapia hormonal con anticonceptivos (estrógenos) produce una modificación tanto en el pH como en la capacidad amortiguadora de la saliva.

**PALABRAS CLAVE:** pH salival, capacidad amortiguadora de la saliva, anticonceptivos, menopausia.

**ABSTRACT**

**OBJECTIVE:** The purpose of this study was to evaluate the salivary pH and buffering capacity of reproductive age women, without hormonal therapy, with [contraceptive] (CC) and menopausal. **METHOD:** Samples of stimulated (SS) and unstimulated (USS) saliva were collected in 9 women between 33 and 56 years old, which were divided into three groups; Group 1, consisting of women of reproductive age without hormonal therapy (control group), group 2, consisting of women of reproductive age with hormone therapy [contraceptive] (CC) and group 3, consisting of menopausal women. Salivary buffering capacity was determined by acid-base titration using the method described by Singer et al. (1983). The pH was measured with an Orion potentiometer, model 710A and a Fisher

Scientific Accumet electrode. **RESULTS:** The buffering capacity in SNE, was  $(7.8 \pm 2.0)$  in the control group,  $(38.1 \pm 22.4)$  in women with AC and  $(12.6 \pm 2.4)$  in the group of menopausal women. When samples were evaluated SE, the behavior was similar and the observed results were  $(37.56 \pm 3.2)$  in group 2 over control group  $(13,8 \pm 3,2)$ . No changes in the pH of both the SE as SNE evaluated in groups 2 , group except where the pH was significantly lower ( $p < 0.05$ ). **CONCLUSION:** The results seem to indicate that use of hormonal contraceptive therapy (estrogens) causes a change in both the pH and buffering capacity of saliva.

**KEY WORDS:** Salivary pH, buffering capacity of saliva, contraception, menopause.

## INTRODUCCIÓN

La saliva es un fluido acuoso de la cavidad bucal que está constituido por una mezcla compleja de productos de secreción orgánica e inorgánica de las glándulas salivales y otras sustancias provenientes de las vías aéreas superiores, orofaringe, reflujo gastrointestinal, fluido crevicular y depósitos de alimentos, entre otros<sup>1,2</sup>. Es el fluido del cuerpo más complejo y versátil, cumple una serie de funciones; en el tracto digestivo, en el esófago, en el proceso digestivo y en la protección de las células gástricas. Participa en la masticación, deglución, habla, lubricación, protección de la mucosa bucal; posee actividad antibacteriana, antifúngica y antiviral; interviene en el proceso de remineralización del diente, además se destaca, su función amortiguadora que regula el pH salival y el de la placa dental<sup>3,4</sup>.

La saliva posee sistemas amortiguadores y reguladores del pH tales como las proteínas, sistema buffer fosfato, sistema buffer bicarbonato, siendo este último, el más importante de todos, la acción amortiguadora se realiza evitando cambios bruscos en el pH, y neutralizando la acción del ácido proveniente del metabolismo bacteriano por medio del sistema buffer bicarbonato / ácido carbónico<sup>5</sup>.

El flujo salival continuo, en ausencia de una estimulación externa, se denomina saliva en reposo o saliva no estimulada, mientras que la saliva estimulada se produce en presencia de estimulaciones externas como las comidas, los sabores, los olores, entre otros<sup>5</sup>.

La cantidad de saliva total segregada diariamente se encuentra entre 500 y 700 mL; la saliva no estimulada está entre 0,25 y 0,35 mL/min y la saliva estimulada puede llegar a 1,5 mL/min. En el flujo salival y cantidad de saliva, pueden influir otros factores como tamaño de las glándulas salivales, edad, estado emocional, posición del cuerpo, ritmo circadiano y estímulo gustativo. En el ciclo circadiano ocurre un aumento del flujo salival durante las 17 horas en la fase de vigilia y un mínimo durante el sueño, pudiendo llegar a cero. El estímulo gustativo, que es el más intenso de todos, induce a un incremento del flujo salival de hasta diez (10) veces, siendo el sabor ácido el más penetrante, seguido del dulce, salado y amargo<sup>6,7</sup>.

El pH salival de la cavidad bucal oscila entre 6,7 y 7,5<sup>6</sup>. Dependiendo de la dieta, si es rica en carbohidratos se produce un descenso del pH, si es rica en proteínas, se produce un aumento del pH. La saliva tiene la capacidad de neutralizar los ácidos, amortiguando las variaciones del pH, capacidad basada en los sistemas bicarbonato / ácido carbónico; fosfato / ácido fosfórico<sup>8</sup>.

El agua constituye el mayor componente salival, representa el 99% de su composición. Los componentes sólidos orgánicos e inorgánicos, son moléculas que se encuentran disueltas en el medio acuoso y pueden variar ampliamente de un individuo a otro e incluso, en el mismo individuo, varias veces en el día. Entre los componentes inorgánicos encontramos sodio ( $\text{Na}^+$ ), potasio ( $\text{K}^+$ ), cloro ( $\text{Cl}^-$ ), calcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ), bicarbonato ( $\text{HCO}_3^-$ ), magnesio ( $\text{Mg}^{2+}$ ) y amoníaco ( $\text{NH}_3$ ). La parte orgánica contiene productos de secreción corporal como: urea, ácido úrico y creatinina; productos de putrefacción: putrescina, cadaverina; lípidos como

colesterol y ácidos grasos, y más de 400 tipos de proteínas como: amilasa salival, mucinas, lisozimas, histatinas, cistatinas, lactoferrinas; proteínas ricas en prolina o derivadas del plasma como albúmina, inmunoglobulina A secretora, transferrina entre otras<sup>9,10</sup>.

El uso de la saliva para el análisis de hormonas se ha hecho cada día más atractivo para clínicos e investigadores, debido a que su recolección, ofrece una muestra no invasiva, libre de estrés y constituye una alternativa en la recolección de sangre para la determinación de parámetros endocrinos tales como hormonas esteroideas, aminos, péptidos y otros<sup>11</sup>.

La saliva ha sido objeto de estudio de numerosos endocrinólogos, durante 40 años han usado la saliva como muestra complementaria; revisiones de Riad-Fahmy y col. en 1982<sup>12</sup>, Lewis en 2006<sup>13</sup>, se han enfocado en el análisis salival de muchos esteroides reportando numerosos estudios que demuestran que el monitoreo de la saliva es un método alternativo para analizar distintos tipos de hormonas.

La saliva es un portador de la señalización de moléculas las cuales son transportadas en las glándulas salivales desde los vasos sanguíneos o son producidas independientemente por las glándulas. Las hormonas esteroideas conjugadas, entran a las glándulas salivales por difusión pasiva; las hormonas no conjugadas, entran en las glándulas salivales por mecanismos de transporte activo; o son expresadas y secretadas por las glándulas salivales<sup>11</sup>.

La velocidad con la cual las hormonas pueden ser transferidas desde la sangre a la saliva, es controlada por el paso a través de la capa lipofílica de los capilares y glándulas de las células epiteliales. Por consiguiente, las moléculas lipofílicas tales como hormonas esteroideas, son transferidas a través de estas barreras más rápidamente. La concentración de esteroides liposolubles no conjugados como el cortisol, refleja aproximadamente el 10% de la concentración del plasma<sup>15</sup>. Moléculas hidrofílicas tales como los péptidos, y las aminos<sup>13,14</sup>, viajan por difusión pasiva, pasando a través de las paredes de los capilares, membrana basal y células acinares de las piezas secretorias terminales, a través de un gradiente de concentración y proteínas de transporte ancladas en la membrana celular. Algunos péptidos hormonales como la insulina<sup>16</sup> son transportados activamente en saliva desde sus tejidos de origen, mientras que algunas citoquinas<sup>17,18</sup>, son producidas en las mismas glándulas salivales. La selectividad de este transporte activo es demostrada por el hecho de que la insulina aparece en saliva a concentraciones similares que en el plasma después de la absorción de glucosa, pero el producto de su escisión, el péptido C, que es de un tamaño similar a la insulina, no entra en la saliva.

Los péptidos que se originan en las glándulas salivales se secretan por exocitosis directamente en el lumen acinar. El transporte activo dependiente de energía, provoca dificultades en la interpretación de las concentraciones salivales, porque las concentraciones de los péptidos salivales no siempre se correlacionan con las concentraciones del plasma, al igual que las concentraciones de esteroides que difunden pasivamente. Cabe destacar, que citoquinas como el factor de necrosis tumoral y moléculas como la leptina, aparecen en concentraciones más bajas en la saliva que en el plasma<sup>19,20</sup>. Se ha observado que las concentraciones en saliva de otras citoquinas, como el factor de crecimiento epidermal<sup>21</sup> y la grelina<sup>22</sup>, pueden ser iguales o superiores a las del plasma.

Debido a que los intervalos de referencia no están disponibles para las concentraciones salivales de hormonas peptídicas, los investigadores generalmente usan cualitativamente dichas hormonas, como sustancias marcadoras para determinadas enfermedades bucales más que como una alternativa no invasiva para mediciones cuantitativas.

## OBJETIVO

Determinar la capacidad amortiguadora y el pH salival en mujeres en etapa reproductiva sin terapia hormonal, con terapia hormonal AC y en etapa menopáusica.

## MÉTODO

Se recolectaron muestras de SE y SNE de 9 mujeres en edades comprendidas entre 33 y 56 años, las cuales se dividieron en tres grupos: el grupo 1 corresponde al control (mujeres en etapa reproductiva sin terapia hormonal), el grupo 2 (mujeres en etapa reproductiva con terapia hormonal [anticonceptivos] (AC) y el grupo 3 (mujeres en etapa menopáusica). A la saliva recolectada se le agregaron 3 gotas de aceite mineral para evitar la pérdida de CO<sub>2</sub>. Se tomaron 0,8 mL de cada muestra de saliva y se titularon siguiendo el método descrito por Singer y col. (1983), variando la concentración de HCl a 0,05 M (molar). El pH se midió en un potenciómetro marca Orion, modelo 710A y un electrodo para pH Accumet Fisher Scientific.

## RESULTADOS

En las Tablas 1a.y 1b. se muestra el pH y la capacidad amortiguadora de la SE y SNE, dicha capacidad fue calculada como los microequivalentes de ácido clorhídrico ( $\mu\text{eq}/\text{HCl}$ ) necesarios para producir un cambio de pH desde el inicial ( $\text{pH}_i$ ) hasta pH 4 o pH final ( $\text{pH}_f$ ). Al evaluar las muestras de SE, se observa que el grupo de mujeres con terapia hormonal AC posee una mayor capacidad amortiguadora que el grupo control.

En la Tabla 1b el patrón de comportamiento del flujo salival en mujeres en climaterio es similar, es decir, hay mayor capacidad amortiguadora en SE, no obstante, es menor si se compara con el grupo bajo terapia hormonal AC.

En las Tablas 2a y 2b se evaluó el pH y la capacidad amortiguadora, expresada como los microequivalentes de Hidróxido de Sodio ( $\mu\text{eq}/\text{NaOH}$ ) necesarios para producir un cambio de pH desde el  $\text{pH}_i$  hasta pH 10 o  $\text{pH}_f$ . Al evaluar la SE se observa que el grupo de mujeres menopáusicas tuvo mayor capacidad amortiguadora que las del grupo control, pero en la saliva no estimulada la mayor capacidad amortiguadora se presenta en el grupo de mujeres con terapia hormonal AC en comparación al grupo control. En los dos tipos de saliva el comportamiento fue muy similar a excepción del grupo de mujeres con menopausia donde la cantidad de  $\mu\text{eq}/\text{NaOH}$  necesarios para producir el cambio de pH fue mayor aunque no significativo en comparación al grupo con terapia hormonal AC y grupo control. No se observaron cambios en el pH tanto de la SE como la SNE en los grupos evaluados a excepción de grupo con terapia hormonal AC, donde el pH fue significativamente menor ( $p < 0,05$ ).

**Tabla 1a.  $\text{pH}_i$  y Capacidad Amortiguadora de la saliva en Mujeres con Tratamiento Hormonal (Anticonceptivos). Prueba Piloto**

GRUPOS	$\text{pH}_i$ SALIVAL		CAPACIDAD AMORTIGUADORA ( $\mu\text{eq}/\text{HCL}$ necesarios para titular hasta pH 4)	
	SNE	SE	SNE	SE
CONTROL	7,26	7,79	7,8 ± 2,0	13,8 ± 3,2
TERAPIA HORMONAL (AC)	6,74	7,42	3,81 ± 22,46	37,56 ± 20,84

**Tabla 1b.  $\text{pH}_i$  y Capacidad Amortiguadora de la saliva en Mujeres Menopáusicas. Prueba Piloto**

GRUPOS	$\text{pH}_i$ SALIVAL	CAPACIDAD AMORTIGUADORA
--------	-----------------------	-------------------------

			<i>(<math>\mu\text{eq}/\text{HCL}</math> necesarios para titular hasta pH 4)</i>	
	<i>SNE</i>	<i>SE</i>	<i>SNE</i>	<i>SE</i>
<b>CONTROL</b>	7,26	7,79	7,8 $\pm$ 2,0	13,8 $\pm$ 3,2
<b>MENOPAUSICAS</b>	7,28	7,45	12,6 $\pm$ 2,4	18,45 $\pm$ 4,27

**Tabla 2a. pH<sub>i</sub> y Capacidad Amortiguadora de la saliva en Mujeres con Tratamiento Hormonal (Anticonceptivos). Prueba Piloto**

<b>GRUPOS</b>	<b>pH<sub>i</sub>SALIVAL</b>		<b>CAPACIDAD AMORTIGUADORA</b> <i>(<math>\mu\text{eq}/\text{NaOH}</math> necesarios para titular hasta pH 10)</i>	
	<i>SNE</i>	<i>SE</i>	<i>SNE</i>	<i>SE</i>
<b>CONTROL</b>	7,24	8,17	15,6 $\pm$ 9,4	8,1 $\pm$ 6,3
<b>TERAPIA HORMONAL (AC)</b>	6,81	7,37	30,03 $\pm$ 19,65	25,23 $\pm$ 15,64

**Tabla 2b. pH<sub>i</sub> y Capacidad Amortiguadora de la saliva en Mujeres Menopáusicas. Prueba Piloto.**

<b>GRUPOS</b>	<b>pH<sub>i</sub>SALIVAL</b>		<b>CAPACIDAD AMORTIGUADORA</b> <i>(<math>\mu\text{eq}/\text{NaOH}</math> necesarios para titular hasta pH 10)</i>	
	<i>SNE</i>	<i>SE</i>	<i>SNE</i>	<i>SE</i>
<b>CONTROL</b>	7,24	8,17	15,6 $\pm$ 9,4	8,1 $\pm$ 6,3
<b>MENOPAUSICAS</b>	7,43	7,52	28,2 $\pm$ 13,73	37,35 $\pm$ 11,25

#### **DISCUSIÓN:**

La saliva es esencial para el mantenimiento de la salud bucal; el número de mujeres que reciben algún tipo de hormonas, bien sea anticonceptivas o formando parte de Terapias de Reemplazo Hormonal, va en aumento, por lo que es importante analizar qué tanto afectan a la saliva las hormonas administradas a la mujer bajo algún tipo de tratamiento<sup>23</sup>. En el presente estudio, el pH y la capacidad amortiguadora fueron evaluadas en mujeres en etapa reproductiva sin terapia hormonal, con terapia hormonal anticonceptiva (AC) y mujeres menopáusicas. Se observó que mujeres con terapia hormonal AC poseen pH y capacidad amortiguadora mayor que el grupo control. Las diferencias no son estadísticamente significativas, pero dado que es una prueba piloto, las tendencias observadas no deben ser menospreciadas, se debe repetir el estudio con grupos más grandes de mujeres. Por otra parte, Maesh y col<sup>23</sup>. realizaron una investigación en la cual obtuvieron valores de pH salival en mujeres postmenopáusicas significativamente más bajos que en mujeres del grupo control. Sin embargo, el estudio hecho por Yalçın<sup>24</sup> contrasta con los hallazgos de Maesh, los cuales fueron llevados a cabo usando saliva no estimulada. Observaciones de Laine y Leimola-Virtanen<sup>25</sup>, no mostraron cambios significativos en el pH pero no concuerdan con Sewón<sup>26</sup> quien mostró aumento de los valores del pH durante terapia hormonal en mujeres menopáusicas.

#### **CONCLUSIÓN**

Los resultados parecieran indicar que el uso de terapia hormonal con anticonceptivos tipo estrógenos, produce una modificación tanto en el pH como en la capacidad amortiguadora de la saliva. Una evaluación más detallada y con muestras representativas de mujeres deberá ser ejecutada, siendo muy cuidadosos en las modificaciones del fluido salival debido a la edad y las terapias anticonceptivas y/o de reemplazo hormonal.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Dodds MW, Jonson DA, Yeh CK. Health benefits of saliva: a review. *J Dent* 2005; 33: 223-33.
2. Douglas CR. Tratado de fisiología aplicada a saúde. Sao Paulo: Robe Editorial; 2002.
3. Mandel ID. The role of saliva in maintaining oral homeostasis. *J Am Dent Assoc* 1989; 119:298-304.
4. Denny PC, Denny PA, Klauser DK, Hong SH, Navazesh M, Tabak LA. Agerelated changes in mucins from human whole saliva. *J Dent Res* 1991; 70: 1320-7.
5. Caridad C. El pH, Flujo Salival y Capacidad Buffer en Relación a la Formación de la Placa Dental. *Odous Cientifica* 2008; 1: 25-32.
6. Cuenca E, Cuenca S. Baca. Saliva y Placa Bacteriana. En: *Odontología Preventiva y Comunitaria*. Masson; 2007.
7. Ramos M, VV Staff, Abud C. Síndrome de Sjögren. *Glándulas salivales y saliva*. 2003. P. 29-36.
8. Koparal E, Eronat C, Eronat N. In vivo assessment of dental plaque pH changes in children after ingestion of snack foods. *ASDC J Dent Child*. 1998; 65 (6):478-83.
9. Hofman LF. Human saliva as a diagnostic specimen. *J Nutr* 2001; 131: 1621-5.
10. Pereira Lima D, Garcia Diniz D, Saliba Moimaz SA, Hissako Sumida D, Okamoto AC. Saliva: reflection of the body. *International Journal of Infectious Diseases* 2010; e184-e188.
11. Groschl M. Current Status of Salivary Hormone Analysis. *Clinical Chemistry* 2008; 54:11 1759-1769.
12. Riad Fahmy D, Read GF, Walker RF, Griffiths K. Steroids in saliva for assessing endocrine function. *Endocr Rev* 1982; 3: 367-95.
13. Lewis JG. Steroid analysis in saliva: an overview. *Clin Biochem Rev* 2006; 27: 139-46.
14. Reiter RJ. Normal patterns of melatonin levels in the pineal gland and body fluids of humans and experimental animals. *J Neural Transm Suppl* 1986; 21: 35-54.
15. Vining RF, McGinley RA, Symons RG. Hormones in saliva: mode of entry and consequent implications for clinical interpretation. *Clin Chem* 1983; 29: 1752-6.
16. Popa M, Simionescu L, Dumitriu E, Dumitriu V, Giurca neanu M, Bartoc R, Dinulescu E. Serum tosaliva transfer of the immunoreactive insulin (IRI) in children with obesity associated with insulinresistance. *Endocrinologie* 1987; 25: 149-55.
17. Thesleff I, Viinikka L, Saxen L, Lehtonen E, Perheentupa J. The parotid gland is the main source of human salivary epidermal growth factor. *Life Sci* 1988; 43: 13-8.
18. Wu HH, Kawamata H, Wang DD, Oyasu R. Immunohistochemical localization of transforming growth factor alpha in the major salivary glands of male and female rats. *Histochem J* 1993; 25: 613-8.
19. Rhodus NL, Cheng B, Myers S, Miller L, Ho V, Ondrey F. The feasibility of monitoring NF-kappaB associated cytokines: TNF-alpha, IL-1alpha, IL-6, and IL-8 in whole saliva for the malignant transformation of oral lichen planus. *Mol Carcinog* 2005; 44: 77-82.
20. Groschl M, Rauh M, Wagner R, Neuhuber W, Metzler M, Tamguney G, et al. Identification of leptin in human saliva. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 5234-9.
21. Konturek JW, Bielanski W, Konturek SJ, Bogdal J, Oleksy J. Distribution and release of epidermal growth factor in man. *Gut* 1989; 30: 1194-200.
22. Groschl M, Topf HG, Bohlender J, Zenk J, Klusmann S, Dotsch J, et al. Identification of ghrelin in human saliva: Expression by the salivary glands and potential role on the proliferation of oral keratinocytes. *Clin Chem* 2005; 51: 997-1006.
23. Maesh DR, Komali G, Jayanthi K, Dinesh D, Saikavitha TV, Dinesh P. Evaluation of Salivary Flow Rate, pH and Buffer in Pre, Post & Post Menopausal Women on HRT. *J Clin Diagn Res* 2014; 8: 233-236.
24. Yalçin F, Gurgan S, Gurgan T. The effect of Menopause, Hormone Replacement Therapy (HRT), Alendronate (ALN), and Calcium Supplements on Saliva. *J Contemp Dent Pract* 2005; 6:10-17.
25. Leimola-Virtanen R, Laine M. Effect of hormone replacement therapy on salivary flow rate, buffer effect and pH on perimenopausal and postmenopausal women. *Arch Oral Biol* 1996; 41:91-96.
26. Sewón L, Laine M, Karjalainen S, Leimola-Virtanen R, Hiidenkari T, Helenius H. The effect of hormone replacement therapy on salivary calcium concentrations in menopausal women. *Arch Oral Biol* 2000; 45:201-206.