



REVISTA BIOCIENCIAS

Revista de la Facultad de Ciencias de la Salud

Vol. 18, Núm. 2 (2023)

BIOMARCADORES SALIVARES ASOCIADOS A ESTRÉS

Álvarez Maya, AI; Martín Vacas, A; Paz Cortés, MM

Universidad Alfonso X el Sabio

Facultad de Ciencias de la Salud

Villanueva de la Cañada

BIOMARCADORES SALIVARES ASOCIADOS A ESTRÉS

Álvarez Maya, AI

Estudiante Grado de Odontología. UAX

Martín Vacas, A

Profesora Asociada Grado en Odontología. UAX

Paz Cortés, MM

Profesora Asociada Grado en Odontología. Coordinadora Odontopediatria. Tutora TFG. UAX.

Dirección de correspondencia : Ana Isabel Álvarez Maya. anita_oviedo90@hotmail.com

RESUMEN

Introducción: La saliva es un fluido orgánico presente en la cavidad oral que contiene un 99% de agua y el resto, el 1% son componentes orgánicos e inorgánicos. El estrés es un sentimiento emocional que produce una tensión física y también es un factor de gran importancia como causante de patologías muy incidentes en la sociedad actual como puede ser la depresión o la ansiedad. Se ha estudiado que ante una situación de estrés elevado se produce un aumento tanto a nivel salival como plasmático de algunas sustancias químicas que pueden ser valoradas cuantitativamente, las cuales son conocidas como biomarcadores.

Objetivos: Evaluar la correlación entre los biomarcadores salivales y el estrés. Determinar cuáles presentan un desequilibrio de los ejes hipotalámico-pituitario-adrenal y el sistema nervioso simpático y analizarlos estudiando la cantidad presente en estudios de humanos sometidos a factores externos

Material y método: Revisión bibliográfica de la literatura seleccionando artículos de los últimos 5 años utilizando varias bases de datos científicas como Pubmed, Medline, Google Scholar, Clinicalkey.

Resultados/discusión: El biomarcador más relevante encontrado en saliva asociado al estrés analizado en estudios sobre humanos, concretamente en estudiantes y profesionales sanitarios es el aumento de cortisol. Aunque hay que señalar, que en estudios más recientes también se ha visto una importancia de la alfa-amilasa salival

Conclusiones: Algunos de los biomarcadores presentes en la saliva que están asociados al estrés son el cortisol, la inmunoglobulina A y la alfa-amilasa. En los estudios realizados en humanos sometidos a factores externos, el más elevado ha sido el cortisol, seguidamente de la cromogranina A y la alfa-amilasa salival. La mejor franja horaria para la recogida de muestras es a primeras horas de la mañana. El control y la disminución del estrés puede ayudar a tener una mejor calidad de vida.

PALABRAS CLAVE: *Biomarker, stress, hypothalamic-pituitary-adranl axis, cortisol, salivary.*

ABSTRACT

Introduction: Saliva is an organic fluid present in the oral cavity that contains 99% water and the remaining 1% are organic and inorganic components. Stress is an emotional feeling that produces physical tension and is also a factor of great importance as a cause of pathologies that are very common in today's society, such as depression or anxiety. It has been studied that in a situation of high stress there is an increase in both salivary and plasma levels of some chemical substances that can be quantitatively assessed, which are known as biomarkers.

Objectives: To evaluate the correlation between salivary biomarkers and stress. To determine which ones present an imbalance of the hypothalamic-pituitary-adrenal axes and the sympathetic nervous system and to analyze them by studying the amount present in studies of humans subjected to external factors.

Material and method: Bibliographic review of the literature selecting articles from the last 5 years using several scientific databases such as Pubmed, Medline, Google Scholar, Clinicalkey.

Results: The most relevant biomarker found in saliva associated with stress analyzed in human studies, specifically in students and health professionals, is the increase in cortisol. Although it should be noted that more recent studies have also shown the importance of salivary alpha-amylase.

Conclusions: Some of the biomarkers present in saliva that are associated with stress are cortisol, immunoglobulin A and alpha-amylase. In studies in humans subjected to external factors, cortisol has been the highest, followed by chromogranin A and salivary alpha-amylase. The best time for sample collection is early in the morning. Controlling and reducing stress can help to have a better quality of life.

KEY - WORDS: *Biomarker, stress, hypothalamic-pituitary-adrenal axis, cortisol, salivary*

1. INTRODUCCIÓN.

1.1. Estrés

Se define estrés como una respuesta psicofisiológica realizada por el cuerpo en respuesta a factores estresantes desafiantes, complejos e incluso indeseables. Es un término general que abarca síntomas divergentes, como latidos rápidos del corazón, mareos, dolores, mal estar, agitación, irritabilidad, preocupación, problemas de concentración y mal humor¹.

La exposición frecuente a factores estresantes llega a poner en desequilibrio el sistema del organismo y aumentar la disfunción neuroendocrina. La intensidad y la periodicidad de los factores estresantes combinándolos con la predisposición genética de una persona, también son unos factores importantes que pueden predecir qué condición puede aparecer después de la exposición al estrés².

Cuando una respuesta es insuficiente para ayudar en la amenaza percibida o real, los mecanismos reguladores y compensatorios se vuelven frágiles o defectuosos, derivándose en una respuesta al estrés crónica. Dando lugar a respuestas neuroendocrinas, metabólicas, cardiovasculares, emocionales e inmunológicas se vuelvan más persistentes y activas³⁻⁴.

El estrés fue definido también por Kenneth Hamblly⁵ como un estado con mala adaptación en el que el sistema nervioso simpático está sobre-activado, lo que produce unos efectos psicológicos y un deterioro físico. El estudio de biomarcadores de estrés sigue siendo una tarea difícil para los investigadores y médicos. En la actualidad, no hay un estándar universalmente reconocido para evaluar el estrés. Se han realizado diferentes estudios usando métodos para medir el estrés existente y estudiando marcadores biológicos como el cortisol o la amilasa^{4,5}.

El estrés crónico es definido como un estado desadaptativo asociado a una alteración de la inmunidad, del HPA y del sistema nervioso autónomo (SNA). Es de larga duración relacionado con una respuesta desadaptativa la cual produce efectos dañinos en el cuerpo^{3,6}.

El eje HPA endocrino comienza con unas cascadas neuronales y hormonales que además de otras funciones metabólicas como es el aumento de los niveles de azúcar en la sangre o la inhibición de la función inmunológica, ayuda a regular la respuesta del organismo al estrés. Secreta cortisol en respuesta a factores estresantes^{1,7}.

Existe la hipótesis de que después de estar expuesto un largo tiempo al estrés el eje HPA se vuelve menos sensible, lo que provoca una reducción de producción de cortisol de las glándulas suprarrenales⁸.

1.2. Biomarcadores

Se define biomarcador como una sustancia o proceso el cual es capaz de ser cuantificado y evaluado como indicador en una situación biológica normal o en estado patológico. El marcador debe presentar las siguientes características: objetivo, sensible, específico, estable y cuantificable⁹.

Yonekura et al.¹⁰ estudiaron la relación de los niveles de cortisol salival en jóvenes que sobrevivieron al terremoto de Japón. Detectaron que era complejo diferenciar a las personas con depresión severa solo basándose en los estudios de cortisol salival. Cuando estudiaron la diferencia en los niveles de cortisol salivar durante los tres días siguientes, encontraron que el grupo de jóvenes con síntomas severos de depresión tenía un aumento de cortisol salival matutino y vespertino más elevado comparándolo con el otro grupo de jóvenes con síntomas leves de depresión. La utilización de cortisol salival como biomarcador de estrés y depresión necesita más investigación, ya que la concentración de cortisol en la saliva está supeditada a la alteración y el ritmo circadiano de su secreción.

En la literatura podemos encontrar publicaciones que confirman la relación entre estrés y la concentración de cortisol, inmunoglobulina A (IgA), melatonina, cromogranina A (CgA), lisozima, alfa – amilasa y factor de crecimiento de fibroblastos en saliva¹¹⁻¹².

1.2.1. Biomarcadores salivares

La saliva es una matriz de mucha utilidad en temas endocrinológicos, es sencillo su almacenamiento y transporte, la posibilidad de efectuar varios ciclos de congelado y descongelado y el coste económico de los materiales necesarios para recogerla. Un dato muy importante es que la toma de la muestra no supone ninguna molestia para el paciente.⁷⁻¹³⁻¹⁴

La saliva es estable durante 24 horas a la temperatura ambiente y durante 7 días a 4 °C. Es secretada a la cavidad oral por las principales glándulas salivales: la sublingual, submandibular y la parótida, las cuales están bajo la inervación parasimpática directa de los nervios craneales VII (facial) y el IX (glossofaríngeo). El VII par inerva las glándulas sublingual y submandibular a través del ganglio submandibular, mientras que la parótida es inervada por el IX a través del ganglio ótico¹⁴.

1.2.1.1. Cromogranina A (CgA)

Un beneficio de saber la CgA salival comparándolo con los demás biomarcadores descritos anteriormente, es que los niveles de CgA no se ven alterados en ninguna hora del día. Aunque su punto máximo sea más o menos un poco después de despertarse, los niveles disminuyen abruptamente en una hora manteniéndose constantes a lo largo del día¹⁰. Hoy en día sus funciones no son del todo conocidas. Intervienen en numerosas actividades como la inhibición enzimática de proteasas, almacenaje de hormonas en vesículas secretoras y tienen un papel importante en la biogénesis de gránulos secretores, incluso cuando hay ausencia de hormonas¹²⁻¹⁴.

1.2.1.2. Opiorfina (OPI)

Es un polipéptido descubierto recientemente en la saliva humana, el cual aumenta la biodisponibilidad de las encefalinas que trabajan sobre los receptores opioides μ y δ en el sistema nervioso central (SNC), por lo que contiene propiedades analgésicas y antidepressivas. La secreción salival del OPI está influenciada por los ciclos ováricos y del estado hormonal, los cuales se sabe que afectan el trofismo de los tejidos orales. Este polipéptido también tiene un papel importante en el estrés mental y el dolor bucal¹⁴.

1.2.1.3. Cortisol

El cortisol también conocido como hidrocortisona, es una hormona esteroidea o glucocorticoide producida por la corteza suprarrenal, concretamente en la segunda mitad de la noche, por lo que los niveles de dicha hormona son más elevados entre las 7 am y las 8 am. Durante el día los niveles descienden, y cuando cae la noche aproximadamente solo el 10% del cortisol que permanece en el cuerpo es de por la mañana.

Por otro lado, las variaciones de cortisol durante el día pueden llegar a ser un indicador de un estado de ánimo negativo o de un elevado de estrés percibido. La hipersecreción de cortisol ha sido vista como una vía fisiológica en relación con los efectos de estrés crónico, con resultados dañinos para la salud por la disminución de la eficacia inmunológica. La hiposecreción de este y una bajada concomitante de la respuesta del sistema inmune ha sido percibida como una vía que liga el estrés de larga duración con una serie de trastornos en relación con la fatiga corporal y el agotamiento^{4,7}.

En una persona que está expuesta a un estrés las glándulas suprarrenales crean un aumento de cortisol. El cortisol activa el metabolismo, el cual produce energía y modifica las condiciones de las reacciones mentales. Los niveles elevados de cortisol a largo plazo pueden producir efectos dañinos y perjudiciales en el estado de ánimo, la obesidad y los niveles de glucosa en sangre. En cambio, los niveles bajos se relacionaron con dolor, fatiga, una sensibilidad alta al estrés como puede ser el síndrome de estrés postraumático¹⁴.

El cortisol prepara al cuerpo para la lucha y huida por lo que es un importante biomarcador en el estrés. El SNA participa en la regulación de los diferentes tipos de estrés. Por lo tanto, el cortisol es una sustancia que los investigadores con frecuencia establecen como biomarcador de estrés. Miller et al.¹⁰ en un meta-análisis entre el estrés fuerte en un corto plazo en relación con el eje HPA confirmaron la importancia del cortisol salival como biomarcador del estrés. En el estudio determinaron que cuando disminuía el factor estresante también disminuía el nivel matutino de cortisol en la saliva.

1.2.1.4. Inmunoglobulina A (IgA)

Es una glicoproteína que trabaja de forma sinérgica con otros compuestos como la alfa-amilasa, la lactoferrina y la lisozima. La IgA se correlaciona con una baja incidencia de caries. La presencia de caries activa puede elevar los niveles de IgA para poder inhibir la actividad bacteriana.

Los niveles de IgA en la saliva también se modifican en respuesta a factores psicológicos, en un estado de ánimo positivo se produce un aumento mientras que, en un estado de ánimo negativo o estímulos de estrés, disminuye¹⁵. El estrés agudo aumenta la liberación de la IgA, mientras que por otro lado el estrés crónico tiene un efecto inhibitorio, lo que ayuda a la capacidad del sistema inmunitario para proteger al cuerpo contra las enfermedades¹⁶.

1.2.1.5. Lisozima

Es una proteína catiónica con bajo peso molecular que es sintetizada y liberada a partir de los monocitos y macrófagos y es distribuida principalmente en los tejidos y secreciones, incluyendo la saliva. Le aporta propiedades antibacterianas a la saliva. Su función es defender la inmunidad del huésped frente a microorganismos patológicos, tiene la facilidad de hidrolizar los enlaces peptidoglicanos β -1,4-glucosídicos de la pared celular bacteriana. Perera et al.¹⁰ descubrieron concentraciones relativamente más bajas de lisozima en estudios de saliva conseguidas de estudiantes justo antes de empezar el examen comparándolas con las recopiladas después del examen, lo que revela que la lisozima salival puede servir como marcador importante de estrés. Yang et al.¹⁰ demostraron concentraciones de lisozima salival más bajas en enfermeras de urgencia que padecen un alto nivel de estrés, a diferencia con las enfermeras que habitualmente están con pacientes en salas de consulta normales. Hoy en día, esta proteína se usa como biomarcador para el diagnóstico de estrés crónico^{10,16}.

1.2.1.6. Alfa-Amilasa Salival (sAA)

Es la enzima digestiva más importante de la cavidad bucal, que, a parte de la hidrólisis del almidón y el glucógeno, tiene otra función inmunológica, la cual protege la cavidad bucal de los microorganismos. Es una de las enzimas principales del ser humano, la cual es secretada por las glándulas salivales bajo un estímulo simpático. Se puede medir de forma rápida y no invasiva mediante la recogida de la saliva¹⁷.

Ha sido reconocida como un marcador sensible a los estímulos los cuales ponen en funcionamiento el sistema simpático. Hay que señalar que los niveles de alfa-amilasa son muy bajos en la mañana, en cambio, al final del día son los más elevados. Cuando un paciente está sometido a estrés, la concentración de esta enzima aumenta velozmente, por lo que se le considera un biomarcador de la saliva importante. También es considerado como un indicador de la activación del sistema nervioso simpático (SNS), pero ligeramente diferente del cortisol. La sAA demostró correlaciones positivas con la frecuencia cardíaca, la intensidad del dolor y el cortisol, lo que indica una coordinación entre el HPA y SNS^{14,17}.

1.2.1.7. Factor de crecimiento de fibroblastos 2 (FGF-2)

Hay estudios en un alto grupo de personas las cuales fueron sometidas a diferentes estímulos de estrés, y los niveles de FGF-2 en la saliva se correlacionaron negativamente con la respuesta al estrés independientemente del estímulo aplicado. Por todo esto, puede ser usado como biomarcador. Las personas con una actividad reducida de este mitógeno en respuesta a el estrés pueden padecer con mayor probabilidad ansiedad¹⁰. Los factores estresantes leves, pueden elevar la actividad de FGF-2 en el hipocampo, y este aumento puede ser un mecanismo protector contra las consecuencias adversas al estrés¹⁸. Además, la desregulación del sistema FGF-2 está asociado a trastornos relacionados con el estrés^{10,19}.

2. OBJETIVOS

1. Evaluar la correlación entre los biomarcadores salivales y el estrés.
2. Determinar que biomarcadores salivares presentan un desequilibrio de los ejes hipotalámico-pituitario-adrenal y el sistema nervioso simpático
3. Analizar los biomarcadores presentes en estudios de seres humanos sometidos a factores externos

3. MATERIAL Y MÉTODO

La búsqueda de información acerca del tema se realizó con artículos publicados en los 5 últimos años. Se seleccionaron los artículos de este trabajo mediante varios criterios de inclusión y exclusión que fueron los siguientes:

3.1. Criterios de inclusión

- Artículos publicados a partir del año 2017 hasta 2022.
- Revisiones bibliográficas.
- Artículos con estudios realizados en personas.
- Artículos en inglés y español.
- Acceso libre y texto completo.
- Artículos de páginas webs oficiales.

3.2. Criterios de exclusión

- Artículos publicados antes del año 2017.
- Publicaciones que no sean en inglés o español.
- Artículos repetidos.
- Publicaciones sin relevancia científica.
- Artículos con estudios en animales.

4. RESULTADOS

Título	Autor y Año	Muestra	Resultados
A Review of Psychological Stress among Students and Its Assessment Using Salivary Biomarkers	Bruno Spiljak et al, 2022	91 estudiantes universitarios	Los estudiantes durante un periodo de exámenes de verano, los que consiguieron aprobar, alcanzaron un mejor promedio de calificaciones, tenían una mayor capacidad de mantener la calma durante el estrés. También tenían niveles más elevados de dehidroepiandrosterona (DHEA), una hormona que disminuye el efecto negativo de la actividad del eje HPA inducida por el estrés.
Stress experience and performance during an oral exam: the role of self-efficacy, threat appraisals, anxiety, and cortisol	Ringeisen et al, 2019	92 estudiantes	Se observó una reducción de la ansiedad después del examen. No se pudo verificar un sinergismo entre la ansiedad y los niveles de cortisol. La confianza en sí mismo mostró tendencias opuestas a la evaluación del riesgo y los niveles de ansiedad en el día de control. Las evaluaciones de mayor riesgo fueron vinculadas con más ansiedad. Una disminución de la ansiedad el día del examen condujo a un mayor rendimiento.
Neuroendocrine stress responses to an oral academic examination: No strong influence of sex, repeated participation and personality traits	Ng et al, 2013	40 estudiantes universitarios	Estudiaron la diferencia en la percepción subjetiva de estrés antes y después de un examen académico y la asociación con las calificaciones obtenidas. Estudiaron niveles de cortisol, IgA y CgA y la asociación en la saliva con niveles de estrés antes y después el examen. Los estudiantes presentaron niveles considerablemente más altos de estrés antes que después de examinarse.
Circadian rhythm of human salivary chromogranin A	Rei Den et al, 2007	63 estudiantes	Estudiaron el ritmo circadiano de la CgA y del cortisol. Apreciaron que los niveles salivales de CgA alcanzaron su punto máximo al despertarse, y después disminuyendo rápidamente después de 1 hora y se mantuvieron a un nivel bajo a lo largo de todo el día, los niveles de CgA en plasma no mostraron ningún ritmo circadiano. Este descubrimiento sugiere que los niveles de CgA en saliva y en plasma tienen diferentes vías de secreción.

Título	Autor y Año	Muestra	Resultados
The effects of examination stress on salivary cortisol, immunoglobulin A, and chromogranin A in nursing students	Koichi Takatsuji et al, 2008	34 estudiantes universitarios	Evaluaron el estrés relacionándolo con el cortisol salival, IgA y CgA en estudiantes en el momento previo y posterior a realizar el examen. Se observó un aumento importante de las concentraciones de IgA y CgA después del examen y una bajada dos horas después del examen. No se apreciaron diferencias entre antes y después del examen en las concentraciones de cortisol salival. Estos hallazgos sugieren que el estrés agudo debido al examen está asociado con IgA y CgA salival, pero no con cortisol.
Salivary biomarkers associated with academic assessment stress among dental undergraduates	Maes M et al, 2003	31 estudiantes de odontología	Antes del examen se registraron niveles más altos de estrés y cortisol. Las puntuaciones de estrés previas al examen se asociaron con cortisol salival elevado. Los niveles más altos de estrés percibido entre los estudiantes resultaron en peores resultados en los exámenes.
Salivary Cortisol Profile Under Different Stressful Situations in Female College Students: Moderating Role of Anxiety and Sleep	Suh M, 2018	36 estudiantes universitarios	Los estudiantes con elevada ansiedad tuvieron una calidad de sueño deficiente, los sujetos que experimentaron un sueño deficiente habían aumentado la secreción de cortisol durante las horas de vigilia. Los sujetos más propensos a la ansiedad tenían mayores niveles de cortisol durante los exámenes.
Testing anxiety in undergraduate medical students and its correlation with different learning approaches	Cipra et al, 2019	212 estudiantes de medicina	El enfoque de aprendizaje superficial se correlacionó significativamente con el rasgo de ansiedad. Los estudiantes con métodos de aprendizaje predominantemente estratégicos tuvieron el mayor éxito académico con la menor ansiedad.

Título	Autor y Año	Muestra	Resultados
Variations in Salivary Stress Biomarkers and Their Relationship with Anxiety, Self-Efficacy and Sleeping Quality in Emergency Health Care Professionals	Pérez-Valdecantos et al, 2021	502 médicos	Aumentos de α -amilasa salival inducidos por el estrés. Encontraron una correlación positiva entre los parámetros biológicos (epinefrina y norepinefrina) solo cuando estrés había sido inducido por un factor físico, pero no cuando el estrés fue inducido por un factor psicológico.
Academic stress and cortisol values in medical students. Vol 5.	Julio Conchado et al, 2018	113 estudiantes	Los estudiantes fueron alojados en sus aulas al finalizar el último examen y se le tomaron muestras de sangre. En ambos géneros se observó niveles de estrés alto o medio, hallando diferencias significativas entre géneros de estrés alto con un mayor porcentaje en mujeres. Las concentraciones de cortisol, se aprecian diferencias altamente importantes entre hombres y mujeres en el nivel medio de estrés, no así en el nivel alto.

Tabla I. Resumen de los artículos encontrados en la revisión de la literatura comparando diferentes biomarcadores salivales en diferentes estudios y muestras.

5. DISCUSIÓN

Como Los estudios sobre los efectos del estrés entre los estudiantes son comunes en la literatura²⁰, y los que analizan el impacto del estrés académico en las reacciones de los estudiantes han aportado datos útiles. Según un estudio de Bruno et al.²⁰, realizado en 91 estudiantes universitarios durante un periodo de exámenes de verano, los que consiguieron un mejor promedio de calificaciones, alcanzaron una mayor capacidad de mantener la calma durante el estrés.

Ringeisen et al.²¹ realizaron estudios en 92 estudiantes, de los cuales 46 eran mujeres, en los que, en comparación con un día de control, se pudo observar que los niveles de estrés eran elevados cerca la fecha próxima del examen y por el contrario disminuían después, con descensos adicionales tras la publicación de las calificaciones.

Ng y cols²², realizaron un estudio con una muestra de 40 estudiantes universitarios con la intención de estudiar la diferencia en la percepción subjetiva de estrés antes y después de un examen académico y la asociación con las calificaciones obtenidas. Se recogieron a todos y cada uno de ellos muestra de saliva antes y después del examen para poder analizarlas. Estudiaron niveles de cortisol, IgA y CgA y la asociación en la saliva con niveles de estrés antes y después el examen. Los estudiantes presentaron niveles considerablemente más altos de estrés antes que después de examinarse. No se apreciaron diferencias relevantes entre los niveles de IgA y CgA en saliva en las muestras previas al examen con respecto a las posteriores. En este caso los niveles de estrés tenían relación con los niveles de cortisol en saliva, pero no con los niveles de IgA y de CgA.

Den y cols²³. estudiaron en 63 estudiantes el ritmo circadiano de la CgA y del cortisol en muestras de saliva recogidas al levantarse y posteriormente recogidas de muestras intermitentes a lo largo del día. Apreciaron que los niveles salivales de CgA alcanzaron su punto máximo al despertarse, y después fueron disminuyendo rápidamente después de 1 hora y se mantuvieron a un nivel bajo a lo largo de todo el día. También obtuvieron muestras de sangre y los niveles de CgA en plasma no mostraron ningún ritmo circadiano. Este descubrimiento sugiere que los niveles de CgA en saliva y en plasma tienen diferentes vías de secreción.

Takatsuji y cols²⁴, evaluaron el estrés relacionándolo con el cortisol salival, IgA y CgA en 34 estudiantes universitarios en el momento previo y posterior a realizar el examen. Se tomaron dos muestras de saliva a cada estudiante, una antes del examen y otras dos horas después de finalizar el mismo. Se observó un aumento importante de las concentraciones de IgA y CgA después del examen y una bajada dos horas después del examen. No se apreciaron diferencias entre antes y después del examen en las concentraciones de cortisol salival. Estos hallazgos sugieren que el estrés agudo debido al examen está asociado con IgA y CgA salival, pero no con cortisol.

En otro estudio realizado por Maes M et al²⁵, en el que participaron 31 estudiantes del grado de Odontología, se les dijo que indicaran en una escala de 5 puntos el estrés que sufrían antes de empezar el examen escrito y de nuevo justo después de terminar. También se les pidió que no bebieran ni comieran nada una hora antes de la prueba, excepto agua. Inmediatamente antes y después del examen se recogió una muestra de saliva no estimulada de cinco minutos de duración. Tras la recogida se conservaron en una nevera y fueron analizadas inmediatamente. El nivel medio de cortisol antes del examen era de 6.32 nmol/ml. Dicha cifra fue relativamente superior a la de después de la prueba, siendo 5.16 nmol/ml.

Minhee Suh^{25,26}, en su estudio de 36 estudiantes universitarios se centra en la respuesta diurna del cortisol y su relación con el sueño y la ansiedad en distintas situaciones estresantes en estudiantes universitarios. El cortisol y la ansiedad tendieron a ser elevadas en situaciones estresantes en comparación con las situaciones no estresantes, pero el hallazgo no fue significativo. Hubo controversias sobre la relación entre el cortisol y el estrés.

Cipra et al²⁷, de un total de 212 estudiantes de medicina, solamente 138 de ellos se ofrecieron voluntarios para participar en el estudio. Sin embargo, solo 98 estudiantes completaron todas las mediciones de ansiedad y cortisol y se incluyeron en los análisis. Las puntuaciones de ansiedad fueron más bajas durante el comienzo del primer trimestre (T0) cuando aún faltaban exámenes por hacer. La mediana de la puntuación en T0 fue de 38,5. La ansiedad auto informada fue confirmada por una elevación en el parámetro de estrés de cortisol. Las concentraciones medianas de cortisol salival fueron de 8.37 y 9.53 nmol/l inmediatamente antes de los exámenes orales en T1 y T3 respectivamente. Debido al ritmo circadiano de los niveles de cortisol, las medidas de referencia T2 Y T4 se obtuvieron en el momento exacto del día como T1 y T3 y dieron como resultados 6.46 y 6.69 nmol/l para T2 y T4 respectivamente. Las pruebas dieron resultados significativos de caídas en el nivel de cortisol salival de 1.2 y 1.4 veces un día después de los exámenes orales. La caída fue relativamente mayor en el examen oral en T3, pero la diferencia entre ambos controles orales fue insignificante. Por lo tanto, no observaron aumento en la ansiedad relacionada con el examen a lo largo del trimestre, ni auto informado ni evaluado como un parámetro de estrés simpático.

Pérez Valdecantos et al^{28,29}, estudiaron los aumentos de α -amilasa salival inducidos por el estrés en 502 profesionales médicos y encontraron una correlación positiva entre los parámetros biológicos (epinefrina y norepinefrina) solo cuando el estrés había sido inducido por un factor físico, pero no cuando el estrés fue inducido por un factor psicológico.

Julio Conchado et al³⁰ realizaron un estudio descriptivo transversal con una muestra de 113 estudiantes (49 hombres y 64 mujeres) del primer curso de medicina. La sangre fue recogida en tubos sin anticoagulante, que una vez centrifugados se determinó en suero la concentración de cortisol empleando el kit Cortisol ELISA, que tiene como valores normales de 50 a 250 ng/ml. En ambos géneros se observó niveles de estrés alto o medio, hallando diferencias significativas entre géneros de estrés alto con un mayor porcentaje en mujeres.

Referente a las concentraciones de cortisol, se apreciaron diferencias altamente importantes entre hombres y mujeres en el nivel medio de estrés, no así en el nivel alto. En un nivel de estrés moderado, en hombres la media de concentración de cortisol se sitúa en 99.34 ng/ml, mientras que en mujeres desciende a 65.17 ng/ml. En el estrés elevado va aumentando en hombres hasta 156.94 ng/ml y en mujeres se sitúa en 147.65 ng/ml. Para finalizar, en el estrés moderado-elevado, las concentraciones de cortisol en hombres descienden a 135.61 ng/ml mientras que en mujeres se encuentra en 124.09 ng/ml.

6. CONCLUSIONES

1. Según la literatura los biomarcadores presentes en la saliva que pueden estar asociados al estrés son: el cortisol, la inmunoglobulina A, la lisozima, la alfa-amilasa, la cromogranina A, el factor de crecimiento de fibroblastos 2 y la opiorfina.
2. Según la literatura los biomarcadores de estrés más utilizados para determinar el desequilibrio en los ejes HPA y sistema nervioso simpático son: el cortisol, la inmunoglobulina A y la alfa-amilasa. Siendo el más característico el cortisol seguido de la alfa-amilasa.
3. En los estudios de seres humanos sometidos a factores externos, se ha podido determinar que las cantidades más elevadas de biomarcadores se aprecian en el cortisol, cromogranina A y alfa-amilasa. Siendo el más elevado el cortisol. De forma concreta y relacionado con la influencia del estrés en estudiantes y las concentraciones de los biomarcadores. El mejor biomarcador para determinar el estrés en saliva es el cortisol, siendo la mejor franja horaria para su recogida a primeras horas de la mañana. Su control puede favorecer la disminución de este ayudando así a los estudiantes afectados a tener una mejor calidad de vida.

7. BIBLIOGRAFÍA

1. Aguilar Cordero MJ, Sánchez López AM, Mur Villar N, García García I, Rodríguez López MA, Ortegón Piñero A, et al. Salivary cortisol as an indicator of physiological stress in children and adults; a systematic review. *Nutr Hosp.* 2014;29(5):960–8.
2. Almeida FB, Pinna G, Barros HMT. The role of HPA axis and allopregnanolone on the neurobiology of major depressive disorders and PTSD. *Int J Mol Sci.* 2021;22(11):5495.
3. Thomas N, Gurvich C, Kulkarni J. Borderline personality disorder, trauma, and the hypothalamus-pituitary-adrenal axis. *Neuropsychiatr Dis Treat.* 2019;15:2601–12.
4. Nobis A, Zalewski D, Waszkiewicz N. Peripheral markers of depression. *J Clin Med.* 2020;9(12):3793.
5. Kim HG, Cheon EJ, Bai DS, Lee YH, Koo BH. Estrés y variabilidad de la frecuencia cardíaca: un metanálisis y revisión de la literatura. *Investigación en Psiquiatría.* 2018;15(3):235–45.
6. Bakusic J, Schaufeli W, Claes S, Godderis L. Stress, burnout and depression: A systematic review on DNA methylation mechanisms. *J Psychosom Res.* 2017;92:34–44.
7. Noushad S, Ahmed S, Ansari B, Mustafa U-H, Saleem Y, Hazrat H. Physiological biomarkers of chronic stress: A systematic review. *Int J Health Sci (Qassim).* 2021;15(5):46–59.

8. Berardelli I, Serafini G, Cortese N, Fiaschè F, O'Connor RC, Pompili M. The involvement of hypothalamus-Pituitary-Adrenal (HPA) axis in suicide risk. *Brain Sci.* 2020;10(9).
9. Morera LP, Tempesti TC, Pérez E, Medrano LA. Biomarcadores en la medición del estrés: una revisión sistemática. *Ansiedad estrés.* 2019;25(1):49–58.
10. Chojnowska S, Ptaszyńska-Sarosiek I, Kępką A, Knaś M, Waszkiewicz N. Salivary biomarkers of stress, anxiety and depression. *J Clin Med.* 2021;10(3):517.
11. Winkler H, Fischer-Colbrie R. The chromogranins A and B: the first 25 years and future perspectives. *Neuroscience* 1992; 49(3): 497-528.
12. Bagán Sebastián JV, Jiménez Soriano Y. *Fisiopatología De Las Glándulas Salivales.* 1ª ed. Valencia: Medicina oral; 2010: 47-65.
13. Gadad BS, Jha MK, Czysz A, Furman JL, Mayes TL, Emslie MP, et al. Peripheral biomarkers of major depression and antidepressant treatment response: Current knowledge and future outlooks. *J Affect Disord.* 2018;233:3–14.
14. Farah R, Haraty H, Salame Z, Fares Y, Ojcius DM, Said Sadier N. Salivary biomarkers for the diagnosis and monitoring of neurological diseases. *Biomed J.* 2018;41(2):63–87.
15. Soo-Quee Koh, D., & Choon-Huat Koh, G. The use of salivary biomarkers in occupational and environmental medicine. *Occupational and Environmental Medicine,* 64(3), 202–210.
16. Krahel A, Paszynska E, Otulakowska-Skrzynska J, Rzatowski S, Hernik A, Slopian A, et al. Biomarcadores salivales (opiorfina, cortisol, amilasa e IgA) relacionados con la edad, el sexo y la percepción del estrés en una cohorte prospectiva de escolares sanos. *Mediadores Inflamm.* 2021;2021:3639441.
17. Santos SVM, Silva LA da, Terra F de S, Souza AV de, Espindola FS, Marziale MHP, et al. Association of salivary alpha-amylase with anxiety and stress in nursing professionals. *Rev Lat Am Enfermagem.* 2021;29:e3468.
18. Molteni R, Fumagalli F, Magnaghi V, Roceri M, Gennarelli M, Racagni G, et al. Modulation of fibroblast growth factor-2 by stress and corticosteroids: from developmental events to adult brain plasticity. *Brain Res Brain Res Rev.* 2001;37(1–3):249–58.
19. Evans SJ, Choudary PV, Neal CR, Li JZ, Vawter MP, Tomita H, et al. Desregulación del sistema del factor de crecimiento de fibroblastos en la depresión mayor. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004;101(43):15506–11.
20. Špiljak B, Vilibić M, Glavina A, Crnković M, Šešerko A, Lugović-Mihić L. Una revisión del estrés psicológico entre estudiantes y su evaluación mediante biomarcadores salivales. *Behav Sci (Basilea).* 2022;12(10):400.
21. Ringeisen T, Lichtenfeld S, Becker S, Minkley N. Experiencia de estrés y rendimiento durante un examen oral: el papel de la autoeficacia, las evaluaciones de amenazas, la ansiedad y el cortisol. *Afrontamiento de la ansiedad y el estrés.* 2019;32(1):50–66.
22. Koh D, Mok BYY, Chia SE, Lim LP. Biomarcadores salivales asociados con el estrés de evaluación académica entre estudiantes de odontología. *J Dent Educ.* 2003;67(10):1091–4.
23. Den R, Toda M, Nagasawa S, Kitamura K, Morimoto K. Circadian rhythm of human salivary chromogranin A. *Biomed Res.* 2007;28(1):57–60.
24. Takatsuji K, Sugimoto Y, Ishizaki S, Ozaki Y, Matsuyama E, Yamaguchi Y. The effects of examination stress on salivary cortisol, immunoglobulin A, and chromogranin A in nursing students. *Biomed Res.* 2008;29(4):221–4.
25. Ng, V., Koh, D., Mok, BYY, Chia, S.-E. y Lim, L.-P. (2003). Biomarcadores salivales asociados con el estrés de evaluación académica entre estudiantes de odontología. *Revista de Educación Dental,* 67 (10), 1091–1094.

26. Suh, M. (2018). Perfil de cortisol salival bajo diferentes situaciones estresantes en estudiantes universitarias: Papel moderador de la ansiedad y el sueño: Papel moderador de la ansiedad y el sueño. *The Journal of Neuroscience Nursing: Journal of the American Association of Neuroscience Nurses*, 50 (5), 279–285.
27. Cipra, C. y Müller-Hilke, B. (2019). Evaluación de la ansiedad en estudiantes de pregrado de medicina y su correlación con diferentes enfoques de aprendizaje. *PloS One*, 14 (3), e0210130.
28. Pérez-Valdecantos D, Caballero-García A, Del Castillo-Sanz T, Bello HJ, Roche E, Roche A, et al. Variaciones en los biomarcadores de estrés salival y su relación con la ansiedad, la autoeficacia y la calidad del sueño en profesionales de urgencias sanitarias. *Int J Environ Res Public Health*. 2021;18(17):9277.
29. Chatterton RT Jr, Vogelsong KM, Lu YC, Ellman AB, Hudgens GA. Alfa-amilasa salival como medida de la actividad adrenérgica endógena. *Clínica Physiol*. 1996;16(4):433–48.
30. Julio Conchado Martínez, Robert Álvarez Ochoa, Gabriela Cordero Cordero, Fausto Gutiérrez Ortega, Francisco Terán Palacios, Estrés académico y valores de cortisol en estudiantes de medicina. Vol. 5. *Revista Científica y Tecnológica UPSE*; diciembre 2018.