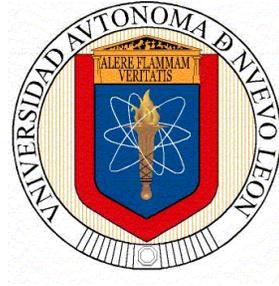


UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN  
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA  
POSGRADO DE PERIODONCIA E IMPLANTOLOGÍA



LA RELACIÓN ENTRE ENFERMEDAD PERIODONTAL Y  
NIVELES DE CORTISOL SALIVAL

Por:

DRA. MYRNA KARINA GONZÁLEZ CANTÚ

Como requisito parcial para obtener el Grado de  
MAESTRÍA EN CIENCIAS ODONTOLÓGICAS  
con ESPECIALIDAD EN PERIODONCIA E IMPLANTOLOGÍA

Agosto, 2013

**LA RELACIÓN ENTRE ENFERMEDAD Y  
NIVELES DE CORTISOL SALIVAL**

**Comité de Tesis**

---

Dra. Marianela Garza Enríquez  
Director de Tesis

---

Dr. Juan Manuel Solís Soto  
Secretario

---

Dr. Alfredo Arias Cruz  
Vocal

**LA RELACIÓN ENTRE ENFERMEDAD Y  
NIVELES DE CORTISOL SALIVAL**

Asesores de Tesis

---

Dra. Marianela Garza Enríquez  
Director de Tesis

---

Dr. Juan Manuel Solís Soto  
Co-Director de Tesis

---

Dr. Alfredo Arias Cruz  
Investigador Responsable

---

Dra. Gloria Martínez Sandoval  
Investigador Asociado en Estudio Periodontal

---

Dra. Gabriela Chapa Arizpe  
Investigador Asociado en Estudio Periodontal

---

Lic. Ricardo Garza Mendiola  
Asesor Estadístico

---

Lic. Gustavo Martínez  
Asesor Estadístico



## DEDICATORIA

### *A Dios:*

Por haberme permitido llegar hasta la culminación de éste proyecto, abrirme el camino y el entendimiento en el momento perfecto y ponerme a las personas indicadas que junto con su sabiduría y experiencia han sido de gran apoyo para cumplirlo. Gracias por brindarme salud, fortaleza, inteligencia, disciplina, constancia pero sobretodo paciencia; gracias por tu fidelidad e infinito amor.

### *A mi Mamá:*

Mamá, tu que has sido la persona más importante en mi vida y mi piedra angular, mi soporte, gracias por tus sacrificios, por creer y apostar en mí, ser tu orgullo, defenderme, darme todo tu apoyo moral y económico, orar por mi diariamente, encomendándome siempre a Dios y a la Virgen. Todo ésto sembrado será cosechado y recompensado en grandes frutos tanto en lo personal como en lo profesional. Gracias por seguir apoyándome en todos mis sueños y deseos para poder hacerlos realidad. Te agradezco tu gran amor incondicional; sin tí no estaría en éste lugar, ni en este momento, todo lo que soy te lo debo a tí.

### *A mi Tío Lucas:*

Mi ejemplo, mi más grande admiración y respeto hacia tí, gracias por no dejarme vencer ante las adversidades fuera de mi control, por la plena confianza y seguridad que has depositado en mí, gracias a tí fué que me enamoré de ésta hermosa profesión, has sido mi guía, amigo y confidente, te agradezco infinitamente el darme la oportunidad de ser parte de tu exitoso equipo de trabajo; siempre me has enseñado a no perder el enfoque y el objetivo; has formado una parte imprescindible en mi formación personal y profesional, conoces la lealtad y el gran cariño que te tengo, sabes que no te fallaré.

Tanto esfuerzo, sacrificio, dedicación, entrega y amor por mi profesión han valido la pena, y ésto solamente es un logro, una gran plataforma, un sueño cumplido; se vienen más proyectos maravillosos para culminar mi formación profesional, más sueños por concretar. Gracias.

## **AGRADECIMIENTOS**

Debo agradecer de manera especial y sincera al Dr. Juan Manuel Solís, al Dr. Alfredo Arias Cruz y a la Dra. Gabriela Chapa Arizpe por haberme acompañado desde el principio para la realización de éste proyecto, ya que su orientación y rigurosidad han sido la clave del buen trabajo que hemos realizado juntos, el cual no se podría concebir sin su más oportuna guía y entera participación.

Al Posgrado de Periodoncia e Implantología; U.A.N.L., por darme las pautas indispensables para comenzar la investigación en conjunto con la Dra. Marianela Garza Enríquez y la Dra. Gloria Martínez Sandoval y el haberme dado las facilidades para continuar con mi trabajo combinándolo tanto en mi Posgrado como en el Módulo de Morones Prieto; SSA. para la recolección de las muestras.

Al Lic. Ricardo Garza Mendiola con sus inmensos conocimientos estadísticos haberme ayudado con gran disponibilidad cuando más lo necesitaba.

A todas las personas que directa o indirectamente contribuyeron para la cristalización de la investigación, de todo corazón, gracias.

## TABLA DE CONTENIDO

<b>Sección</b>	<b>Página</b>
AGRADECIMIENTOS .....	iv
LISTA DE TABLAS .....	v
LISTA DE FIGURAS .....	vi
NOMENCLATURA .....	vii
RESUMEN .....	viii
ABSTRACT .....	ix
1. INTRODUCCIÓN .....	1
2. HIPÓTESIS .....	4
2.1 Hipótesis Nula .....	4
3. OBJETIVOS .....	5
3.1 Objetivo General .....	5
3.2 Objetivos Específicos .....	5
4. ANTECEDENTES.....	6
4.1 Cortisol .....	6
4.2 Cortisol y Enfermedades Sistémicas .....	9
4.2.1 Diabetes Mellitus .....	10
4.2.2 Hipertensión Arterial .....	13
4.3 El Cortisol sobre el Organismo .....	17
4.3.1 Estrés .....	19
4.3.2 Síntomas Físicos del Estrés .....	20
4.3.3 Fisiología del Estrés.....	20
4.4 Efectos Antiinflamatorios del Cortisol .....	23
4.5 Enfermedad Periodontal .....	24
4.5.1 Índices Epidemiológicos .....	27
4.5.2 Aspectos Clínicos .....	30
4.5.3 Aspectos Radiográficos.....	30
4.5.4 Factores que afectan la Prevalencia e Intensidad de la Periodontitis .....	31
4.5.5 Inflamación y Enfermedad Periodontal .....	33
4.5.6 Cortisol y Enfermedad Periodontal .....	34
5. MARCO TEÓRICO .....	37

5.1 Periodontitis Crónica .....	37
5.2 Cortisol .....	37
6. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	39
7. JUSTIFICACIÓN .....	40
8. DISEÑO .....	42
8.1 Número de Muestras a Estudiar .....	42
8.2 Conocimiento de los Investigadores en los Factores del Estudio .....	42
8.3 Participación del Investigador .....	42
8.4 Tiempo en que Suceden los Eventos .....	42
8.5 Relación que Guardan entre sí los Datos .....	42
8.6 Pruebas de Diagnóstico para medir Sensibilidad y Especificidad .....	43
8.7 Estudios para Medir Asociación .....	43
9. MATERIALES Y MÉTODOS .....	44
9.1 Universo del Estudio .....	44
9.2 Tamaño de la Muestra .....	44
9.3 Criterios de Selección .....	47
9.3.1 Criterios de Inclusión .....	47
9.3.2 Criterios de Exclusión .....	47
9.6 Criterios de Eliminación .....	47
9.7 Unidad de Muestreo .....	48
9.8 Unidad de Análisis .....	48
9.9 Definición de Variables .....	48
9.10 Descripción de Procedimientos .....	50
9.11 Etapa de Selección de Pacientes .....	51
9.12 Etapa de Diagnóstico Periodontal y Toma de Muestra .....	51
9.13 Etapa de Análisis de Laboratorio .....	52
9.14 Inmunoensayo Enzimático .....	53
9.15 Principios del Test .....	54
9.16 Índice de pH .....	54
9.17 Almacenamiento .....	54
9.18 Modelo de Seguridad .....	54
9.19 Material Suministrado por el Kit .....	55
9.20 Preparación de los Participantes .....	56
9.21 Contaminación de Sangre en la Saliva .....	56
9.22 Manipulación de las Muestras y Almacén .....	57
9.23 Material necesario pero No Suministrado .....	57

9.24 Recolección de la Muestra .....	58
9.25 Manipulación de las Muestras y Preparación .....	59
9.26 Preparación de los Reactivos .....	60
9.27 Ensayo de los Procedimientos .....	60
9.28 Limitaciones .....	62
9.29 Resumen de Procedimientos .....	62
9.30 Fundamento de ELISA (Ensayo por Inmunoabsorción Ligado a Enzimas) .....	63
 10. RESULTADOS .....	 65
10.1 Estadística Poblacional .....	65
10.2 Estadística Descriptiva .....	69
10.2.1 Análisis de Bondad de Ajuste .....	71
10.2.2 Modelo Final .....	75
10.2.3 Análisis Correlacional .....	76
10.2.4 Análisis de Subgrupos .....	79
 11. DISCUSIÓN .....	 83
 12. CONCLUSIÓN Y RECOMENDACIONES .....	 89
 APÉNDICES .....	 90
 PROGRAMA DE CAPTURA DE DATOS.....	 93
 LITERATURA CITADA.....	 98
 RESUMEN BIOGRÁFICO.....	 112

## LISTA DE TABLAS

<b>Tabla</b>	<b>Página</b>
I. Distribución por género .....	65
II. Distribución por grupos sin enfermedad periodontal y de acuerdo al grado de enfermedad periodontal .....	67
III. Coexistencia de enfermedades sistémicas .....	68
IV. Nivel de cortisol salival en los grupos de estudio .....	69
V. Niveles de Cortisol Salival en $\mu\text{g/dL}$ en relación al diagnóstico de Enfermedad Periodontal .....	70
VI. Pruebas de normalidad .....	72
VII. Correlación de Pearson .....	76
VIII. Variance Inflation Factor .....	77
IX. Pacientes con enfermedad periodontal y enfermedades sistémicas .....	80
X. Pacientes con enfermedad periodontal y sin enfermedades sistémicas .....	81

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura</b>	<b>Página</b>
I. Rangos de edad con mayor asiduidad .....	66
II. Distribución por edad en porcentajes .....	66
III. Distribución por grupos control y experimental .....	67
IV. Análisis de índice periodontal .....	67
V. Rangos de cortisol salival .....	68
VI. Rangos de cortisol salival entre grupos control y experimental .....	70
VII. Relación entre los niveles de cortisol salival y diagnóstico de enfermedad periodontal .....	71
VIII. Normalidad de la variable edad .....	74
IX. Normalidad de variable índice periodontal .....	74
X. Normalidad de la variable cortisol salival .....	74
XI. Pacientes con enfermedad periodontal y enfermedades sistémicas .....	80
XII. Pacientes con enfermedad periodontal sin enfermedades sistémicas .....	81

## NOMENCLATURA

μg/dL	Microgramos sobre decilitro
CAL	Pérdida de inserción clínica
PD	Profundidad de bolsa
CORT	Cortisol

## RESUMEN

**Introducción:** El cortisol es un glucocorticoide que al presentarse en cantidades elevadas influye en la alteración de la respuesta inmunológica que predispone a procesos inflamatorios en el periodonto y en la cavidad oral. Sin embargo, hay escasa de información en relación al estado periodontal y a los pacientes con padecimientos sistémicos en los cuales se les ha sido evaluado el cortisol salival. Éste estudio transversal explora la asociación entre pacientes periodontalmente sanos, con padecimientos sistémicos, enfermedad periodontal y niveles de cortisol salival. **Objetivo:** Comparar los niveles de cortisol salival entre sujetos con enfermedad periodontal y sin enfermedad periodontal. Además, encontrar la relación entre pacientes periodontalmente afectados, niveles de cortisol salival y enfermedades sistémicas. **Materiales y métodos:** En este estudio se incluyeron veintinueve pacientes a quienes se les realizó historia clínica y periodontal completa, así como también se firmó un consentimiento informado previo en el cual se invitó a los sujetos a participar. Parámetros clínicos fueron tomados en consideración para evaluar el estado periodontal tales como: profundidad de bolsa (PD), pérdida de inserción clínica (CAL), índice periodontal (PI) y evaluación radiográfica. Los niveles de cortisol salival fueron medidos por medio de radioinmunoensayo. Dependiendo del estado periodontal fueron asignados dos grupos: el control el cual consistió en ocho pacientes sanos periodontalmente y un grupo experimental de dieciocho pacientes periodontales. **Resultados:** Los niveles de cortisol salival fueron divididos en bajos, medianos y altos dependiendo de los valores matutinos normales; en el grupo experimental (62%), ocho pacientes (CAL 1-2mm) tuvieron niveles de cortisol bajos (44.4%), cinco pacientes (CAL 2-3mm) tuvieron niveles de cortisol normales (27.7%), y de la misma manera, cinco pacientes (CAL >5mm) tuvieron niveles de cortisol salival por encima del rango normal matutino. En el grupo control (37.9%) se registraron ocho pacientes con niveles de cortisol salival por debajo del rango normal (72.7%), tres con valores normales (27.7%) y ninguno con niveles altos de cortisol salival. Teniendo una diferencia no estadísticamente significativa entre los niveles de cortisol salival y pacientes con enfermedad periodontal ( $P = .13$ ). La media de los valores en los niveles de cortisol salival ( $.139\mu\text{g/dL} \pm .314$ ) con CAL 1-2mm, ( $1.316\mu\text{g/dL} \pm 2$ ) CAL 2-3mm y ( $1.854\mu\text{g/dL} \pm .225$ ) CAL >5mm fueron evaluados ( $\alpha 95\%$ ). Además, correlaciones entre los valores salivales de cortisol, enfermedad periodontal y sistémicas fueron realizadas: CAL 2-3mm con diabetes ( $2.24\mu\text{g/dL}$ ), CAL 2-3mm con aterosclerosis ( $6.01\mu\text{g/dL}$ ), CAL >5 con hipertensión ( $1.88\mu\text{g/dL}$ ), CAL >5 con enfermedad ácido-péptica ( $1.8\mu\text{g/dL}$ ), todos éstos con una media de  $2.38 \pm 2.20$ . Sin embargo, en una comparación entre éstos resultados y sujetos periodontales sin enfermedad sistémica se encontró que no hay diferencia estadísticamente significativa entre éstas dos medias ( $.46 \pm .8 \pm 2$ ;  $P = .07$ ). La presencia de enfermedades sistémicas son independientes en relación con la media de los niveles de cortisol salival y enfermedad periodontal. **Conclusión:** Dentro de las limitaciones del estudio, es posible asumir que hay una estrecha asociación entre los niveles más altos de cortisol salival y la enfermedad periodontal avanzada. Se sugiere tener una mayor población y división de grupos incorporando más enfermedades sistémicas para ser evaluadas.

## ABSTRACT

**Introduction:** Cortisol is a glucocorticoid that in large quantities influences the alteration of the immune response and leads to greater inflammatory processes in the periodontium and the oral cavity. Whereas, there is a lack of information regarding periodontal healthy and diseased patients whose cortisol levels have been evaluated. This cross-sectional study explored the association between healthy periodontal patients, systemic diseases, periodontal disease and salivary cortisol levels. **Objective:** The purpose of the present study is to compare periodontal disease with salivary cortisol levels. In addition, find the relationship between periodontal affected patients, salivary cortisol levels and systemic disease. **Materials and Methods:** This study included twenty-nine patients who filled out a medical history and an informed consent. Clinical parameters were used to assess periodontal status such as, probing depth (PD), clinical attachment levels (CAL), periodontal index (PI) and radiographic evaluation. Salivary cortisol (CORT) levels were measured by radioimmunoassay. According to the periodontal status two groups were assigned; a control group which consisted in eleven healthy periodontal patients and an experimental group with eighteen periodontal patients. **Results:** Salivary cortisol levels were divided in low, medium and high depending on normal morning values; in the experimental group (62%), eight patients (CAL 1-2mm) had low cortisol levels (44.4%), five patients (CAL 2-3mm) had normal cortisol levels (27.7%), and in the same manner, five patients (CAL >5mm) had high salivary cortisol levels. Control group (37.9%) registered eight patients with low salivary cortisol levels (72.7%), three with normal values (27.7%) and no one with high cortisol levels. Having no statistically difference between salivary cortisol levels and periodontal disease ( $P= .13$ ). Mean values of salivary cortisol levels ( $.139\mu\text{g/dL}\pm.314$ ) with CAL 1-2mm, ( $1.316\mu\text{g/dL}\pm 2$ ) CAL 2-3mm and ( $1.854\mu\text{g/dL}\pm .225$ ) CAL >5mm were assessed ( $\alpha 95\%$ ). In addition, correlations between salivary cortisol values, systemic and periodontal diseases were made: CAL 2-3mm with diabetes ( $2.24\mu\text{g/dL}$ ), CAL 2-3mm with atherosclerosis ( $6.01\mu\text{g/dL}$ ), CAL >5 with hypertension ( $1.88\mu\text{g/dL}$ ), CAL >5 with acid-peptic disease ( $1.8\mu\text{g/dL}$ ), all these with a mean value of  $2.38\pm 2.20$ . Besides, in a comparison between this finding and periodontal patients without systemic disease, we found that there is not a statistically significant difference in these two mean values ( $.46\pm .8\pm 2$ ;  $P= .07$ ). Systemic diseases are independent of the mean values of salivary cortisol levels and periodontal disease. **Conclusion:** Within the study limitations it is assumed that there is a strong association between the highest salivary cortisol levels and advanced periodontal disease. It is suggested to have a greater population and division of groups incorporating more systemic diseases to be evaluated.

## 1. INTRODUCCIÓN

El cortisol es un glucocorticoide que al presentarse en cantidades elevadas influye en la alteración de la respuesta inmunológica que predispone a procesos inflamatorios en el periodonto y en la cavidad oral.

El cortisol, también llamado hidrocortisona, ejerce un amplio rango de efectos fisiológicos, incluyendo la regulación del metabolismo intermedio, función cardiovascular, crecimiento, inmunidad (Chrousos 1995; De Kloet *et al.* 2005; Guyton and Hall 2006, Mc Ewen, 2007), absorción de calcio en el organismo, mantenimiento de la presión arterial, gluconeogénesis, secreciones de ácidos y pepsinas (Migeon *et al.*, 1990; Drucker, 1987; Fischbach, 1992); ayuda al cuerpo a manejar el estrés, convierte la proteína en glucosa para aumentar los niveles de azúcar en la sangre, trabaja en conjunto con la hormona de la insulina para mantener constantes los niveles de azúcar en la sangre, inhibe la inflamación, contribuye al mantenimiento de la presión constante de la sangre y trabaja sobre el sistema inmunológico (King, 2005).

En el adulto sano sin estrés se secretan al día 10 a 20 mg de cortisol y su velocidad alcanza un ritmo circadiano regido por impulsos regulares de ACTH que alcanzan su máximo las primeras horas de la mañana y tienen una disminución en su concentración conforme va transcurriendo el día, como por ejemplo al anochecer (Chernow, *et al.*, 1987; Dorn *et al.*, 2007); como la producción de cortisol tiene un ritmo circadiano, esto quiere decir, oscilaciones de las variables biológicas en un tiempo determinado, los niveles de cortisol alcanzan estas diferencias independientemente del ritmo circadiano en respuesta al estrés (Kreiger, 1975; Kirschbaum and Hellhammer, 1989).

Aproximadamente del 90% al 95% del cortisol plasmático se une a las proteínas del plasma (Robin *et al.*, 1997). Los niveles salivales de cortisol están inafectados por los índices del flujo salival o por las enzimas salivales (Vining and McGinley 1983). Estudios reportan grandes correlaciones entre el suero y el cortisol salival indicando que los niveles de cortisol medidos por la saliva tiene niveles reales estimados a los que se

encuentran en el suero (Hiramatsu, R. 1981, Vining et al., 1983 and Francis, et al., 1987). La medición del cortisol en saliva tiene múltiples ventajas sobre el uso del plasma y orina: primero, la constitución química relativa de la saliva permite una mejor estimación; segundo, la saliva es colectada por un procedimiento no-invasivo, haciendo más fácil su obtención (Magnano et al., 1989), tercero, no es doloroso.

La enfermedad periodontal es un proceso inflamatorio en el cual las estructuras de soporte dental se ven afectadas. Como respuesta al proceso inflamatorio, existe una destrucción de inserción de fibras de colágeno del tejido conectivo gingival y también de hueso alveolar que soporta los órganos dentales (AAP, 1999; Armitage, 1999 and Fleming, 1999). La respuesta inflamatoria se inicia cuando existe un acúmulo de placa dentobacteriana en la superficie dental. Ésta placa está formada por un gran número de bacterias de diversas especies, las cuales, mediante sus factores de virulencia; despiertan una respuesta inmune del huésped cuyo resultado será la pérdida del soporte periodontal (AAP, 1999).

Durante años, la etiología de la enfermedad periodontal era atribuida directamente al insulto bacteriano. Actualmente se ha encontrado que la enfermedad periodontal es una enfermedad multifactorial, cuyo agente iniciante es la placa bacteriana. Se menciona multifactorial debido a que la enfermedad periodontal es un complejo conjunto de interacciones entre el huésped y diversos factores locales, sistémicos, ambientales y genéticos, además del agente microbiano (Salvi et al., 1997; Van Dyke and Dave, 2005). Éstos factores actúan como factores de riesgo que influyen en la manifestación y la progresión de la periodontitis, tales como edad, raza, sexo; factores locales como anatomía dental o restauraciones dentarias; factores sociales y ambientales como el hábito de fumar, deficiencias nutricionales, estrés; factores genéticos como los polimorfismos y factores sistémicos como la diabetes, SIDA, enfermedades cardiovasculares y la obesidad (Stanford and Rees, 2000; Van Dyke and Dave, 2005;).

Los mecanismos por los que éstos factores afectan la progresión de la enfermedad periodontal no son aún del todo conocidos. Estudios demuestran relaciones

bidireccionales entre la diabetes y la enfermedad periodontal (Van Dyke and Dave, 2005). Así como también otros muestran una relación entre las enfermedades cardiovasculares (Stanford and Rees, 2000). Recientemente, diversos estudios han sugerido una relación entre el cortisol salival y la enfermedad periodontal, en donde se sugiere que debido a la alteración en la respuesta inmunológica de ambas, exista un factor de riesgo entrelazado (Kinane, 2001; De Nardin, 2001; Hilgert et al., 2006; Silva et al., 2007 and Rosania et al., 2009).

## **2. HIPÓTESIS**

Los niveles de cortisol salival están elevados en presencia de la enfermedad periodontal.

### **2.1. Hipótesis nula**

Los niveles de cortisol salival no están elevados en presencia de la enfermedad periodontal.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo General:**

Comparar los niveles de cortisol salival entre sujetos con enfermedad periodontal y sin enfermedad periodontal.

#### **3.2 Objetivos Específicos:**

- Determinar los niveles de cortisol salival en las personas para el estudio.
- Comparar los niveles de cortisol salival entre sujetos con enfermedad periodontal y sujetos sin enfermedad periodontal.
- Investigar la asociación entre niveles elevados de cortisol salival y la existencia de la enfermedad periodontal.
- Identificar otras posibles causas de elevación de cortisol salival en los sujetos de estudio.

## 4. ANTECEDENTES

### 4.1 Cortisol

El sistema endócrino, en conjunto con el sistema nervioso, proporciona la mayoría del control extracelular de los tejidos especializados para funcionar como órganos integrados. Hay cambios persistentes en el eje hipotalámico pituitario adrenal (HPA) que constituye una base para consecuencias patofisiológicas en la periferia del cuerpo que juega un rol central por el eje HPA en los procesos homeostáticos (Maron et al., 1998; Chrousos and Gold 1998).

El eje HPA regula la secreción adrenal de las hormonas, una de ellas es el cortisol (Guyton y Hall 2006). Éste proviene de las glándulas suprarrenales que se encuentran en los polos superiores de los riñones, cada glándula se compone de dos porciones diferentes: la médula suprarrenal y la corteza suprarrenal (Guyton and Hall, 2006; Ganong, 2010). La médula suprarrenal se relaciona desde el punto de vista funcional con el sistema nervioso simpático; secreta las hormonas adrenalina y noradrenalina (Ganong, 2010). La corteza suprarrenal secreta un grupo completamente diferente de hormonas, llamadas corticoesteroides, éstas se sintetizan a partir del esteroide colesterol (Guyton and Hall, 2006; Katzung, 2005).

La corteza suprarrenal secreta los dos tipos principales de hormonas corticosuprarrenales, los *mineralcorticoides*, que afectan a los electrolitos del compartimiento extracelular como al sodio y al potasio denominando a la aldosterona como el mineralcorticoide principal; y los *glucocorticoides*, que poseen efectos importantes en el aumento de glucemia e influyen en el metabolismo de las proteínas y de los lípidos con efectos para la función del organismo sobre los carbohidratos, determinando al cortisol como el glucocorticoide principal. Se produce también en esta zona pequeñas cantidades de hormonas sexuales como los *andrógenos*, que inducen los mismos efectos que la testosterona (Fauci et al., 2009).

La corteza suprarrenal tiene tres capas diferentes:

- a) La *zona glomerular*: una capa delgada de células, situada debajo de la cápsula, contribuye con el 15% a la corteza suprarrenal y son las únicas capaces de secretar cantidades importantes de *aldosterona*

(Boldyreff B, Wehling M, 2004; Oberleithner H, 2004 y Spat A, Hunyady L, 2004). Contiene la enzima aldosterona sintetasa que se encuentra regulada por las concentraciones de angiotensina II y potasio que estimulan la secreción de aldosterona.

- b) La *zona fascicular*: es la capa media y más ancha de la corteza suprarrenal y representa el 75% de su totalidad, es la encargada de secretar los glucocorticoides *cortisol* y corticosterona. La secreción de estas células está controlada por el eje hipotálamo hipofisiario a través de la hormona corticotropina (ACTH) (Gupta et al., 2007).
- c) La *zona reticular*: la capa más profunda de la corteza, secreta los andrógenos suprarrenales dehidroepiandrosterona (DHEA) y androstendiona, la ACTH también regula la secreción de éstas células (Nestler et al. 1998)

El cortisol, también llamado hidrocortisona, ejerce un amplio rango de efectos fisiológicos, incluyendo la regulación del metabolismo intermedio, función cardiovascular, crecimiento, inmunidad (Chrousos 1995; De Kloet *et al.* 2005; Guyton and Hall 2006; McEwen 2007), absorción de calcio en el organismo, mantenimiento de la presión arterial, gluconeogénesis, secreciones de ácidos y pepsinas (Migeon et al., 1990; Drucker, 1987; Fischbach, 1992); ayuda al cuerpo a manejar el estrés, convierte la proteína en glucosa para aumentar los niveles de azúcar en la sangre, trabaja en conjunto con la hormona de la insulina para mantener constantes los niveles de azúcar en la sangre, inhibe la inflamación, contribuye al mantenimiento de la presión constante de la sangre y trabaja sobre el sistema inmunológico (King, 2005).

Su síntesis y secreción están estrechamente regulados por el sistema nervioso central (Katzung, 2005), específicamente el sistema nervioso simpático (se encarga de coordinar y regular los órganos internos por medio de respuestas inconscientes), al haber una estimulación del hipotálamo, se induce una secreción de la hormona liberadora de corticotropina (CRH), ésta, llega al lóbulo anterior de la glándula pituitaria donde se induce la secreción de la hormona adrenocorticotrópica (ACTH) (Chrousos et al., 1998), que al entrar a la sangre periférica y vincularse con proteínas transportadoras, estimula a las glándulas suprarrenales para la liberación del cortisol (Guyton and Hall, 2006); el

tejido medular suprarrenal contribuye a mantener la homeostasis del organismo en reacción a los cambios estresantes a través de la liberación de las catecolaminas en la circulación sanguínea en respuesta a la activación del nervio esplénico (Guérineau and Desarménien, 2010).

El cortisol es sintetizado a partir del colesterol (Richard H, 1974; Ganong 2010). En el adulto sano sin estrés se secretan al día 10 a 20 mg de cortisol y su velocidad alcanza un ritmo circadiano regido por impulsos regulares de ACTH que alcanzan su máximo las primeras horas de la mañana y tienen una disminución en su concentración conforme va transcurriendo el día, como por ejemplo al anochecer (Chernow, et al., 1987; Dorn, et al., 2007); como la producción de cortisol tiene un ritmo circadiano, esto quiere decir, oscilaciones de las variables biológicas en un tiempo determinado, los niveles de cortisol alcanzan estas diferencias independientemente del ritmo circadiano en respuesta al estrés (Kreiger, 1975; Kirschbaum and Hellhammer, 1989).

Aproximadamente del 90% al 95% del cortisol plasmático se une a las proteínas del plasma (Robin et al., 1997), sobretodo a una globulina sintetizada por el hígado: la globulina fijadora del cortisol o transcortina, ésta unión fuerte a las proteínas del plasma reduce la velocidad de eliminación del cortisol plasmático; por lo tanto, el cortisol posee una semivida relativamente larga, de 60 a 90 min (Guyton and Hall, 2006). El cortisol libre del suero, se introduce a la saliva a través de mecanismos intracelulares, y en la saliva, la mayoría del cortisol sigue estando libre y no unido a proteínas (Vining, R.F. et al., 1987; Kirschbaum and Hellhammer, 1994). Los niveles salivales de cortisol están inafectados por los índices del flujo salival o por las enzimas salivales (Vining and McGinley 1983). Estudios reportan grandes correlaciones entre el suero y el cortisol salival indicando que los niveles de cortisol medidos por la saliva tiene niveles reales estimados a los que se encuentran en el suero (Hiramatsu, R. 1981, Vining et al., 1983 and Francis, et al., 1987). La medición del cortisol en saliva tiene múltiples ventajas sobre el uso del plasma y orina: primero, la constitución química relativa de la saliva permite una mejor estimación; segundo, la saliva es colectada por un procedimiento no-invasivo, haciendo más fácil su obtención (Magnano et al., 1989). tercero, no es doloroso. Esto permite tomar muestras repetitivas sin la respuesta al estrés normalmente suscitada por otros procedimientos de recolección. El ensayo puede ser realizado exitosamente por

cualquier persona con acceso a un lector de placa, un mezclador agitador o rotatorio y pipetas comunes. Un ensayo individual puede ser completado entre una y tres horas (Kalman and Grahn, 2004).

En sujetos normales, la concentración de cortisol salival es de  $15.5 \pm 0.8$  nmol/L (en un rango de: 10.2–27.3) a las 8: 00 h por la mañana y de  $3.9 \pm 0.2$  nmol/L (en un rango de: 2.2–4.1) a las 20: 00 h por la noche (Laudat et al., 1998). Los rangos de cortisol salival varían dependiendo de los establecimientos de cada laboratorio, cada uno posee sus valores estimados de acuerdo a las especificaciones e indicaciones realizadas antes y durante la toma de la muestra, sin embargo, el nivel normal de cortisol salival estimado matutinemente en los adultos es de 0.094 – 1.551  $\mu\text{g/dL}$  (Salimetrics 2011).

La manera más satisfactoria de determinar la actividad secretora del cortisol es matutinemente, en un artículo escrito por Ansai et al. 2009, al obtener la colección de las muestras salivales para la medición del cortisol fueron entre las 11:00am y la 1:00pm para minimizar cualquier efecto del ritmo circadiano, teniendo como resultado que al evaluar el cortisol por la mañana, se reflejan las concentraciones más precisas y distintivas para su medición evitando la variabilidad que sufre a lo largo del día (Ansai et al., 2009 and Clow et al., 2010) y las complicaciones que se muestran al evaluarse el cortisol vespertino (Edwards et al., 2004).

#### **4.2 Cortisol y Enfermedades Sistémicas**

La vida media puede aumentarse cuando se administra hidrocortisona (preparación farmacéutica del cortisol) en grandes cantidades o cuando se presenta estrés, hipotiroidismo, enfermedad hepática (Sapse 1984). Es administrado de forma sistémica, infiltrado, tópico y/o inhalado en afectaciones en la piel como la psoriasis, enfermedades inflamatorias: asma, colitis ulcerativa, lupus y algunas formas de artritis; cáncer relacionado directamente al sistema inmunológico: leucemia y linfoma; enfermedad de Addison y para preparar al paciente al trasplante de órganos (Dimopoulou et al., 2003). Al estar el cortisol elevado por largos periodos de tiempo en el organismo, por lo general, en su forma farmacológica, ocasiona lo que es llamado el Síndrome de Cushing, que se

caracteriza por presentar una obesidad peculiar: grasa sobrante en tórax y en la cabeza “cuello de búfalo” y “cara de luna llena” (Starkman et al., 1992).

Se ha relacionado también una unión entre la resistencia a la insulina (diabetes tipo 2) y la secreción de los glucocorticoides, así como también en las características del síndrome metabólico (hipertensión, obesidad, enfermedad cardíaca coronaria, hiperlipidemia y en la diabetes tipo 2) (Philips et al., 1998; Andrews and Walker, 1999; Bjontorp et al., 1999; Andrews et al., 2002).

#### **4.2.1 Diabetes Mellitus**

Para tener una mejor comprensión en las consecuencias que se presentan al tener el cortisol elevado y cómo afecta metabólicamente, se debe hacer énfasis en la descripción de la Diabetes Mellitus, en su clasificación y en su fisiopatología.

La Diabetes Mellitus es la enfermedad endócrina más frecuente en el mundo. La verdadera incidencia es difícil de determinar, pero probablemente oscila entre el 3 y el 6 % de la población (Fareras and Rozman, 2000). Es considerado como un síndrome que involucra diferentes entidades nosológicas. el nexo común entre ellas es la hiperglucemia y sus complicaciones específicas (Fareras and Rozman, 2000) .

Existen dos clasificaciones de la diabetes; formulado tras el acuerdo del Comité de Expertos de la American Diabetes Association y de la Organización Mundial de la Salud, poniéndose mayor énfasis en los fundamentos etiológicos:

##### **a) Diabetes del Tipo I**

- Es causada por una destrucción autoinmune de la célula beta pancreática.
- Aunque lo común es que comience en niños o adultos jóvenes, puede ocurrir a cualquier edad.
- El comienzo suele ser de forma brusca, con cetoacidosis en niños y adolescentes, otros tienen moderada hiperglucemia basal que puede evolucionar rápidamente a hiperglucemia severa y/o cetoacidosis en presencia de infección o estrés.

- Precisan de insulina para controlar la enfermedad.
- Habitualmente el peso es normal o por debajo de lo normal, pero la presencia de obesidad no es incompatible con el diagnóstico.
- Estos pacientes son propensos a otras alteraciones autoinmunes.

#### b) Diabetes del Tipo II

- Aunque puede ocurrir a cualquier edad, es habitual su comienzo en la vida adulta, después de los 40 años.
- Caracterizada por resistencia insulínica asociada usualmente a un déficit relativo de insulina.
- La obesidad está presente en el 80 % de los pacientes.
- El riesgo de desarrollar esta forma de Diabetes aumenta con la edad, el peso y la falta de actividad física.
- Representa del 90 a 95% de los casos de Diabetes Mellitus.
- Suele tener un comienzo insidioso
- Son resistentes a la cetoacidosis, aunque pueden presentarla en situaciones de estrés o infección.
- No precisan insulina para mantener la vida, aunque pueden requerirla para conseguir el control glicémico.
- Está frecuentemente asociada con una fuerte predisposición genética, sin embargo este factor genético es complejo y no claramente definido.

c.) Otros tipos específicos.

d.) Diabetes Mellitus gestacional.

e) Intolerancia a la glucosa.

Su fisiopatología radica en el trastorno patológico que la Diabetes Mellitus Tipo II puede producir al presentarse falta de insulina:

- Disminución de la utilización de glucosa por las células corporales, con aumento resultante de la concentración de glucosa sanguínea de hasta 300 a 1200 mg/dl.
- Notable incremento de la movilización de grasas desde las áreas de almacenamiento, con metabolismo graso anormal, y depósito de lípidos en las paredes vasculares con producción de aterosclerosis.
- Agotamiento de las proteínas en los tejidos del cuerpo.

Por tanto, hay un exceso de glucosa extracelular y una deficiencia intracelular. simultáneamente, hay una disminución en la entrada de aminoácidos en el músculo e incremento en la lipólisis. Igualmente se ha observado hipersecreción absoluta o relativa de glucagón en la Diabetes (Contreras, 1997).

Hay numerosos estudios en los cuales se asocian los niveles elevados de cortisol con enfermedades sistémicas que nos muestran un amplio panorama en la relación que existe entre estas dos situaciones al presentarse al mismo tiempo.

Un estudio publicado por Chiodini et al., 2007 en el Journal de Diabetes Care por la American Diabetes Association se evaluó la presencia de la secreción de cortisol en pacientes con diabetes tipo 2 en 170 personas y en 71 personas sanas, en los diabéticos, se evaluaron la presencia de complicaciones crónicas; los pacientes fueron subdivididos de acuerdo a la ausencia (grupo 1, n= 53) o en la presencia (grupo 2, n= 117) de complicaciones diabéticas. En el grupo 2, el cortisol urinario libre fue de  $(125.2 \pm 4.6$  nmol/24 h) y de cortisol sérico a las 12:00pm y a las 9:00am (F24):  $(120.6 \pm 4.1$  nmol/l), estos fueron mayores que el grupo 1  $(109.2 \pm 6.8$  nmol/24 h,  $P = 0.057$ , y  $99.7 \pm 6.1$  nmol/l,  $P = 0.005$ , respectivamente) y en pacientes no diabéticos  $(101.7 \pm 5.9$  nmol/24 h,  $P = 0.002$ , y  $100.3 \pm 5.3$  nmol/l,  $P = 0.003$ , respectivamente). En los pacientes diabéticos, el número de complicaciones fue asociado con (F24) ( $R = 0.345$ ;  $P < 0.0001$ ) y con la duración de la diabetes ( $R = 0.39$ ;  $P < 0.0001$ ). El análisis logístico demostró que la presencia de complicaciones diabéticas fue significativamente grande asociado con (F24), duración de la diabetes y hemoglobina glucosilada. En los pacientes diabéticos tipo 2, la actividad hipotalámica-pituitaria-adrenal es mayor en pacientes con complicaciones

diabéticas y el grado de la secreción de cortisol se encuentra en relación con la presencia y el número de complicaciones diabéticas.

La presencia de complicaciones crónicas del Tipo II de la Diabetes (macroangiopatía, retinopatía y neuropatía) ha sido asociado con la actividad del eje HPA (Lentle, 1964; Bhatia and Adarsh, 1983; Tsigos et al., 1993; Roy et al., 1998; Peppas-Patrikiou et al., 1998; Dacou-Voutetakis et al., 1998), y asociado entre el grado de la severidad de diversas medidas clínicas de la diabetes y de la secreción de cortisol en el Tipo II de la Diabetes (Oltmanns, 2006).

#### **4.2.2 Hipertensión Arterial**

Otra enfermedad importante a evaluar por sus altas tasas de morbilidad y mortalidad, considerada como uno de los problemas más importantes de salud pública es la Hipertensión Arterial, la cual afecta mil millones de personas a nivel mundial y en México su prevalencia va en aumento (30.05%), se estiman ya más de 15 millones de hipertensos entre los 29 y 69 años de edad, según una encuesta nacional realizada en 45,300 personas en toda la República sobre aspectos de enfermedades crónicas tales como diabetes, hipertensión arterial (HTA), obesidad, proteinuria, tabaquismo y alcoholismo; el diagnóstico de HTA fue basado por diagnóstico médico previo con toma de antihipertensivos o con una presión arterial al momento de la encuesta con cifras  $\geq 140$  mmHg en presión sistólica y/o  $\geq 90$  mmHg en presión diastólica. Los datos fueron ponderados para la distribución de población y género de acuerdo con la encuesta nacional de población y vivienda 2000 (INEGI). Se obtuvieron como resultados un total de 38,377 (98.8%) personas con edades entre los 20 y 69 años fueron incluidas para estimar la prevalencia de HTA, el resto fueron eliminadas, la prevalencia global para la república mexicana fue de 30.05%. la prevalencia en hombres fue de 34.2% y en la mujer de 26.3%. La prevalencia fue directamente proporcional a la edad. Así, después de los 50 años, la prevalencia de HTA supera el 50%. La mujer alcanza y supera en prevalencia al hombre a partir de los 50 años. Los estados del norte de la república tuvieron una prevalencia de HTA de ~34%, mientras que en el sur se obtuvo ~ 27% ( $P < 0.05$ ). Los odds ratio para HTA (ajustados para edad) fueron: en diabetes de 1.54 (IC95%, 1.44 –

1.63); en obesidad 2.3 (IC95%, 2.22 – 2.43); en tabaquismo 1.26 (IC95%, 1.21 – 1.32). El 61% de toda la población con HTA fue detectada por la encuesta. Solo el 14.6% de los hipertensos se encontraban controlados. Como conclusión se obtuvo que la Diabetes, tabaquismo y la obesidad incrementan de manera notable el riesgo de hipertensión arterial; así como también que en los estados del norte de la República obtuvieron la mayor prevalencia (~ 34%). La Hipertensión Arterial (HTA) es una enfermedad crónica que se caracteriza por haber incrementos continuos en las cifras de la presión sanguínea en las arterias. Al haber una presión sistólica sostenida por encima de 139mmHg o una presión diastólica sostenida mayor de 89 mmHg, se asocia con un aumento medible del riesgo de aterosclerosis (endurecimiento de las arterias) y por consecuencia, se considera como una hipertensión clínicamente significativa (Kumar et al., 2009). En el 90% de los casos la causa de la HTA es desconocida, se denomina “hipertensión arterial esencial”, con una fuerte influencia hereditaria.

Clasificación	Presión sistólica		Presión diastólica	
	mmHg	kPa	mmHg	kPa
Normal	90–119	12–15.9	60–79	8.0–10.5
Prehipertensión	120–139	16.0–18.5	80–89	10.7–11.9
Fase 1	140–159	18.7–21.2	90–99	12.0–13.2
Fase 2	≥160	≥21.3	≥100	≥13.3
Hipertensión sistólica aislada	≥140	≥18.7	<90	<12.0

American Heart Association (2003)

La presión arterial se clasifica en base a dos tipos de medidas, la presión arterial sistólica y diastólica, expresadas como una tasa, como por ejemplo 120/80 mmHg («120 sobre 80») (Guyton and Hall, 2006; Harrison, 2006). La presión arterial sistólica (la primera cifra) es la presión sanguínea en las arterias durante un latido cardíaco. La presión arterial diastólica (el número inferior) es la presión entre dos latidos (Swales,

1995). Cuando la medida de la presión sistólica o diastólica está por encima de los valores aceptados como normales para la edad del individuo, se considera como prehipertensión o hipertensión, según el valor medido (Chobanian et al., 2003).

Existe otra clasificación de hipertensión arterial, descrito por Kumar et al., 2009; ésta es llamada “hipertensión arterial sistémica secundaria”. Lo más relevante para describir en esta investigación es mencionar que se puede presentar como causa endocrinológica, como por ejemplo al presentar:

- Hipertiroidismo
- Hipotiroidismo
- Feocromocitoma
- Hiperfunción de la corteza suprarrenal: síndrome de Cushing, hiperaldosteronismo primario (Síndrome de Conn), hiperplasia congénita adrenal, ingestión excesiva de regaliz.
- Hormonas exógenas: glucocorticoides, estrógeno (incluyendo el inducido por el embarazo y los anticonceptivos orales), alimentos que contengan simpaticomiméticos y tiramina, inhibidores de la monoamino oxidasa
- Acromegalia
- Hipertensión arterial del embarazo.

Hay diversos factores ambientales que contribuyen a desarrollar HTA, los cuales incluyen obesidad, consumo de alcohol, tamaño de la familia, profesiones estresantes (Oneida et al., 2009); así como un aumento notorio de prevalencia en sociedades económicamente prósperas y conforme se avance la edad de las personas.

Una de las principales etiologías de la HTA es por la ingesta de sodio; aproximadamente, un tercio de la población hipertensa se debe al consumo de sal (Katori and Majima, 2006). Otro factor es la resistencia a la insulina; en individuos normotensos, la insulina estimula la actividad del sistema nervioso simpático sin elevar la presión arterial, sin embargo, en pacientes con condiciones patológicas de base, como el síndrome metabólico, la aumentada actividad simpática puede sobreponerse a los efectos vasodilatadores de la insulina; esta resistencia a la insulina, ha sido propuesta como uno de los causantes del aumento en la presión arterial en ciertos pacientes con enfermedades

metabólicas (Dreisbach et al., 2010). Se ha relacionado un componente genético asociado a la aparición de la enfermedad, la hipertensión arterial, es uno de los trastornos más complejos en la cual se han estudiado a más de 50 genes que podrían estar involucrados. La edad también tiene influencia sobre la HTA, al transcurrir los años, el número de las fibras de colágeno en las paredes arteriales aumenta haciéndose rígidos los vasos sanguíneos, al reducir la elasticidad, el área del vaso se reduce y se crea una resistencia al flujo sanguíneo, creando como consecuencia compensadora, un aumento de la presión arterial (Harrison, 2006).

Una investigación publicada en el 2008, por Matuszeck, estudió los niveles elevados del cortisol circulante en hombres adultos jóvenes normotensivos (18 – 25 años) con antecedentes familiares de hipertensión, teniendo como niveles de cortisol plasmático de: 377+/- 23 contra 298 +/- 24nmol/L, respectivamente; n= 43 y 12, respectivamente;  $P < 0.05$  y se encontró que los niveles elevados de cortisol es una característica en los jóvenes adultos con antecedentes familiares de hipertensión.

Schoorlemmer en el 2009, citó un artículo que hace alusión a las diversas relaciones entre los niveles elevados de cortisol asociados con osteoporosis, hipertensión, diabetes mellitus, susceptibilidad a las infecciones y como protección contra la enfermedad pulmonar obstructiva crónica, se estudiaron personas mayores de 65 años, a las cuales se les evaluó el cortisol sérico y salival, teniendo como resultado que el alto cortisol salival matutino tiene un riesgo de mortalidad mayor que al presentar niveles bajos, con un índice de riesgo (HR) = 1.63,  $P = 0.04$ ; en los hombres, el cortisol sérico elevado presentó una disparidad (OR) de: 1.38,  $P < 0.01$  en hipertensión; (OR): 1.38,  $P = 0.02$  en diabetes; (OR): .72,  $P < 0.01$  asociado con enfermedad pulmonar crónica inespecífica, y en las mujeres, los niveles elevados de cortisol salival presentaron un odds ratio u oportunidad relativa (OR) en la diabetes de: 1.33,  $P = 0.01$  y en la enfermedad pulmonar crónica inespecífica de: .58,  $P = 0.02$ , obteniendo como conclusión la asociación que los niveles altos de cortisol están asociados con los grandes riesgos de mortalidad y presentar hipertensión y diabetes mellitus, pero, bajos con la enfermedad pulmonar crónica inespecífica.

En Suecia, Rosmond y Bjorntorp en el 2000, desarrollaron una investigación en la cual se demostró que la actividad del eje HPA es un predictor de enfermedad

cardiovascular, diabetes tipo 2 y de accidente cerebrovascular en una muestra de 1040 personas, solamente 284 aceptaron voluntariamente participar en el proyecto en edad de 51 años; 44 personas reportaron ser hipertensas, 8 eran tratadas con enzima convertidora de angiotensina y 25 con  $\beta$ - antagonistas adrenérgicos o con bloqueadores de los canales de calcio; 6 personas tenían diabetes tipo 2 y ninguno fue excluido. El cortisol fue evaluado con un dispositivo de muestreo llamado Salivette (Sarstedt; Rommelsdorf, Germany), el cual determinó las concentraciones de cortisol salival. Se tuvieron como resultados que los niveles metabólicos de la insulina, glucosa y triglicéridos estuvieron alrededor de -0.89 a -0.03, el colesterol entre 0.59-0.73, el cluster hemodinámico -0.11-0.28, mientras que el colesterol HDL fue encontrado solo alrededor de 2.26. El estudio fue realizado con el propósito de destacar la importancia del eje HPA en la salud humana y fué logrado introduciendo la función del eje HPA en los términos de las variabilidades de cortisol entre los factores de riesgo establecidos para las enfermedades cardiovasculares, diabetes tipo 2 y accidente cerebrovascular; también se encontraron que las anomalías en el eje HPA están estrechamente relacionadas con obesidad abdominal y con la resistencia a la insulina.

### **4.3 El Cortisol sobre el Organismo**

Con estos estudios, podremos darnos cuenta que el cortisol influye sobre el metabolismo de los carbohidratos, siendo uno de sus efectos más conocidos que consiste en estimular la glucogenia en el hígado, esto permite a otras hormonas glucolíticas, como la adrenalina y el glucagón a movilizar la glucosa en los periodos de necesidad como entre comidas (Dinneen, 1993).

Al existir un incremento incontrolado de la glucemia, ésto puede dar lugar a una reducción moderada de la utilización celular de la glucosa permitiendo así un efecto movilizador de los lípidos por depósitos en grandes cantidades de los glucocorticoides y dando como consecuencia alteraciones de la insulina sobre los tejidos causando una diabetes suprarrenal alcanzando un incremento de la glucemia hasta el 50% de sus límites normales (McMahon et al., 1988).

Uno de los principales efectos del cortisol sobre los sistemas metabólicos del organismo consiste en el descenso en los depósitos de las proteínas que puede darse en casi totalidad de las células del organismo excepto sobre el hígado, las proteínas pueden producir un mayor catabolismo dentro de la célula o sobre alteración en su síntesis con su presencia (Guyton and Hall 2006) y con esta acción en exceso, puede darse en un debilitamiento muscular que la persona sea incapaz de levantarse al estar en posición supina (Ferrando et al., 1999). El cortisol en elevadas concentraciones por un tiempo prolongado resulta en una gran disminución de las funciones de todos los tejidos del cuerpo incluyendo músculos, hueso, piel y déficit de memoria causando envejecimiento acelerado (Lupien et al., 1998).

Sobre el metabolismo de las grasas, el cortisol, ejerce un efecto directo que potencializa la oxidación de los ácidos grasos en el interior de la célula (Terpstra et al., 1978), en periodos prolongados de estrés o de ayuno prolongado con la mayor movilización de las grasas junto con éste, se induce una desviación de los sistemas metabólicos celulares que pasan de la utilización energética de glucosa a la utilización de los ácidos grasos (Francis et al., 1983). La administración de cortisol en forma farmacéutica por largos periodos de tiempo, se presenta una secreción excesiva de éste, desarrollando el Síndrome de Cushing: una obesidad que es peculiar a la vista: la grasa sobrante de su cuerpo se deposita en el tórax y en la cabeza “cuello de búfalo” así como cara redonda “de luna llena” (Raff and Findling 2003).

El cortisol es de gran importancia para resistir el estrés, ya sea físico o neurógeno, provoca un gran aumento inmediato y notable secreción de ACTH por la adenohipófisis (Dedovick et al., 2009), seguido por una secreción de cortisol por la corteza suprarrenal unos minutos después.

En un estudio realizado en ratas por los doctores Guillemin, Dear y Lipscomb se concluyó que algunos tipos de estrés que contribuyen al incremento de cortisol son:

- Traumatismo de cualquier tipo
- Infección
- Calor o frío intensos
- Inyección de noradrenalina y diferentes simpaticomométicos

- Cirugía
- Enfermedades debilitantes

Dando como resultado que la secreción de cortisol suele aumentar mucho en situaciones de estrés, puede ser que los glucocorticoides induzcan a una movilización de los aminoácidos y grasas a partir de depósitos celulares facilitando su uso para fines energéticos o para la síntesis de la glucosa teniendo como efecto la suministración de aminoácidos a las células para la síntesis de sustancias necesarias para la vida (Guyton y Hall 2006).

#### **4.3.1 Estrés**

El término estrés primero apareció en el índice de *Psychological Abstracts* en 1994 (Lazarus and Folkman, 1984). Se le ha dado una mayor atribución a la popularidad del concepto del estrés gracias a Hans Selye quién ha sido un escritor en el título de estrés a través de los últimos 50 años (O'Leary, 1990). Selye, como antecedente de biólogo, se facilitó ver el estrés desde el punto de vista fisiológico como una respuesta no específica del cuerpo ante cualquier demanda sobre él (O'Leary 1990). Se identificaron tres estadios asociados con los cambios funcionales nerviosos y endócrinos en cuanto al estrés: reacción de alarma, estadio de resistencia y de exhaustión; así como también describió las demandas que dan a conocer la respuesta del estrés como estresores. Hay ciertos estresores que siempre están presentes pero no parecen ser molestias particulares del día a día (Serido et al., 2004), como por ejemplo: ingresos bajos, no poder salir por falta de dinero o el estar a cargo de un pariente de edad adulta (Kiecolt-Glaser et al., 1987), estos pueden ser algunas de las fallas para capturar la naturaleza crónica de estresores como una carga pesada de trabajo o tener un trabajo que ejerce gran control sobre la vida profesional del individuo (Etzion et al., 1998), estos pueden ser grandes cuestiones de debate acerca de las mediciones acerca del estrés, es por eso que, estresores crónicos son objetivamente estados verificables: desempleo, ingresos bajos y el estar en viviendas populares; mientras que en la literatura de estrés ocupacional, hay mayor atención a las medidas de estresores crónicos al papel de los conflictos (Rizzo et al., 1970) y control profesional (Jackson et al., 1993).

### **4.3.2 Síntomas Físicos del Estrés**

La relación entre el estrés y la enfermedad son explícitas en muchos marcos de estresores/respuesta a las variables, encontrados a la literatura (Cooper y Marshall, 1976). Varios indicadores relatan que la enfermedades son usadas como indicadores fisiológicos o como diagnósticos médicos para evaluar el estrés. Generalmente, medidas fisiológicas objetivas tienden a ser relacionadas como superiores para su evaluación (Jex y Beehr, 1991). Estos incluyen medidas de cambios psicológicos encontraron ser precursores de condiciones de enfermedad, por ejemplo: síntomas cardiovasculares como presión arterial y niveles de colesterol en la sangre; síntomas bioquímicos en relación a catecolaminas, cortisol y ácido úrico (Fried et al., 1984). Mientras que las medidas suelen ser más objetivas y rigurosas que los reportes de cuestionarios para medir el estrés, comoquiera se tienen muchos problemas asociados con su relación. Jex y Beer en 1991, tomaron en cuenta que puede ser difícil de controlar un gran número de factores que afectan dichas medidas; estos incluyen factores estables, así como la edad y tendencias genéticas y factores transitorios como temperatura del ambiente o el ejercicio físico antes de que las medidas sean tomadas.

### **4.3.3 Fisiología del Estrés**

El sistema de respuesta inmediato del estrés se concentra en sus esfuerzos por la activación del sistema cardiovascular (Hua y Harrison, 2000). Los problemas de salud se desencadenan cuando la respuesta del estrés es repetidamente activado que el sistema cardiovascular se desgasta (Ramey et al., 2011); el incremento de la presión arterial, causado por la activación del sistema nervioso simpático, causa turbulencia en el flujo sanguíneo y daño físico en los vasos sanguíneos, los cuales se pueden permitir el acceso y depósitos de ácidos grasos y glucosa, dando como resultado una aterosclerosis (Gillingham et al., 2011), que tiene como repercusión ataques cardiacos y un accidente cerebrovascular (Fuster et al., 1992).

Otro sistema de respuesta al estrés es el eje hipotalámico pituitario adrenal (HPA), el cual activa al sistema nervioso simpático y al sistema de respuesta simpático

adrenomedular liberando adrenalina a la circulación sanguínea (Oldehinkel et al., 2011). El eje HPA sólo se activa en circunstancias extremas (Smith y Dobson, 2002): el impacto del estrés tiene un comportamiento físico y mental (Keil, 2004), sin embargo, puede ser inducido solamente por estresores fisiológicos a pesar de que su valor adaptativo se encuentre en habilitar al cuerpo para la “lucha o huída”.

Los estresores, que tienen gran impacto sobre los procesos fisiológicos y psicológicos son percibidos en los centros cerebrales altos (corteza cerebral), son procesados en las regiones límbicas (incluyendo el hipocampo y la amígdala) (Swaab et al., 2005) y son retransmitidos al hipotálamo, esta región, como resultado de los procesos anteriormente descritos, son integrados: un área particular del hipotálamo será activada y causará la producción de un mensajero químico llamado hormona liberadora de corticotropina (CRH), la cual, a su vez, causará la producción de la hormona adrenocorticotrópica (ACTH) (Engler et al., 1989 y Swaab et al., 2005). La ACTH, al ser liberada al sistema general de la circulación sanguínea, tiene como objetivos las glándulas adrenales localizadas en la porción superior de los riñones que son las responsables de liberar adrenalina (en la médula) y el glucocorticoide cortisol (por la corteza) a la circulación general (Jessop, 1999, Chrousos et al., 1998, Guyton y Hall, 2006).

La regulación de la secreción del cortisol en humanos de la corteza adrenal esta también regulada por el reloj biológico del cuerpo (McEwen, 2007); los niveles de cortisol circulante son bajos durante el sueño, pero al despertar, hay un fuerte estímulo al eje HPA (Rosmond et al., 1998): los niveles de cortisol suelen aumentar tres veces más durante los primeros 30 minutos al levantarse (Pressner et al., 1997). Por lo tanto, durante el día, la secreción del cortisol comprende dos grandes componentes: la respuesta al despertar y la caída subsecuente (Chernow, et al., 1987; Dorn, et al., 2007). El estrés induce la activación del eje HPA que superpone a ésta actividad de fondo (Smith y Dobson 2002), un estresor agudo, inducirá a una descarga abrupta de la secreción de cortisol por las glándulas suprarrenales, esto toma aproximadamente de 20 a 30 minutos para que el sistema de respuesta lo complete, típicamente, el cortisol circulante aumenta marcadamente a los 20 minutos después de un estresor agudo (Dedovic et al., 2009).

Si el cuerpo está continuamente expuesto a una activación del eje HPA, el resultado es la liberación repetitiva de reservas energéticas, las cuales inducirán a un exceso de glucosa (ácidos grasos libres) (Rosmond et al., 1998), que obstruirán los vasos sanguíneos contribuyendo a la formación de placas ateroscleróticas que restringirán el flujo sanguíneo y darán como consecuencia un posible ataque cardíaco y un accidente cerebro-vascular (Katan et al., 2011).

En el Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism en 1998 se publicó un artículo por Rosmond et al., en donde se evaluaron las concentraciones de cortisol en una población de 51 personas (n= 284), el cortisol salival fue evaluado en distintas ocasiones así como el estrés percibido, el índice de masa corporal, la circunferencia entre cintura y cadera, la insulina, la glucosa en sangre, triglicéridos y las lipoproteínas del colesterol (HDL) y (LDL) también fueron determinadas. Las concentraciones de cortisol fueron mayores en la mañana ( $P = 0.044$ ). El estrés relacionado con la secreción de cortisol fue asociado con el colesterol (HDL) y (LDL) así como con la presión arterial diastólica ( $P < 0.001$ ), insulina, ( $P = 0.039$ ), y la glucosa ( $P = 0.030$ ) y negativamente con los triglicéridos ( $P < 0.001$ ). Sin embargo, la correlación más fuerte que encontró el autor fueron con los factores de obesidad (índice de masa corporal y la circunferencia entre cintura y cadera), metabólicos (insulina, glucosa, triglicéridos y con los dos tipos de colesterol) y por último con las variables hemodinámicas (presiones arteriales sistólicas y diastólicas).

La respuesta del estrés también tiene un efecto directo en la actividad del sistema inmunitario (O'Leary, 1990), la principal función del sistema es proteger al cuerpo de diversos agentes infecciosos tales como bacterias, virus y parásitos; el estrés ha sido asociado con la disfunción del sistema inmunológico influyendo en la inmunosupresión general del organismo (Da Silva, 1999), dando lugar a que cualquier agente infeccioso ataque al cuerpo por no tener la capacidad de respuesta necesaria para evitar una infección o presentar vulnerabilidad para padecerla (Bennet y Cohen, 1993).

No solamente las activaciones del eje HPA y las elevaciones del cortisol predisponen a enfermedades cardiovasculares o a inmunosupresión, se han encontrado

estudios que el incremento de éste da lugar a la depresión o a un sentimiento de melancolía (Goodyer, 2000).

Hubo un estudio publicado en 1999 por Pruessner et al., en el Journal de Medicina Psicosomática en el cual se evaluaron los efectos del síndrome de agotamiento y de estrés percibido en un grupo de maestros con los niveles de cortisol salival al despertarse, con el Salivette kit (Sarstedt; Rommelsdorf, Germany) 66 maestros (42 mujeres y 24 hombres) fueron evaluados, para medir el estrés y el agotamiento, se emplearon tres cuestionarios diferentes para su detección y las mediciones salivales fueron a los 15, 30 y 60 minutos al despertar; los resultados fueron que hubo un incremento significativo del 50% al 70% en la primera media hora de cortisol ( $F(3,180) = 30.8; P < .001$ ), los niveles de cortisol se elevaron de 15 nmol/L al levantarse, a 25nmol/L, 30 minutos después en todos los maestros que padecían de éstas dos situaciones; las características que presentaron fueron problemas de autoestima, falta de autocontrol y un gran número de quejas somáticas así como la identificación de grandes diferencias endocrinológicas aparentes. Estos resultados demostraron grandes diferencias en la regulación del eje HPA en el estrés y en el síndrome de agotamiento.

#### **4.4 Efectos Antiinflamatorios del Cortisol**

El cortisol presenta efectos antiinflamatorios: por una infección bacteriana o un traumatismo; el tejido puede sufrir daño y ocasionar una inflamación (Schöbitz et al., 1994). Al administrarse cortisol en cantidades elevadas, puede bloquear la inflamación o revertir sus efectos (Di Rosa et al., 1985), una explicación válida en relación a este efecto, es mediante factores que permiten al organismo a resistir otros tipos de estrés físico cuando se secretan grandes cantidades de cortisol (Nieman, 2000) por la movilización de los aminoácidos para reparar los tejidos dañados gracias al incremento de la glucogenia o por el efecto innato del cortisol para inactivar o eliminar los productos antiinflamatorios (Roubenoff y Rall, 1993).

Los glucocorticoides reducen en gran medida las manifestaciones de la inflamación, esto se debe a sus efectos sobre la concentración, distribución y función de los leucocitos periféricos así como a sus efectos supresivos en las citocinas proinflamatorias (Cato y Wade, 1996), quimiocinas y otros mediadores lípidos y

glucolípidos de la inflamación (Farsky et al., 1995) así como también influyen en la respuesta inflamatoria al reducir la síntesis de prostaglandinas, leucotrienos y reducir la expresión de ciclooxigenasa II (Rhen y Cidlowski, 2005; Barnes, 2006).

Como efectos preventivos de la inflamación tenemos que el cortisol estabiliza las membranas lisosómicas (Weissmann et al., 2006), reduce la permeabilidad de los capilares, disminuye la emigración de los leucocitos a la zona inflamada así como la fagocitosis de las células dañadas (Dannenberg, 1979).

El cortisol inhibe al sistema inmunitario, disminuye la fiebre al reducir la liberación de interleucina-1 por los leucocitos (Kirk et al., 1987), dando como resultado el descenso de la temperatura al deprimir la vasodilatación así como también inhibe la formación de linfocitos e induce hiperplasia del tejido linfático (Berliner y Dougherty, 1960).

Es bien sabido que la hormona que más se relaciona con el estrés es el cortisol (Rosmond et al., 1998); hace tiempo se pensaba que la hipercortisolemia (Hilgert, 2005) causaba una supresión de la función inmune, ahora es evidente que estos cambios son un resultado de la adaptación al estrés crónico que se encuentra asociado con la activación de algunos aspectos de la inmunidad celular resultando en la hipersecreción de citocinas proinflamatorias como la IL-6 y la IL-10 (Leonard B., 2000) y de acuerdo a exámenes de estrés psicológico agudo se prueba un modelo teórico capaz de provocar respuesta de cortisol a eventos incontrolables y de carácter social (Dickerson, 2004). Es importante mencionar que no solamente el estrés psicológico aumenta la liberación del cortisol, también existen algunos que contribuyen a su liberación como por ejemplo: traumatismos, infecciones, calor o frío intensos, cirugía y enfermedades debilitantes (Rosmond et al., 1998).

#### **4.5 Enfermedad Periodontal**

Las enfermedades que afectan el periodonto consisten en una variedad de condiciones que dañan las estructuras de soporte dentario. Las enfermedades gingivales generan cambios patológicos en la encía, principalmente una respuesta inflamatoria en los tejidos ante la irritación de las bacterias que forman la placa bacteriana. (Loe, 1964, Fleming, 1999, Lindhe y Lang, 2008, Newman et al., 2010). Sin embargo, estos

cambios son reversibles una vez que la etiología es eliminada. La enfermedad periodontal o periodontitis es la progresión de la gingivitis hasta el punto que existe una destrucción de los tejidos de soporte (AAP). En el International Workshop For The Classification of Periodontal Diseases de 1999, se realizó la última clasificación de las enfermedades que afectan al periodonto (Armitage, 1999), en este se definió la periodontitis como *“una enfermedad inflamatoria de los tejidos de soporte de los dientes causada por microorganismos específicos que producen destrucción progresiva del ligamento periodontal y el hueso alveolar con formación de bolsas, recesión o ambas”* (Flemming, 1999).

Los cambios patológicos de la periodontitis se presentan con una migración apical de la unión epitelial a lo largo del raíz del diente, una pérdida de inserción de las fibras de tejido conectivo, reabsorción del hueso de soporte (AAP, Kinane y Lappin, 2001), profundidad de bolsa al sondeo y sangrado de ésta, utilizando una sonda calibrada en milímetros para su medición (Armitage, 2003), así como también exposición de furca, incremento de movilidad dental y/o exfoliación de dientes (Pihstrom, 2000).

La periodontitis crónica es la forma más frecuente de aparición de enfermedad. Típicamente se manifiesta en adultos alrededor de los 35 años, aunque la enfermedad se puede presentar en jóvenes y en niños. La prevalencia, la extensión y la severidad de la periodontitis se incrementan con la edad y no existe un punto determinado en que se pueda señalar y asegurar la aparición de la enfermedad (Flemming, 1999).

La periodontitis crónica se vincula con la acumulación de placa bacteriana y la formación de cálculo sobre la superficie dentaria y radicular. La progresión de la enfermedad es variable, el ritmo de avance puede ser lento durante periodos de tiempo largo con una pérdida de inserción ocurre rápidamente, (AAP, Soskolne y Kingler 2001). Datos clínicos indican que cualquiera de las dos formas de progresión pueden presentarse en diferentes pacientes o incluso en el mismo paciente, en sitios diferentes o en tiempos diferentes. Esto indica que la patogénesis de la enfermedad periodontal varía entre pacientes, sitios y tiempos (Van Dyke y Dave, 2005). Se han formulado hipótesis para explicar los mecanismos patológicos, sin embargo, no se ha llegado a una conclusión de porque se presenta esta variabilidad en la patogénesis.

Está comprobado que el inicio y la progresión de la periodontitis depende la presencia de bacterias capaces de provocar la enfermedad. Se han identificado más de 500 especies bacterianas en la placa, sin embargo, solamente un pequeño porcentaje de éstas son verdaderos agentes patógenos (Lindhe y Lang 2008). Este grupo de bacterias presentan 3 características:

- 1) capacidad para colonizar
- 2) habilidad para evadir los mecanismos de defensa del huésped
- 3) la capacidad de producir sustancias que directamente inician la destrucción de los tejidos (AAP).

Se puede afirmar entonces, que la patogénesis de la enfermedad periodontal depende de la virulencia, presencia y la cantidad de bacterias capaces de producir la enfermedad.

El ritmo de avance de la periodontitis puede deberse al impacto de los factores locales, sistémicos y ambientales que influyen en la interacción normal entre el huésped y las bacterias. Los factores sistémicos contribuyen de manera importante a la variabilidad de la progresión de la enfermedad; ya que tienen efectos directos en los mecanismos de defensa normales y en la respuesta inflamatoria del huésped (Salvi et al., 1997, Stanford y Rees 2003). Las enfermedades sistémicas en la modificación de la progresión de la periodontitis es difícil de establecer, ya que es necesario un mayor conocimiento de las enfermedades y de la complejidad de los mecanismos involucrados.

Se describe en el Workshop for the International Classification of Periodontal Disease de la American Association of Periodontology en 1999 con base a las características clínicas, radiográficas, histológicas y de laboratorio su división en localizada y generalizada de acuerdo a las superficies afectadas; su forma localizada presenta <30% de los sitios implicados y en su forma generalizada con >30%, ya sea de pérdida ósea o de la inserción, y describirse como ligera, moderada y grave con base a las características comunes ya descritas y a las específicas:

- Leve: 1 a 2 mm de pérdida clínica de la inserción
- Moderada: 3 a 4 mm de pérdida de inserción clínica

- Grave: >5mm de pérdida de inserción clínica

Es la progresión considerable de la periodontitis, con una pérdida mayor del soporte óseo alveolar, acompañada con un aumento en la movilidad del diente. Es probable que existan complicaciones en la furcación de dientes multirradiculares. La pérdida de inserción clínica es de 6 mm a más (Lindhe y Lang, 2008).

Existen diversas pruebas para el diagnóstico de la Enfermedad Periodontal. Entre las más usadas se citarán las siguientes:

- Medición de la profundidad del surco o bolsa periodontal.
- Pérdida de inserción clínica.
- Sangrado al sondeo.
- Movilidad dental.
- Pérdida o disminución del nivel óseo alveolar

#### **4.5.1 Índices Epidemiológicos**

Son las técnicas que intentan cuantificar las condiciones clínicas en una escala graduada facilitando la comparación entre las poblaciones examinadas en los mismos métodos y criterios. Un índice epidemiológico, valor numérico, estima sólo la prevalencia relativa de la ocurrencia de la condición.

A principio de la década de 1950, los índices de gingivitis estaban ganando popularidad, sin embargo, no había ningún índice para medir los estados más avanzados de la enfermedad periodontal (Newman et al., 2010) Rusell en 1956, desarrolló el Índice Periodontal. El Índice Periodontal requiere de: una fuente de luz, un espejo y un explorador. El valor total es la suma de los valores divididos entre el número de dientes examinados.

Los tejidos de soporte de cada diente en la boca se evalúan de acuerdo con una escala progresiva la cual se muestran los siguientes criterios de valoración:

0= Negativo: no hay inflamación manifiesta en los tejidos de revestimiento ni pérdida de la función provocada por la destrucción de los tejidos de soporte.

1= Gingivitis ligera: hay un área manifiesta de inflamación de la encía libre, pero no circunscribe al diente.

2= Gingivitis: la inflamación circunscribe al diente por completo, pero no hay una ruptura evidente en la inserción epitelial.

6= Gingivitis con formación de bolsa: se ha roto la inserción epitelial y hay una bolsa (no sólo profundización del surco gingival por inflamación de la encía libre). No interfiere con la función masticatoria normal; el diente está firme en su alveólo y no ha migrado

8= Destrucción avanzada con pérdida de la función masticatoria: el diente tal vez se encuentre flojo, haya migrado, o produzca un sonido sordo a la percusión con un instrumento metálico y se haya deprimido en el alveólo.

El Índice Periodontal de Ramfjord, en 1959, fue el primero con aceptación universal. Índice De La Enfermedad Periodontal De Ramfjord (IEP):

Fue desarrollado por Ramfjord en 1959, y también se conoce como PDI (Periodontal Disease Index), siendo la combinación de un puntaje para la Gingivitis, basado en el color, la forma, densidad y tendencia a la hemorragia de los tejidos gingivales con la medición de la profundidad de la bolsa en relación con el límite amelocementario (LAC), es decir, consta de dos componentes: uno para gingivitis y otro para periodontitis.

Los dientes que se examinan para la obtención del IEP son:

- 1.6: Primer Molar Superior Derecho
- 2.1: Incisivo Central Superior Izquierdo
- 2.4: Primer Premolar Superior Izquierdo
- 3.6: Primer Molar Inferior Izquierdo
- 4.1: Incisivo Central Inferior Derecho
- 4.4: Primer Premolar Inferior Derecho

Harald Löe y John Silness en 1963, propusieron un método para valorar la gravedad y cuantificar la inflamación gingival en pacientes o entre sujetos en grupos grandes de la población . Con el GI, sólo se valoran los tejidos ginivales, basados en las características de los diferentes grados de inflamación gingival, los cuales cada unidad gingival (vestibular, lingual, mesial y distal) de cada diente individual es dado en una puntuación desde 0-3, llamado Índice Gingival del área, los resultados de las cuatro áreas

del diente son sumadas y divididas en cuatro para dar el Índice Gingival del diente. Las puntuaciones de cada diente individual (incisivos, premolares y molares) deberán ser agrupados para designar el Índice Gingival del grupo de dientes. Finalmente, sumando los índices para los dientes y dividiéndolos entre los dientes estudiados, el Índice Gingival del paciente es obtenido. El índice para el paciente es por lo tanto, una puntuación promedio para las áreas examinadas. La profundidad de bolsa de cada área en los dientes medidos deben ser evaluados con una sonda periodontal graduada. En la parte vestibular y en la superficie lingual, las medidas deben ser tomadas a la mitad de la superficie, mientras que en mesial y distal, sólo serán evaluadas por la parte vestibular en la porción interproximal. Esto deberá ser realizado paralelo al eje longitudinal del diente.

Los criterios del Sistema del Índice Gingival son:

0= Ausencia de inflamación.

1= Inflamación Leve: cambio leve de color y cambio ligero en la textura.

2= Inflamación Moderada: enrojecimiento, edema, hipertrofia y brillo moderado. Hemorragia al sondeo.

3= Inflamación Severa: enrojecimiento e hipertrofia intensos. Tendencia al sangrado espontáneo. Ulceración.

El índice de placa también fue desarrollado por Sillness y Løe en 1964 y éste consta de las siguientes características:

0= Sin Placa

1= Película delgada de placa, que es perceptible a simple vista y puede ser detectada con sólo deslizar una sonda a lo largo de la superficie dental

2= Acumulación moderada de placa claramente visible

3= Abundancia de placa

#### **4.5.2 Aspectos Clínicos**

Se relaciona con la aparición de bolsas periodontales, así como por la pérdida de inserción apical a la unión cemento-esmalte; estos dos sucesos se pueden presentar en cualesquiera de las superficies dentales. En etapas más avanzadas, los dientes con periodontitis son móviles y es posible advertir migración patológica o desvío con la formación de diastemas conforme se alejan de su posición original. Las bolsas al ser

examinadas pueden sangrar, con posible exudado hemorrágico o supurativo. La encía frecuentemente se encuentra enrojecida y tumefacta (características de la gingivitis). En ocasiones se localiza acumulación de placa y cálculos subgingivales y supragingivales en o cerca del margen gingival, en particular en individuos sin profilaxis reciente.(Deo y Bhongade, 2010).

#### **4.5.3 Aspectos Radiográficos**

En radiografías tomadas con una buena técnica sea periapical o de aleta mordible, se aprecian trastornos prematuros en el hueso, con el desarrollo de lesiones en forma de taza, dispuestas de manera interproximal y con pérdida del hueso en la cresta del proceso alveolar interproximal, aún sin daño a la lámina dura. Una pérdida generalizada u horizontal del hueso ocurrirá en caso de que afecte a la mayoría de los dientes, en la misma proporción. La pérdida vertical de hueso se presenta cuando la evolución de la pérdida es más veloz en un punto en comparación con otros. La periodontitis infecciosa puede estar acompañada por espacios amplios del ligamento periodontal, zonas de reabsorción radicular y pérdida de lámina dura; sin embargo, dichos cambios suelen presentarse en pacientes que padecen periodontitis del adulto con traumatismo oclusal.

Se pueden diferenciar las siguientes entidades según su severidad:

##### **a) Periodontitis Crónica Leve:**

Comienzan como zonas de erosión localizada de la cresta ósea alveolar. El ángulo normalmente agudo que forman la lámina dura y la cresta alveolar puede perder su superficie cortical normal y dar una imagen redondeada con un borde irregular y difuso. Si sólo se aprecian cambios radiológicos leves, el proceso patológico puede haber comenzado hace tiempo, pues puede haberse producido una pérdida significativa de adherencia durante 6 a 8 meses antes de que se observen indicios radiológicos de pérdida ósea.

##### **b) Periodontitis Crónica Moderada:**

Si avanzan las lesiones de periodontitis adulta, la destrucción del hueso alveolar produce algo más que cambios precoces en la cresta alveolar y puede inducir la aparición de diversos defectos. Se puede reabsorber la placa cortical bucal o lingual, o pueden producirse defectos óseos entre las placas bucal y lingual.

c) Periodontitis Crónica Avanzada:

En la periodontitis (adulta) avanzada, la pérdida ósea es tan extensa que los dientes restantes presentan una movilidad y un desplazamiento excesivos y pueden llegar a desprenderse como consecuencia de la pérdida de sujeción. Puede existir una pérdida ósea horizontal importante o defectos óseos extensos.

**4.5.4 Factores que afectan la Prevalencia e Intensidad de la Periodontitis:**

- *Edad*: La prevalencia de la enfermedad periodontal aumenta en relación directa al aumento de edad.
- *Educación*: La enfermedad periodontal está inversamente relacionada con los aumentos de los niveles de educación.
- *Ingresos económicos*: La enfermedad periodontal está inversamente relacionada con el aumento de los niveles de ingresos económicos.
- *Lugar de residencia*: En general, la prevalencia y severidad de la enfermedad periodontal es ligeramente mayor en áreas rurales que en áreas urbanas.
- *Enfermedades Sistémicas*: La respuesta del huésped varía al padecer una respuesta inmune insuficiente o exagerada a los patógenos bacterianos y de ésta manera provocar formas más graves de la enfermedad periodontal.
- *Estrés*: Existen diversas investigaciones que al encontrarse bajo estrés hay cambios en el comportamiento del individuo y se demuestra como una higiene oral deficiente, bruxismo y el adquirir el hábito de fumar o realizarlo con más frecuencia.
- *Tabaquismo*: Se ha demostrado que la profundidad de bolsa, la pérdida de inserción y de hueso alveolar son más prevalentes y graves en pacientes fumadores (Hanioka et al., 2000).

El *National Center for Health Statistics* considera fumador a aquella persona que haya consumido  $\geq 100$  cigarros a lo largo de su vida, ya sea en la actualidad o en días que no hayan sido consecutivos, pero, para categorizar a los poco fumadores, no existe un consenso exacto en definirlos, ya que, una persona que sea poco fumadora, la aproximación mejor conocida es que han sido clasificados en fumar  $< 1$  paquete por día,  $< 15$  cigarros por día,  $< 10$  cigarros por día y de 1 a 39 cigarros por semana; sin embargo, hay varios subgrupos de poco fumadores en un día:  $< 5$  cigarros por día, muy poco fumadores:  $< 6$  cigarros por día y los que casi nunca fuman que consisten en  $< 5$  cigarros por día en los días que fuman (Schane et al., 2010).

Un estudio que demuestra la influencia del cigarro en la severidad de la enfermedad periodontal teniendo como parámetros periodontales recesión gingival (GR), profundidad de bolsa (PD), nivel de inserción clínica (PAL), y movilidad, no mostraron tener relación con la edad ni el sexo entre las personas estudiadas (899 pacientes periodontales entre los 21 y los 76 años de edad). El fumar un cigarro por día, más de 10 y más de 20 incrementaron el nivel de inserción clínica en .5%, 5% y 10% respectivamente. El impacto del tabaco es comparable al impacto resultando desde el incremento de PAL por .7% por cada año de vida. La comparación entre los fumadores de menos de 10 cigarros por día (PAL promedio de  $3.72 \text{ mm} \pm 0.86$ ) y los no fumadores (PAL promedio  $3.84 \pm 0.89$ ), no mostraron diferencias en PAL ( $p = 0.216$ ). mientras que la comparación de los fumadores de 11 a 20 cigarros (PAL promedio  $4.36 \pm 1.23$ ) para más de 20 cigarros al día (PAL promedio  $4.50 \pm 1.04$ ) demostraron diferencias significativas ( $p = 0.000$ ). estos resultados sugieren que el tabaco incrementa la severidad de la enfermedad periodontal y que su efecto es clínicamente evidente en el consumo de la cantidad del tabaco.

#### **4.5.5 Inflamación y Enfermedad Periodontal**

La destrucción de los tejidos periodontales se lleva a cabo mediante una compleja interacción del huésped con las bacterias de la placa (AAP). Observaciones histológicas han mostrado que los cambios patológicos en el tejido conectivo gingival y en el hueso alveolar ocurren en sitios profundos, lejos de la placa subgingival y de las bacterias que invaden el tejido blando (Kinane y Lappin 2001). Esto muestra que el daño a los tejidos se debe a acciones directas e indirectas de las bacterias. La presencia de la placa

bacteriana sobre la superficie dental y la producción de los elementos proinflamatorios por parte de las bacterias, produce una respuesta inflamatoria inicial en los tejidos gingivales. Conforme se producen cambios en los tejidos como adaptación a ésta irritación, la placa se va modificando y cada vez los microorganismos con mayores factores de virulencia van predominando (De Nardin, 2001). Las bacterias más patógenas producen enzimas que tienen la capacidad de degradar los tejidos periodontales, además de productos metabólicos que son tóxicos para las células (Graves, 1999, Honda et al., 2006).

La respuesta inflamatoria inicial es incapaz de contrarrestar todos estos mecanismos de virulencia, por lo tanto, la defensa del huésped activa procesos celulares que a la larga son dañinos al tejido conectivo y al hueso (Ritchie y Kinane, 2003).

Esto se debe a la llegada y posterior activación de las células de defensa como los leucocitos polimorfonucleares, los monocitos, linfocitos, entre otras. Éstas células secretan enzimas que con capaces de eliminar los microorganismos, pero también tienen la capacidad de degradar el colágeno, la matriz extracelular, las membranas basales y el hueso (Okada et al., 1998, Silva et al., 2007). La llegada de las células de defensa se debe a la señalización de las células dañadas. Esta señalización se hace a través de la liberación de citocinas por parte de las células, que también liberan quimiocinas, prostaglandinas e interferones (AAP). Las citocinas y los mediadores inflamatorios más comúnmente encontrados en lesiones periodontales son: la interleucina 1 (IL-1), interleucina 6 (IL-6), interleucina 8 (IL-8), el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), la prostaglandina E2 (PGE2), entre otros (De Nardin, 2001 Silva et al., 2007).

La IL-1 es una citocina proinflamatoria que favorece el ingreso de células de defensa a sitios de infección, promueve la reabsorción ósea y estimula la liberación de las metaloproteinasas. Estudios han demostrado que existe un aumento significativo de la IL-1 en sitios con enfermedad periodontal (AAP). La IL-6 es una citocina que promueve la formación de células plasmáticas, producción de anticuerpos y puede también estimular la formación de osteoclastos. La presencia de IL-6 es considerable en los tejidos gingivales inflamados (Okada, 1998). La IL-6 tiene una capacidad quimioatrayente importante. Principalmente atrae neutrófilos, pero también puede estimular a las

metaloproteinasas. El TNF- $\alpha$  actúa de manera similar a la IL-1, además puede aumentar la permeabilidad vascular y activar los linfocitos T y B (Graves, 1998, Iacopino, 2001).

La patogénesis de la periodontitis consiste en una serie de mecanismos y acciones de las defensas del huésped en contra de las bacterias. Estas bacterias son capaces de activar mecanismos antiinflamatorios que son inducidos por citocinas que pueden provocar la destrucción de la inserción del tejido conectivo y del hueso alveolar.

#### **4.5.6 Cortisol y Enfermedad Periodontal**

Se realizó una investigación en el 2009 por Rosania et al.; la cual constó de 45 pacientes periodontales que completaron cuestionarios de estrés crónico, de depresión y demográficos en donde se les midió el cortisol salival a los que padecieran de estrés crónico.

Los participantes tuvieron una muestra de saliva antes de la visita de mantenimiento para medir los niveles de cortisol. La saliva fue colectada por salivación pasiva a través de un vial de un popote de 1". Las muestras fueron guardadas en un congelador y enviadas al laboratorio para ensayos del cortisol. Los niveles de cortisol libre fueron determinados por radioinmunoensayo usando un antisuero de cortisol altamente específico. El antisuero hace reacción cruzada levemente con desoxicortisol (4.5%) y 21-desoxicortisol (6.8%) pero sin ningún otro esteroide endógeno. El nivel de la detección mínima fue .1pg/tubo. La varianza de interensayo fue de 7.6%. Ocho muestras no pudieron ser analizadas por la cantidad de saliva inadecuada. Sin embargo, 36 muestras fueron analizadas. No hubo diferencia significativa en variables dentales o psicosociales en aquellos en los cuales hubo saliva inadecuada comparada en aquellos que no presentaban ( $P > 0.05$ ).

Los resultados indicaron una correlación positiva entre la depresión ( $7.69 \pm 9.39$ ) y el número de los dientes perdidos ( $2.84 \pm 2.94$ ;  $r=0.54$ ;  $P < 0.001$ ). El estrés fue positivamente asociado con la pérdida de inserción de 5 a 7mm ( $3.86 \pm 4.21$ ) o pérdida de inserción  $>7$ mm ( $1.68 \pm 0.47$ ), aquellos pacientes que tuvieron mayores niveles de estrés, tuvieron mayor pérdida de inserción clínica 5 a 7mm ( $r= 0.25$ ;  $P= 0.05$ ) o pérdida de inserción  $>7$ mm ( $r= 0.37$ ;  $P < 0.01$ ). El resultado total de estrés fue marginalmente

correlacionado con el número de dientes perdidos y profundidad de bolsa de 5 a 7mm ( $7.61 \pm 9.65$ ), los cuales, dichos participantes con mayores niveles de estrés, tuvieron mayor número de pérdida de dientes ( $r= 0.21$ ;  $P= 0.08$ ) y más sitios con profundidad de bolsa de 5 a 7mm ( $r= 0.23$ ;  $P=0.06$ ).

El cortisol fue evaluado con el estado periodontal y hubo una correlación positiva entre el cortisol ( $2.90 \pm 2.03$ ) y profundidad de bolsa de 5 a 7mm, los pacientes con mayores niveles de cortisol tuvieron más sitios con profundidad de bolsa de 5 a 7mm ( $r= 0.28$ ;  $P= 0.05$ ). También el cortisol fue positivamente asociado con el número de dientes con pérdida de inserción 5 a 7mm ( $r= 0.47$ ;  $P<0.01$ ) y el número de sitios con profundidad de bolsa  $>7$ mm ( $r= 0.36$ ;  $P= 0.05$ ).

Se concluyó que durante periodos de estrés y de depresión, la pérdida dental y de inserción clínica estuvieron relacionados con los cambios inmunológicos y de comportamiento en relación a los estados psicológicos así como a los mayores niveles de cortisol salival.

Otro estudio (Hilgert et al., 2006), en donde se evaluó el estrés, el cortisol y la enfermedad periodontal en 235 participantes mayores de 50 años con por lo menos 6 dientes, y excluyeron los que ingerían corticoesteroides y/o inmunosupresores. Los participantes llenaron un cuestionario de variables demográficas, nivel socio-económico, exposición de tabaco, historia de salud y preguntas específicas acerca de su cuidado de salud. Se evaluó psicológicamente por medio de Lipp's Stress Symptoms for Adults Inventory (Lipp 2000). Se examinó el índice de placa visible (VPI) y el índice de sangrado gingival (GBI).

Las exámenes clínicos fueron: profundidad de bolsa (PD), nivel de inserción clínica (CAL) y sangrado al sondeo (BOP), se evaluaron seis sitios de cada diente con una sonda periodontal Williams.

La saliva fue colectada por medio de rollos esterilizados de algodón que se introducían en la boca por 3 minutos y se almacenaron en 1500 $\mu$ L codificados, Las muestras fueron colectadas 1 día antes de la examinación, la primera entre las 8 y 9am (antes de desayunar), la segunda entre las 11am y 1pm (antes de la comida) y la tercera entre 8pm y 9pm (antes de la cena). Los tubos Eppendorf fueron almacenados a 4°C por los pacientes y entregados en el día de la examinación.

Las muestras fueron almacenadas en un congelador a -20°C, después de descongelarse, las muestras fueron centrifugadas por 5 min a 1500g. El cortisol salival en las muestras por medidas de inmunoensayo enzimático (Coat-A-Coat kit, DPC, Los Angeles, CA, USA) para las determinaciones cuantitativas *in vitro* para las determinaciones del cortisol en saliva, los análisis fueron realizados en duplicado en sets seriales con una variación de 5.1 a 7.9%. Para la investigación, las tres medidas fueron realizadas por el área debajo de la curva (AUC). Todos los individuos en los cuales el cortisol AUC fueron por lo menos 34.94 nmol/L/hr (90<sup>th</sup> por ciento de AUC) fueron clasificados como hipercortisolémicos.

Las variables de hipercortisolemia, BOP en al menos 26%, género masculino y la última visita al dentista en más de un año, mostraron ser independientemente asociados con la severidad de la periodontitis. La hipercortisolemia, género, BOP en 25% de los sitios con <25% de higiene oral fueron independientemente asociados con la extensión de la periodontitis definido por CAL.

## 5. MARCO TEÓRICO

### 5.1 Periodontitis Crónica

La periodontitis crónica (antes llamada periodontitis del adulto) es el tipo más común de Enfermedad Periodontal producida por la extensión de la inflamación hacia los tejidos periodontales, debido a procesos infecciosos microbianos relacionados con la acumulación local de placa dental, cálculos y flora periodontal patógena subgingival (Lindhe y Lang, 2008). En el International Workshop For The Classification of periodontal Diseases de 1999, se realizó la última clasificación de las enfermedades que afectan al periodonto (Armitage, 1999), en este se definió la periodontitis como *“una enfermedad inflamatoria de los tejidos de soporte de los dientes causada por microorganismos específicos que producen destrucción progresiva del ligamento periodontal y el hueso alveolar con formación de bolsas, recesión o ambas”* (Flemming, 1999). La progresión de la enfermedad es variable, el ritmo de avance puede ser lento durante periodos de tiempo largo con una pérdida de inserción ocurre rápidamente, (AAP, 1999; Soskolne and Kingler 2001).

La periodontitis crónica es más común en adultos alrededor de los 35 años, aunque puede comenzar con un ataque prematuro. No es muy frecuente en adolescentes y adultos jóvenes, aunque si se puede presentar debido a deficiencias en el sistema inmunológico de éstos. La prevalencia, la extensión y la severidad de la periodontitis se incrementan con la edad y no existe un punto determinado en que se pueda señalar y asegurar la aparición de la enfermedad (Flemming, 1999).

### 5.2 Cortisol

El cortisol, también llamado hidrocortisona, es el glucocorticoide principal secretado por la corteza suprarrenal que posee grandes efectos en el aumento de la glucemia, en el metabolismo de las proteínas, lípidos y sobre los carbohidratos (Fauci et al., 2009); tiene gran función en el metabolismo intermedio, función cardiovascular, crecimiento, inmunidad (Chrousos 1995; De Kloet et al. 2005; Guyton y Hall 2006;

McEwen 2007), absorción de calcio en el organismo, mantenimiento de la presión arterial, gluconeogénesis y secreciones de ácidos y pepsinas (Migeon et al., 1990; Drucker, 1987; Fischbach, 1992). El cortisol es sintetizado a partir del colesterol (Richard H, 1974; Ganong 2010). En el adulto sano sin estrés se secretan al día 10 a 20 mg de cortisol y su velocidad alcanza un ritmo circadiano regido por impulsos regulares de ACTH que alcanzan su máximo las primeras horas de la mañana y tienen una disminución en su concentración conforme va transcurriendo el día, como por ejemplo al anochecer (Chernow, et al., 1987; Dorn, et al., 2007); como la producción de cortisol tiene un ritmo circadiano, esto quiere decir, oscilaciones de las variables biológicas en un tiempo determinado, los niveles de cortisol alcanzan éstas diferencias independientemente del ritmo circadiano en respuesta al estrés (Kreiger, 1975; Kirschbaum and Hellhammer, 1989).

Estudios reportan grandes correlaciones entre el suero y el cortisol salival indicando que los niveles de cortisol medidos por la saliva tiene niveles reales estimados a los que se encuentran en el suero (Hiramatsu, R. 1981, Vining et al., 1983 and Francis, et al., 1987). En sujetos normales, la concentración de cortisol salival es de  $15.5 \pm 0.8$  nmol/L (en un rango de: 10.2–27.3) a las 8:00 h por la mañana y de  $3.9 \pm 0.2$  nmol/L (en un rango de: 2.2–4.1) a las 20:00 h por la noche (Laudat et al., 1998). Los rangos de cortisol salival varían dependiendo de los establecimientos de cada laboratorio, cada uno posee sus valores estimados de acuerdo a las especificaciones e indicaciones realizadas antes y durante la toma de la muestra, sin embargo, el nivel normal de cortisol salival estimado matutinemente en los adultos es de 0.094 – 1.551  $\mu\text{g/dL}$  (Salimetrics 2011).

## **6. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

La enfermedad periodontal y su relación con las variables endocrinológicas ha sido poco estudiado.

Los glucocorticoides a través de la vía de la activación del eje hipotalámico hipofisario adrenal (HPA) tiene gran importancia debido a la habilidad para regular el reclutamiento de células inmunológicas en los tejidos inflamados; no obstante, una retroalimentación negativa del sistema inmunológico, asociado con el incremento de citocinas proinflamatorias, incrementan el eje HPA y causa elevación de los niveles de cortisol.

Al presentarse la acción inflamatoria suficientemente larga y profunda, las manifestaciones sistémicas de la enfermedad se convierten evidentes así como sucede en la enfermedad periodontal (LeResche and Dworkin, 2002).

Sin embargo, la activación del eje HPA con los niveles incrementados de cortisol puede estar asociado con la destrucción periodontal.

## 7. JUSTIFICACIÓN

Existen muy pocos estudios que revelan la relación del cortisol y la enfermedad periodontal; la periodontitis crónica esta relacionada con acumulación de placa y cálculos, y, por lo general, tiene un rango lento a moderado el cual puede verse afectado por periodos de destrucción más rápida en presencia de factores sistémicos como la Diabetes Mellitus y la Hipertensión Arterial así como factores ambientales como el tabaquismo y el estrés.

La hormona relacionada directamente con el estrés es el cortisol y su liberación en cantidades elevadas sobre los niveles normales contribuye a la presencia de enfermedades sistémicas; ya que en un estudio realizado en Suecia en el 2000, se encontró que la actividad del eje HPA en los términos de las variabilidades de cortisol es considerado como un predictor tanto de enfermedades cardiovasculares, diabetes mellitus tipo 2, hipertensión arterial así como de accidentes cerebrovasculares que al presentarse con anormalidades está estrechamente relacionado también con la obesidad abdominal y con la resistencia a la insulina.

Los factores de riesgo tanto locales como sistémicos y ambientales anteriormente mencionados, tienen la capacidad de influir en la interacción normal entre el huésped y las bacterias que afectan la prevalencia e intensidad de la enfermedad periodontal, sin embargo, la mayoría de éstos incluyen a la depresión como un cofactor que influye en su relación, o aún así, diversos estudios se han limitado a evaluar solamente si el estrés, el tabaquismo y/o la depresión son indicadores de riesgo para niveles incrementados de placa dentobacteriana y su progresión a la periodontitis en personas adultas.

La enfermedad periodontal, una de las enfermedades orales más frecuentes en la población adulta (Petersen et al., 2005); siendo ésta un proceso infeccioso que ataca y destruye las estructuras de soporte de los dientes provocando su pérdida (Ong, 1998 y Machtei et al., 1999) tiene como consecuencia la reducción del reborde alveolar, el cual es fundamental para restauraciones posteriores (Allen, 1971), entre muchos otros.

No obstante, no existe ningún estudio que relacione solamente la presencia de los niveles elevados del cortisol sobre el rango normal con la enfermedad periodontal crónica, teniendo como medio de diagnóstico al cortisol presente en el flujo salival como indicador, entre personas de 40 y 60 años de edad excluyendo se encuentren bajo tratamiento de corticoesteroides, antibióticos, hormonal, periodontal, con cualquier condición craneofacial, estrés y depresión, pero sobretodo, presentando el hábito de fumar .

El cortisol es una hormona que se secreta en altas concentraciones después de percibir un estado de estrés así como también por un traumatismo (Rosmond et al., 1998). En el adulto sano sin estrés se secretan al día 10 a 20 mg de cortisol y su velocidad alcanza un ritmo circadiano que alcanzan su máximo las primeras horas de la mañana y tienen una disminución en su concentración conforme va transcurriendo el día, como por ejemplo al anochecer (Chernow, et al., 1987; y Dorn, et al., 2007); estas diferencias son independientes del ritmo circadiano en respuesta al estrés (Kreiger, 1975). Es debido a esto que las pruebas salivales de cortisol se harán por la mañana para no tener resultados alterados en la investigación. El cortisol se eligió como medio de diagnóstico porque al tener sus concentraciones elevadas se asocia con inflamación crónica ya que los glucocorticoides pierden su habilidad para iniciar las respuestas por el sistema inmunológico (Glassman y Miller, 2007), sin embargo, una depresión inmunológica y una elevación crónica de cortisol puede resultar en inflamación y en una periodontitis crónica más destructiva (Genco et al., 1998, Kaufman y Lamster, 2000, Glassman y Miller, 2007).

El estudio se realizará por medio de la saliva ya que diversos estudios la han categorizado por ser un fluido diagnóstico de fácil acceso como biomarcador en la presencia del cortisol (Kaufman, 2000); es necesario mencionar que el abordar los factores sistémicos pueden ser una parte muy importante en la prevención de la enfermedad periodontal (Rosania et al., 2009).

## **8. DISEÑO**

### **8.1 Número de Muestras a Estudiar**

Según el problema propuesto y los objetivos planteados, la presente investigación será de tipo:

- Comparativo – Analítico: se determinará y comparará los niveles de cortisol salival en personas con la presencia y ausencia de enfermedad periodontal.

### **8.2 Conocimiento de los Investigadores en los Factores del Estudio:**

- Abierto

Se conocen las variables del experimento.

### **8.3 Participación del Investigador:**

- Experimental

Se controlarán todos los eventos estudiados.

### **8.4 Tiempo en que Suceden los Eventos:**

- Prospectivo:

Los datos obtenidos en el estudio del cortisol salival serán de eventos que se presenten en el momento del diagnóstico de la enfermedad periodontal, así como con los que carezcan de enfermedad periodontal (grupo control).

### **8.5 Relación que Guardan entre sí los Datos:**

- Transversal

La recolección de datos se realizará en un momento determinado.

### **8.6 Pruebas de Diagnóstico para medir Sensibilidad y Especificidad:**

- Clínico – Radiográfico

La información se evaluará mediante exámenes clínicos y evaluaciones radiográficas.

- ELISA

Evaluación salival por medio de un kit de inmunoensayo enzimático salival para medir las concentraciones de cortisol.

### **8.7 Estudios para medir la Asociación:**

- Cortisol:

Comparación entre los parámetros normales de cortisol salival en adultos de **.094-1.551 (µg/dL)** de 8am a 1pm con niveles aumentados por medio del método de ELISA.

- Enfermedad Periodontal Crónica:

En base a la profundidad de bolsa, pérdida de inserción clínica, índice de placa, índice gingival, índice periodontal y evaluación radiográfica.

## 9. MATERIALES Y MÉTODOS

### 9.1 Universo del Estudio:

La selección de pacientes será en función a los criterios de inclusión y exclusión en número de 44, los cuales, serán evaluados periodontalmente en el Posgrado de Periodoncia e Implantología de la Facultad de Odontología de la Universidad Autónoma de Nuevo León así como posteriormente se les tomará una muestra salival.

### 9.2 Tamaño de Muestra:

Por las condiciones de la variable a evaluar del tipo cualitativa (Diagnóstico de Enfermedad Periodontal) donde además, se trata de una población infinita se estima el tamaño de la muestra con la aplicación de la siguiente fórmula general:

$$n = \frac{z^2 p(1-p)}{e^2}$$

Para el presente proyecto se han determinado los siguientes valores que serán aplicados para determinar el tamaño de la muestra:

$z = 1.96$  para 95% confiabilidad

$p = 0.87$

$e = 0.10$

Para obtener el tamaño de la muestra se sustituyen los valores y se obtiene que:

$$n = \frac{(1.96)^2 (0.13)(0.87)}{(0.10)^2} \quad n = 43.45 \approx 44$$

De aquí se obtiene que el número total de casos del estudio será de 44 muestras las cuales serán divididas en grupos, el grupo experimental y el grupo control.

- a) La cantidad de casos en el *primer grupo* que consta de pacientes con enfermedad periodontal crónica es de 22. El número de pacientes en el *grupo control* es también de 22, en éste, las personas no sufren de enfermedad periodontal.

### **Diseño Estadístico:**

La población será aquella conformada por los pacientes que cumplieron con los criterios de inclusión y exclusión, serán clasificados en grupo experimental y grupo control dependiendo de su diagnóstico de enfermedad periodontal, les será asignado un número de registro secuencial.

Los datos serán capturados en una base de datos en el programa IBM SPSS Statistics 19 con el que se realizarán tablas de frecuencia de dos variables dentro de las cuales será considerada las variables principales (Diagnóstico de Enfermedad Periodontal, Índice Periodontal, Cortisol Salival, etc) confrontada con el resto de las variables establecidas en el instrumento de observación. Para algunos procedimientos estadísticos de clasificación y manejo de base de datos será empleado el programa Microsoft Excel 2010.

El presente proyecto contará con un modelo estadístico de presentación de datos que consistirá en la elaboración y descripción de tablas de frecuencias y porcentajes para las variables cualitativas y de intervalo, así como un modelo descriptivo de medidas de tendencia central y dispersión para las variables cuantitativas, además del uso de gráficos para las tablas mayormente relacionadas con el análisis de los datos, posterior a este diseño se realizará una descripción detallada de los resultados.

El modelo de análisis de datos que será aplicado al presente estudio consistirá en una prueba  $t$  de diferencia de medias en caso de que éstas correspondan a una distribución normal, lo cual se verá reflejado hasta que se cuente con los datos para realizar las pruebas pertinentes. La prueba consiste en obtener el promedio y la desviación estándar de los datos de ambos grupos y confrontarlos entre sí, evidenciando si existiera diferencia, estadísticamente significativa, entre los promedios del grupo experimental y los del grupo control.

La estadística de prueba para este modelo será verificada con la siguiente fórmula:

$$t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{\sqrt{\frac{s_1^2}{n_1} + \frac{s_2^2}{n_2}}}$$

Otra de las pruebas utilizadas para realizar inferencias en los resultados consiste en la determinación de una relación directa entre los resultados de cortisol salival con respecto al diagnóstico periodontal (grupo de estudio y grupo control) así como con el índice periodontal, posterior a ello se verificará si la dependencia, en caso de existir, será directa o inversa.

Dicho coeficiente será determinado bajo la siguiente estadística de prueba:

$$r = \frac{n \sum xy - (\sum x)(\sum y)}{\sqrt{n \sum x^2 - (\sum x)^2} \cdot \sqrt{n \sum y^2 - (\sum y)^2}}$$

Todas las pruebas aplicadas al presente proyecto serán realizadas considerando un nivel de confiabilidad de 95% (1- $\alpha$ : 0.95).

b) La forma de asignación de los casos a los grupos de estudio:

- Aleatoria

Se usarán tablas para generar números aleatorios.

Características del grupo experimental:

- Pacientes que se encuentren dentro de los criterios de inclusión y de exclusión, que firmen la hoja de consentimiento informado, se comprometan a seguir las indicaciones para la toma de la muestra y se les realice el diagnóstico periodontal.

Características del grupo control:

- Pacientes que se encuentren dentro de los criterios de inclusión y de exclusión, que acepten participar en el estudio firmando el consentimiento informado, que sigan las indicaciones para la toma de la muestra pero que no padezcan de enfermedad periodontal.

### **9.3 Criterios de Selección:**

#### **XII.III.I.- Criterios de Inclusión:**

- ✓ Grupo en estudio:
  - Hombres y mujeres entre 40 y 60 años.
  - Pacientes con enfermedad periodontal
  - No fumadores
  
- ✓ Grupo Control:
  - Hombres y mujeres entre 40 y 60 años
  - Pacientes sin enfermedad periodontal
  - No fumadores

#### **XII.III.II.- Criterios de Exclusión:**

- Pacientes que estén bajo tratamiento de corticoesteroides, antibióticos u hormonal.
- Pacientes con enfermedad y síndrome de Cushing
- Pacientes bajo tratamiento periodontal
- Fumadores
- Cualquier tipo de condición craneofacial: xerostomía, malformación, síndromes, etc.

#### **XII.III.III.- Criterios de Eliminación:**

- Pacientes que se encuentren bajo tratamiento periodontal o haber estado sometidos a éste por lo menos 4 meses previos a la investigación.
- Enfermedades sistémicas no controladas.

#### **XI.III.IV.- Unidad de Muestreo:**

Cada una de las personas diagnosticadas con o sin enfermedad periodontal reuniendo los criterios de selección integran la muestra del presente estudio.

#### **XII.III.V.- Unidad de Análisis:**

La saliva y piezas dentarias con su tejido periodontal circundante de los pacientes que padecen enfermedad periodontal así como los que no lo padecen integrarán la unidad de análisis de la investigación.

#### **XII.III.VI.- Definición de Variables:**

##### a) Variable Dependiente:

- El cortisol salival

Principal glucocorticoide que posee grandes efectos sobre el organismo: aumento de la glucemia, metabolismo de proteínas, lípidos, carbohidratos, metabolismo intermedio, función cardiovascular, crecimiento, inmunidad, absorción de calcio, presión arterial, gluconeogénesis, inhibe la inflamación y trabaja sobre el sistema inmunológico. Su rango normal estimado matutinemente en los adultos sanos es de 0.094 – 1.551µg/dL.

##### b) Variable Independiente:

- Edad

Se incrementan los niveles de cortisol conforme avanza la edad, de un 20-50% entre 20 y 80 años de edad (Cauter et al., 1996).

- Sexo

Se presentan variaciones entre las mujeres premenopáusicas, teniendo muy poca diferencia de niveles de cortisol bajos, mientras que en los hombres ésta característica no tiene efecto (Brandtstadter et al., 1991; Cauter et al., 1996).

- Horario

El evaluar el cortisol por las mañanas refleja las concentraciones más precisas y distintivas de cortisol por el eje HPA ya que se evita el efecto del ritmo circadiano.

- Hábito de fumar

Los niveles de cortisol son significativamente mayores en fumadores moderados y pesados que los poco fumadores o no fumadores (Canals et al., 1997).

- Hábito de alcoholismo

No se muestra diferencia en las concentraciones de cortisol en personas con el hábito de consumir alcohol o no (Canals et al., 1997)

- Diagnóstico de enfermedad periodontal

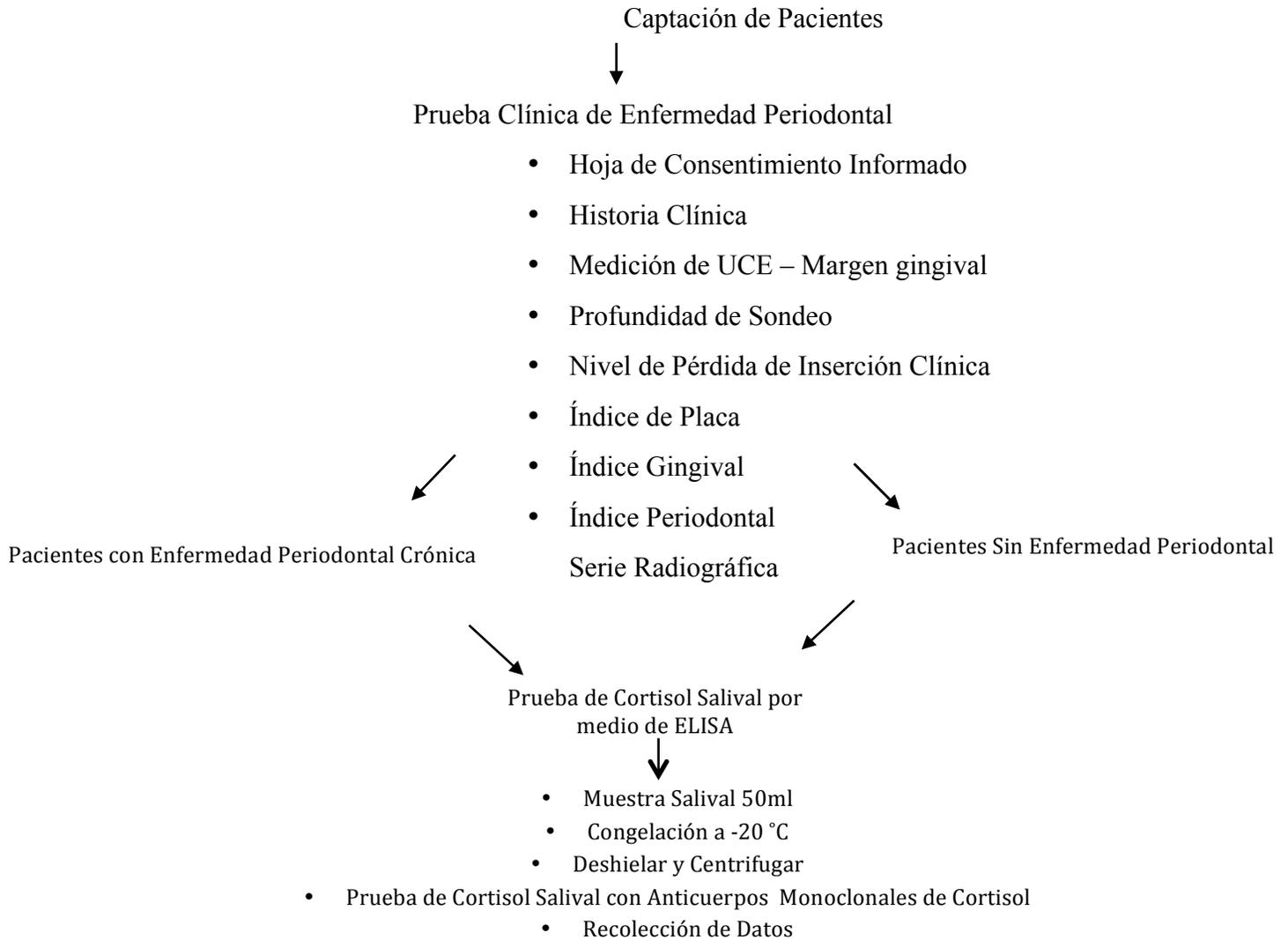
Enfermedad inflamatoria de los tejidos de soporte de los dientes causada por microorganismos específicos que producen destrucción progresiva del ligamento periodontal y del hueso alveolar, se caracteriza por formación de bolsas, recesiones y/o pérdida de inserción.

- Enfermedades sistémicas

En pacientes con Diabetes tipo 2, el grado de la secreción del cortisol se encuentra en relación con la presencia y el número de complicaciones diabéticas (Chiodini et al., 2007).

La asociación con los niveles elevados de cortisol están asociados con los grandes riesgos de mortalidad y presentar hipertensión y diabetes mellitus, pero, bajos con la enfermedad pulmonar crónica inespecífica (Schoorlemmer, 2009).

### XII.III.VII.- Descripción de Procedimientos:



Pacientes que acudieron al Posgrado de Periodoncia de la Facultad de Odontología de la Universidad Autónoma de Nuevo León por primera vez a consulta reuniendo los requisitos de los criterios de inclusión y de exclusión tanto del grupo de estudio como control, se les invitó a participar en el proyecto de investigación el cual constó de un diagnóstico periodontal así como de una prueba salival de 50ml tomando en consideración no presentar molestia alguna ni costo por el procedimiento. Los pacientes que aceptaron, firmaron un consentimiento informado (Anexo 1) en relación al estudio

así como también la historia clínica necesaria para comenzar a realizar el diagnóstico periodontal.

### **XII.III.IX. Etapa de Diagnóstico Periodontal y Toma de Muestra**

#### Fase de Diagnóstico:

Al momento de que el paciente se encontraba en el sillón dental, se le volvió a explicar acerca del proyecto; al comenzar con las evaluaciones clínicas, se le realizaron preguntas correspondientes para el llenado de la historia clínica, donde se investigó de su estado de salud general que incluyó condiciones médicas generales, como por ejemplo, en caso de presentar enfermedades sistémicas, se incluyó el tiempo de padecerlas, si se encontraba o no bajo tratamiento médico y cuales medicamentos ha estado ingiriendo para su control; toma de medicamentos en general, alergias, comportamiento de higiene oral, hábitos de higiene, cantidad de ingesta de alcohol, entre otras cosas, así como sus respectivas firmas que son requerimientos fundamentales en la institución (Anexo 2).

En esta cita, se le comentó al paciente que su diagnóstico periodontal y de cortisol salival le será entregado. Las características que se tomaron en cuenta para la medición de saliva y la cita para la evaluación también fueron entregadas por escrito (Anexo 3).

Se colocó el paciente en posición supina con iluminación natural y artificial, utilizando el espejo y una sonda periodontal calibrada en milímetros estándar (Hu-Friedy, Chicago, IL) la cual se insertó paralela al eje longitudinal del diente, primero, midiendo la distancia de la unión cemento-esmalte del diente al margen gingival, se colocó el número en positivo cuando se presentó recesión y en negativo al presentar agrandamiento gingival, se midió la profundidad de sondeo; la sumatoria o la sustracción de estas medidas dependiendo del caso fueron para tener la medida total de la pérdida de inserción clínica, esto se tomó en las partes mesiales, mediales y distales de cada pieza dentaria de la cavidad oral; tanto por vestibular como por lingual, así como también se midió la encía queratinizada tomando como referencia la línea mucogingival y el margen gingival. Se tomaron notas en caso de haber presentado sangrado al sondeo. A los dientes de Ramfjord, se les midió el índice de placa de Turesky con una solución reveladora, así como el índice gingival de Sillness y Løe y periodontal de Rusell.

Por último se procedió a realizar la toma de radiografías para completar el diagnóstico tomando en cuenta los niveles óseos presentes. Las mediciones se capturaron en un periodontograma.

Los pacientes que fueron diagnosticados con enfermedad periodontal crónica leve, presentaron 1 a 2mm de pérdida de inserción clínica y/o radiográfica; crónica moderada con 3 a 4mm de pérdida de inserción clínica y/o radiográfica y crónica avanzada  $\geq$  5mm de pérdida de inserción clínica y/o radiográfica así como los que no padezcan enfermedad periodontal se tomaron en cuenta para el estudio.

El grupo control que consistió de pacientes sin enfermedad periodontal cumplieron con los criterios de inclusión y exclusión anteriormente descritos, a los cuales, se les evaluó de la misma manera periodontalmente para de esta manera descartar que padezcan la enfermedad, solamente los dientes de Ramfjord fueron evaluados con el índice de placa de Turesky, índice gingival, índice periodontal, sondeo general y toma de radiografías periapicales.

#### Fase de Toma de Muestra:

En el día de su evaluación se les pidió permanecer en ayunas o por lo menos dejar pasar 60 minutos después de ingerir una comida pesada y 12h posteriores de consumir alcohol (Anexo 3).

Al paciente se le tomó una muestra de saliva de 50ml que fué escupido en un tubo de ensayo el cual se analizó en un Kit de Inmunoensayo Enzimático (ELISA) que se encarga de medir los anticuerpos segregados de cortisol. Éstos fueron recolectados en una hielera a  $-4^{\circ}\text{C}$  por un tiempo máximo de 2 hrs y posteriormente se congelaron las muestras a  $-20^{\circ}\text{C}$ .

Esto fue realizado en un periodo de 3 meses y solamente a los pacientes que asistieron durante este periodo cumpliendo con los criterios de inclusión y de exclusión se les dió primeramente en una cita, el diagnóstico periodontal y posteriormente, en la segunda cita, la toma de muestra salival en un horario entre las 8:00am y 1:00 pm.

#### **XII.III.X. Etapa de Análisis de Laboratorio**

Se evaluó por medio de Salimetrics: Alta Sensibilidad, Cortisol Salival, Kit De Inmunoensayo Enzimático. El Kit de Cortisol Salimetrics es un inmunoensayo altamente

competitivo diseñado específicamente para la medición cuantitativa de cortisol salival. Está destinado sólo para investigación en humanos y en algunos animales.

### **XII.III.XI. Inmunoensayo Enzimático**

Las aproximaciones de aplicación en los inmunodiagnósticos con las técnicas de inmunoensayo para la medición de biomarcadores en la saliva han sido problemáticos. Este kit de ensayo se diseñó para hacer frente a esos problemas. En primer lugar, antes de finales de 1990 la mayoría de los inmunoensayos disponibles para el cortisol salival fueron las modificaciones de los protocolos desarrollados para su uso con suero o plasma. Los estándares utilizados en los kits de ensayo fueron suspendidas en una matriz de suero humano. Dado que la composición del suero es muy diferente de la saliva, las normas son susceptibles de producir resultados que son influenciados por diferencias de la matriz.

Para asegurar los resultados más precisos, este test salival de inmunoensayo utiliza una matriz que coincide con la saliva.

En segundo lugar, el nivel de cortisol en la saliva es significativamente menor que los niveles en la circulación general. El uso de una curva estándar desarrollado para capturar el rango de los valores esperados en muestras de suero o plasma a menudo no es lo suficientemente sensible como para captar la completa gama de diferencias individuales en el nivel previsto en la saliva. Este ensayo es diseñado para capturar la gama completa de los niveles de cortisol salival (0.003 a 3,0  $\mu\text{g/dL}$ ), mientras que utilizando sólo el 25  $\mu\text{L}$  de saliva por ensayo.

En tercer lugar, el pH de la saliva se aumenta o disminuye por el consumo de alimentos y/o bebidas. El comportamiento de los inmunoensayos se convierten en comprometidos ya que el pH de las muestras que deben analizarse en las gotas por debajo de 4 (Raff et al., 1998). Esto se traduce en niveles artificialmente inflados. Este sistema de ensayo está diseñado para ser resistente a los efectos de las interferencias causadas por la recolección técnicas que afectan el pH. Además, se incorpora un indicador de pH que advierte al usuario de las muestras de ácido o básico.

### **XII.III.XII. Principios del Test**

Los principios del test constan de una placa de microtitulación cubierto por anticuerpos monoclonales de cortisol. El cortisol en las normas y en lo desconocido compete con el cortisol vinculados con peroxidasa de rábano para los sitios de unión de los anticuerpos. Después de la incubación, los componentes no unidos son lavados.

La peroxidasa de cortisol se mide por la reacción de la enzima peroxidasa en el sustrato tetrametilbenzidina (TMB). Esta reacción produce un color azul. Un color amarillo se forma después de parar la reacción con ácido sulfúrico. La densidad óptica se lee en un lector de placas estándar a 450 nm. La cantidad de cortisol-peroxidasa según lo determinado por la intensidad del color, es inversamente proporcional a la cantidad de cortisol presente.

### **XII.III.XIII. Indicador de pH**

Un indicador de pH en el diluyente de ensayo avisa al usuario de las muestras con valores de pH alto o bajo. Las muestras ácidas se pueden tornar en el amarillo diluyente. Las muestras alcalinas se tornan a púrpura. Los pozos oscuros de color amarillo o púrpura indican que un valor de pH de la muestra deberán obtenerse mediante tiras de pH. Los valores de cortisol a partir de muestras con un pH <3.5 o >9.0 puede ser artificialmente elevados o bajados.

### **XII.III.XIX. Almacenamiento**

Todos los componentes de este kit son estables a 2-8 ° C hasta la fecha de caducidad del kit.

### **XII.III.XX. Medidas de Seguridad**

La solución líquida parada es una solución de ácido sulfúrico 3 molar. Esta solución se debe usar cuidado. La solución de parada en forma de polvo no es a base de ácido sulfúrico y es ligeramente corrosiva.

### **XII.III.XXI. Materiales suministrados por el Kit**

1.- Placa recubierta con anticuerpos anti-cortisol: Una placa de microtitulación de 96 pocillos previamente recubierta con anticuerpos monoclonales anti-cortisol lista para usarse en una bolsa con cierre.

2. Normas de cortisol: Seis viales, 500 L cada uno, etiquetados AF, que contiene concentraciones de cortisol de 3.000, 1.000, 0.333, 0.111, 0.037, y 0.012  $\mu\text{g/dL}$ , en una matriz sintética de saliva con un preservativo sin mercurio (Valores en  $\text{nmol/L}$  son 82.77, 27.59, 9.19, 3.06, 1.02 y 0.33  $\text{nmol/L}$  respectivamente). Las normas son trazables al estándar NIST.

3. Controles de Cortisol: Dos controles que representan los niveles altos y bajos de cortisol en saliva como matriz con un preservativo sin mercurio. Cada vial contiene 0,5 ml.

4. Tampón de lavado: 100 ml de una solución amortiguadora de fosfato 10X contiene detergentes y un preservativo sin mercurio. Se diluye sólo la cantidad necesaria para el día actual. Se desecha cualquier reactivo sobrante. Se diluye el tampón de lavado concentrado 10 veces con la temperatura ambiente de agua desionizada (100 ml de tampón de lavado 10X a 900 ml de H<sub>2</sub>O desionizada).

(Nota: Si precipitado se ha formado en el buffer de lavado concentrado, puede ser calentada a 40 ° C durante 15 minutos. Enfriar a temperatura ambiente antes de su uso en el ensayo).

5. Diluyente de la Prueba: 60 ml de solución tampón fosfato que contengan un pH indicador y un reactivo pH para su diagnóstico.

6. Conjugado de enzima: 50 L de una solución de cortisol marcado con peroxidasa de rábano picante. Se diluye antes de su uso con el diluyente.

7. Tetrametilbenzidina (TMB): 25ml de no tóxicos, listos para usar en solución.

8. Solución de parada: 12,5 ml de una solución de ácido sulfúrico.

9. Unión no específica Wells (NSB): Estos pozos no contienen anti- anticuerpos de cortisol. Con el fin de apoyar el uso múltiple, una tira de pozos de NSB está incluido. Se encuentran en la bolsa de aluminio. Se puede romper fuera y se inserta como espacios en blanco (opcional) cuando sea necesario.

### **XII.III.XXII. Preparación de los Participantes y Documentación**

Para prevenir la posibilidad de que se encuentren sustancias contaminantes en la saliva que pudieran interferir con el inmunoensayo, se recomiendan las siguientes precauciones para los participantes que serán los donantes de la saliva:

- Eliminar la ingestión de alcohol antes de la colección de saliva.
- No ingerir comidas completas en al menos 60 minutos antes de la recolección de saliva.
- Evitar productos lácteos por 20 minutos antes de la recolecta de saliva.
- Evitar alimentos con alto contenido de azúcar o acidez, contenido de cafeína alto, inmediatamente antes de la colección de saliva, ya que pueden comprometer el ensayo reduciendo el pH de la saliva e incrementando el crecimiento bacteriano (Granger et al., 2007 y Whembolua et al., 2006).
- Enjuagar la boca con agua para la remoción de los residuos de comida antes de la recolección. Esperar por lo menos 10 minutos después del enjuague para la recolección de saliva para evitar la dilución de la muestra.
- Documentar el consumo alcohol, cafeína, nicotina y prescripción de medicamentos de venta libre.
- Se recomienda documentar el nivel de actividad física para los participantes y la presencia de enfermedades orales (Emack y Kostaki, 2008; Lutz et al., 2000).

### **XII.III.XXIII. Contaminación de Sangre en la Saliva**

La contaminación de las muestras de saliva con sangre es de preocupación debido a que los niveles de la mayoría de los análisis son mayores en la circulación general que en la saliva. La sangre puede fugarse en la saliva bajo ciertas condiciones, e incluso, una cantidad invisible de contaminación de sangre tiene el potencial de elevar falsamente los niveles del análisis de saliva (Schwartz y Granger, 2004; Granger et al., 2007). Se recomienda lo siguiente:

- Los participantes no deberán de lavar sus dientes por lo menos en 45 minutos antes de la colección de la muestra.

- Procedimientos dentales no deberán ser realizados en al menos 48 hrs antes de la colección de la muestra.
- Los participantes de la investigación deben ser examinados de problemas orales o lesiones.
- Las muestras de saliva contaminadas con sangre visiblemente deberán ser descartadas.

### **XII.III.XIX. Manipulación de Muestras y Almacenamiento**

Para proteger los análisis inestables y prevenir crecimiento bacteriano (Whembolua et al., 2006), se asesora que todas las muestras deberán ser mantenidas a 4°C, pero no más tiempo del necesario (idealmente 2hrs), antes de congelarlas a -20°C (temperatura de un congelador casero). Congelar y centrifugar ayuda a precipitar las mucinas en las muestras, que harán el pipeteo más fácil. Sin embargo, los ciclos deberán ser minimizados para algunos análisis. Es crítico que las condiciones de almacenamiento sean investigadas antes de la colección de las muestras de saliva.

Al momento de realizar el ensayo de las muestras, mantenerlas a temperatura ambiente, agitar y después centrifugar por 15 minutos aproximadamente a 3,000 rpm (1500 por g). Los ensayos deberán ser realizados usando saliva clara solamente, evitando cualquier sedimento presente en la parte superior del tubo. Al momento de pipetear, en las soluciones viscosas como la saliva, una mayor exactitud en el volumen de la muestra es obtenida aspirando lentamente, para evadir la formación de burbujas. Re-centrifugar los tubos siguiendo cada ciclo de congelación–deshielo desde precipitados adicionales puede desarrollar una re-congelación.

### **XII.III.XX. Materiales Necesarios pero no Suministrados por el Kit**

- Pipeta de precisión para entregar 15 y 25 ml
- Pipeta multicanal de precisión para suministrar 50 ml y 200 ml
- Vórtice
- Placa giratoria con la órbita de 0.08-0.17 pulgadas (en su defecto, golpear suavemente la placa para mezclar)

- Lector de placas con un filtro de 450 nm
- Gráfico log-lineales de papel o de programas informáticos para la reducción de datos
- Agua desionizada
- Recipientes para reactivos
- Un tubo desechable capaz de contener 24 ml
- Puntas de pipeta
- Pipeta serológica para entregar hasta 24 ml

### **XII.III.XXI. Recolección de la Muestra**

Se evita la toma de muestras dentro de los 60 minutos después de comer una comida pesada o dentro de las 12 horas después de consumir alcohol. Las hormonas presentes en los productos lácteos pueden tener una reacción cruzada con anticuerpos anti-cortisol y producir resultados falsos. Los alimentos altos en azúcar pueden comprometer el funcionamiento del ensayo reduciendo el pH de la muestra e influir en el crecimiento bacteriano. Para minimizar estos factores, se deberá enjuagar bien la boca con agua 10 minutos antes de que la muestra sea realizada.

Los donantes pueden escupir saliva inclinando la cabeza hacia adelante, permitiendo que la saliva esté en el piso de la boca, a continuación, pasar la saliva a través de una pajita en un corto polipropileno vial.

No se utilizaron tiras reactivas, que dan lugar a falsos positivos debido a las enzimas de la saliva. Se registrarán la fecha y hora de recogida de muestras cuando las muestras son obtenidas debido a la variación diurna de los niveles de cortisol.



### XII.III.XXII. Manipulación de las Muestras y Preparación

Después de la recolección es importante para mantener las muestras en frío, a fin de evitar el crecimiento bacteriano, las muestras deberán ser refrigeradas 30 minutos, y la congelación deberá ser igual o inferior a  $-20^{\circ}\text{C}$  en las 4 horas después de la recolección. (Las muestras pueden ser almacenadas a  $-20^{\circ}\text{C}$  o inferior durante mucho tiempo de almacenamiento a largo plazo).

*No agregar azida de sodio para muestras de saliva como conservante, ya que puede causar interferencia en el inmunoensayo.*

La congelación de muestras de saliva precipitará las mucinas. En el día de ensayo, deshielar completamente y agitar y centrifugar a  $1500 \times g$  (@ 3000 rpm) durante 15 minutos.

Las muestras deben estar a temperatura ambiente antes de añadir a la placa de ensayo. Pipetear la muestra en los pocillos correspondientes. Las partículas pueden interferir con la unión del anticuerpo, que conduce a resultados falsamente elevados. Se evitarán múltiples ciclos de congelación y descongelación. Sin embargo, si las muestras se han vuelto a congelar, se centrifugará nuevamente antes del ensayo.

Al momento de realizar el ensayo ...



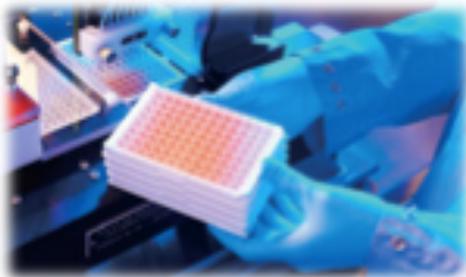
Mantener los reactivos a temperatura ambiente



Preparar la placa para su uso con los pocillos de NSB



Preparar el tubo con 24mL de diluyente para la dilución de conjugado



Analizar la muestra

se mezclarán las muestras con anticuerpos de cortisol



Centrifugar por 15min a 3000rpm



### **III.XXIII. Preparación de los Reactivos**

- Se mantendrán los reactivos a temperatura ambiente y mezclar antes de su uso. Un mínimo de 1,5 horas es necesario para la 24 ml de diluyente utilizado en el paso 5 (conjugado de dilución) a la temperatura ambiente.
- Se tendrá la placa de microtituración a temperatura ambiente antes de su uso. Es importante mantener la bolsa con cierre hermético con las tiras de la placa de cierre hasta que se caliente a la temperatura ambiente como humedad ya que se puede tener un efecto en los pocillos recubiertos.
- La preparación del tampón de lavado 1X será diluyendo el tampón de lavado concentrado 10 veces con sala temperatura del agua desionizada (mL de tampón de lavado 10X 100 a 900 ml de agua desionizada H<sub>2</sub>O). Se diluirá sólo lo suficiente para el día actual y descartar los restos del agente que sobró. (Si se ha formado precipitado en el tampón de lavado concentrado, puede ser calentada a 40 ° C durante 15 minutos). Se enfriará a temperatura ambiente antes de su uso en el ensayo.

### **XII.III.XXIV. Procedimientos**

Paso 1: Determinar la placa de diseño (tabla de filas y columnas para organizar la información).

Paso 2: Mantener el número deseado de tiras en el recipiente de tiras y colocar las tiras de nuevo en la bolsa de aluminio. Si se opta por colocar los pozos de unión no específicos en H-1, 2, remover las tiras 1 y 2 del soporte de tiras y romper los pozos de fondo. Poner las tiras de nuevo en el soporte de tiras dejando H-1, 2 en blanco. Romper dos pozos NSB de la franja de NSBs incluidos en la bolsa de aluminio. Colocar en H-1, 2.

Alternativamente, NSBs se puede colocar en cualquier parte de la placa. Volver a sellar la bolsa de aluminio que contiene los pozos sin usar y disecar. Conservar a 2-8 °C.

Precauciones: 1. Los pozos extras NSB no deben ser utilizados para la determinación de las normas, controles o indeterminados.

2. No inserte los pozos de una placa en una placa diferente.

Paso 3: Pipetear 24mL del diluyente del ensayo en un tubo desechable. Reservado

para el paso 5.

Paso 4: Pipetear 25  $\mu\text{L}$  de normas, controles e indeterminados en los pocillos correspondientes. Las normas, controles e indeterminados deben ser analizados por duplicado.

Pipetear 25  $\mu\text{L}$  de diluyente en 2 pozos para servir como el valor cero.

Pipetear 25  $\mu\text{L}$  de diluyente de ensayo en cada uno de NSB.

Paso 5: Hacer una dilución de 1:1600 del conjugado añadiendo 15  $\mu\text{L}$  del conjugado a los 24mL del diluyente del ensayo preparado en el paso 3. (Bajar la escala proporcionalmente si no se usa la placa completa). Inmediatamente mezclar el conjugado diluido y pipetear 200 $\mu\text{L}$  en cada pozo usando una pipeta multicanal.

Paso 6: Mezclar la placa en un rotador por 5 minutos a 500rpm (o tapar y mezclar) e incubar a temperatura ambiente por 55 minutos adicionales.

Paso 7: Lavar la placa 4 veces con un buffer 1X. Se recomienda un limpiador de placa. Sin embargo, el lavado puede ser hecho suavemente usando chorros de buffer en cada pocillo con una jeringa, o pipeteando 300 $\mu\text{L}$  de buffer limpiador en cada pocillo, y luego desechar el liquido invirtiendo la placa sobre el lavabo. Después de cada lavado, la placa debe ser completamente borrados en toallas de papel antes de voltearlo verticalmente. Si se utiliza un lavador de placas, borrar es todavía recomendado después del último lavado.

Paso 8: Agregar 200  $\mu\text{L}$  de solución TMB en cada pocillo con una pipeta multicanal.

Paso 9: Mezclar en un platillo rotador por 5 a 500 rpm e incubar la placa a oscuras a temperatura ambiente por 25 minutos adicionales.

Paso 10: Agregar 50  $\mu\text{L}$  de una solución de parada con una pipeta multicanal.

Paso 11: Mezclar en un platillo rotador por 3 minutos a 500rpm (o tapar para mezclar).

Precaución: ***El salpicar puede ocurrir si la velocidad se excede a 600 rpm***

Limpia la parte baja de la placa con una toalla humidificada con agua y secar hasta limpiar.

Leer en un lector de placa a 450nm.

Hacer la lectura en los primeros 10 minutos después de agregar la solución de

terminado. (Para mejores resultados, se recomienda una corrección de 490 a 630nm de un filtro secundario).

#### **XII.III.XXV. Limitaciones**

El diagnóstico del Síndrome de Cushing deberá ser confirmado por pruebas adicionales de diagnóstico para la enfermedad, como la prueba de supresión de dexametasona a dosis baja.

Los niveles del cortisol son elevados durante las últimas etapas del embarazo y en mujeres usando anticonceptivos orales o después de un uso prolongado de anticonceptivos orales (Vining et al., 1983 y Susman et al., 1999).

Algunos estudios muestran diferencias de desarrollo en cortisol así como con una asociación entre el cortisol y el peso (Kiess et al., 1995).

Los niveles elevados del cortisol pueden ser encontrados en condiciones de sepsis, infección, enfermedad hepática crónica e insuficiencia renal. Los bajos niveles de cortisol resultan de enfermedad hepática, hiposecreción pituitaria, hipotiroidismo o terapia con esteroides.

#### **XII.III.XXVI. Resumen de Procedimientos**

1. Mantener los reactivos a temperatura ambiente y mezclar antes de su uso.
2. Llevar la placa a temperatura ambiente y prepararla para su uso con los pocillos de NSB.
3. Preparar el tampón de lavado 1X.
4. Preparar el tubo con 24mL de diluyente para la dilución de conjugado, que se hará más adelante.
5. Pipetear 25 uL de normas, controles y desconocidos en los pozos apropiados.
6. Pipetear 25 uL de diluyente en cero y pozos NSB.
7. Hacer la dilución final 1:1600 del conjugado ( 15mL en 24 ml del diluyente de ensayo), mezclar, e inmediatamente pipetear de 200m L en cada pocillo.
8. Mezclar la placa durante 5 minutos a 500 rpm. Incubar por un período adicional 55 minutos a temperatura ambiente.
9. Lavar la placa 4 veces con el buffer de lavado 1X. Blot.

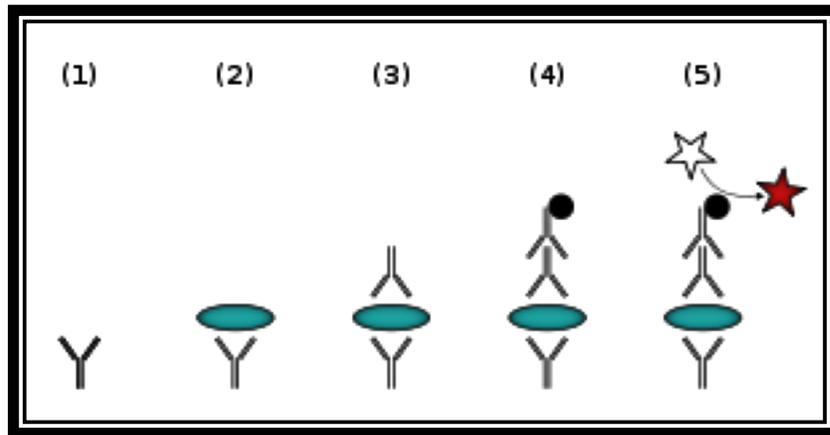
10. Añadir 200 uL de solución de TMB a cada pocillo.
11. Mezclar la placa durante 5 minutos a 500 rpm. Incubar sin luz en la habitación a temperatura ambiente por 25 minutos adicionales.
12. Añadir 50 uL de solución de parada a cada pocillo. Mezcle por 3 minutos a 500rpm.
13. Limpiar la parte inferior limpia del plato y leer en los primeros 10 minutos de haberse añadido la solución de parada.

### **XII.III.XXVII. Fundamento de ELISA (Ensayo por Inmunoabsorción Ligado a Enzimas)**

ELISA es una técnica de inmunoensayo en la cual un antígeno inmovilizado se detecta mediante un anticuerpo enlazado a una enzima capaz de generar un producto detectable como cambio de color o algún otro tipo; en ocasiones, existe un anticuerpo primario que reconoce al antígeno y que a su vez es reconocido por un anticuerpo secundario que lleva enlazado la enzima anteriormente mencionada. La aparición de colorantes permite medir indirectamente mediante espectrofotometría el antígeno en la muestra.

Se usa en muchos laboratorios para determinar si un anticuerpo particular está presente en la muestra de sangre de un paciente. Aunque el procedimiento es rutinario y sencillo, involucra a un gran número de variables, tales como selección de reactivo, temperatura, medición de volumen y tiempo, que si no se ajustan correctamente puede afectar a los pasos sucesivos y al resultado de la prueba.

Existen tres tipos de ensayo en ELISA: el directo, el indirecto y el “sandwich” el cual es el ensayo de captura de antígeno y detección mediante inmunocomplejos: se trata de un ensayo muy empleado en el que se recubre el pocillo con un primer anticuerpo anti-antígeno. Después de lavar el exceso de anticuerpo se aplica la muestra problema en la que se encuentra el antígeno, que será retenido en el pocillo al ser reconocido por el primer anticuerpo. Después de un segundo lavado que elimina el material no retenido se aplica una solución con un segundo anticuerpo anti-antígeno marcado. Así pues cada molécula de antígeno estará unida a un anticuerpo en la base que lo retiene y un segundo anticuerpo, al menos, que lo marca. Este ensayo tiene una gran especificidad y sensibilidad debido a la amplificación de señal que permite el segundo anticuerpo.



El “sandwich” ELISA:

- 1) La placa es recubierta con la captura de anticuerpos.
- 2) La muestra es agregada a cualquier antígeno presente para capturar el anticuerpo.
- 3) El anticuerpo detectable es agregado y se une al antígeno.
- 4) La enzima agregada al anticuerpo se añade y se une al anticuerpo de detección
- 5) El sustrato es añadido, y es convertido por la enzima en forma detectable.

## 10. RESULTADOS

### 10.1 Estadística Poblacional

El total de los pacientes que se presentaron por primera vez a consulta al Posgrado de Periodoncia de la Facultad de Odontología de la Universidad Autónoma de Nuevo León durante los meses Noviembre y Diciembre 2011 y que cumplieron con los criterios de inclusión y de exclusión tanto del grupo de estudio como control consistió en 44, al momento de analizar las muestras de cortisol salival en el laboratorio, 16 de éstos no pudieron ser evaluados debido a la falta de sensibilidad y especificidad en el proceso de ELISA, por lo tanto, existen solamente 29 pacientes para el estudio.

Dentro de las muestras, se recopilaron catorce variables, utilizando como variable dependiente, a la variable cortisol salival y se tiene a un conjunto de variables, que serán usadas como variables explicativas, las cuales son: Género (Mujer, Hombre), Diagnóstico Enfermedad Periodontal (Sano, Leve, Moderada, Avanzada), Estado sistémico (Sano, Diabetes, Gastritis, Aterosclerosis, Hipertensión Arterial).

Asimismo, las variables Cortisol Salival, Edad e Índice Periodontal son variables continuas, las variables Género, Diagnóstico de Enfermedad Periodontal y Estado Sistémico se desenvuelven como variables categóricas.

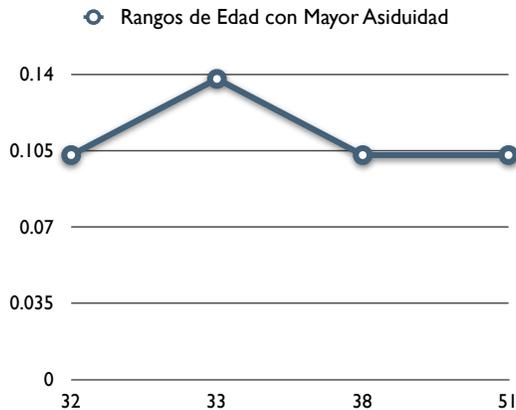
Dentro de la muestra, se tiene que del total (29 pacientes), 13 son del sexo femenino (44.8%), y 16 son del sexo masculino (55.2%) (Tabla 1).

**Tabla 1. Distribución por Género**

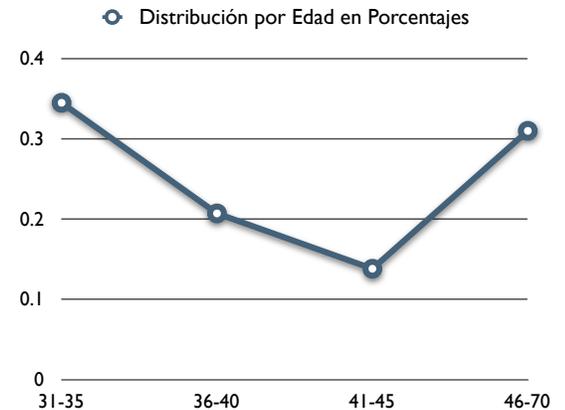
Género	Frecuencia	Porcentaje
Mujer	13	44.8
Hombre	16	55.2
Total	29	100

Otra de las variables a considerar fue la edad, dentro de la cual, los rangos de edades que destacan con mayor asiduidad en las muestras son 32, 33, 38 y 52 años, representando 10.3%, 13.8%, 10.3% y 6.9% respectivamente (Gráfica 1).

**Gráfica 1.**



**Gráfica 2.**



Agrupando las edades de 31-35 años (34.5%), de 36-40 años (20.7%), 41-45 años (13.8%), y entre 46-70 (31%) (Gráfica 2).

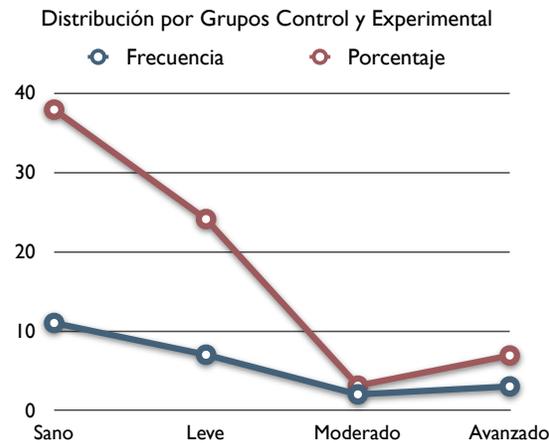
El total de los pacientes se dividieron en dos grupos: sin enfermedad periodontal que consistió en 11 (37.9%) y con enfermedad periodontal 18 pacientes, dentro de los cuales 7 con enfermedad periodontal leve (24.1%), 9 con enfermedad periodontal moderada (31%) y 2 con enfermedad periodontal avanzada (6.9%); tomando en consideración que los pacientes con enfermedad periodontal leve presentan 1-2mm de pérdida de inserción clínica y/o radiográfica, en moderada 3-4mm y avanzada >5mm (Tabla 2).

**Tabla 2. Distribución por Grupos (sin EP y de acuerdo al grado de EP )**

Diagnóstico	Frecuencia	Porcentaje
Sin EP*	11	37.9
Leve	7	24.1
Moderado	9	31
Avanzado	2	6.9
Total	29	100

\*EP:Enfermedad Periodontal

**Gráfica 3.**

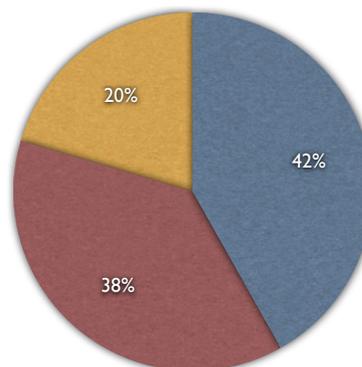


El Índice Periodontal de Russel se tomó en consideración a todos los pacientes, presentando una dispersión en cada una de las muestras, por lo tanto, se agrupan las observaciones en rangos de 0.00 a 0.30, 0.31 a 0.60 y 0.61 a 1.70 y la distribución se da de la siguiente forma: 41.4%, 37.9% y 20.7% respectivamente (Gráfica 4).

**Gráfica 4.**

Análisis de Índice Periodontal

● 0-.30    ● .31-.60    ● .61-1.70



La coexistencia de enfermedades sistémicas fué tomada en cuenta para el estudio, en donde se presenta una concentración de 82.8% en los pacientes sin evidencia de enfermedad sistémica, mientras que se identificó la existencia de diabetes (D), enfermedad ácido péptica (EAP), y aterosclerosis (At) presentan la misma proporción de un 3.4% y la variable Hipertensión Arterial (HTA) representa un 6.9% (Tabla 5).

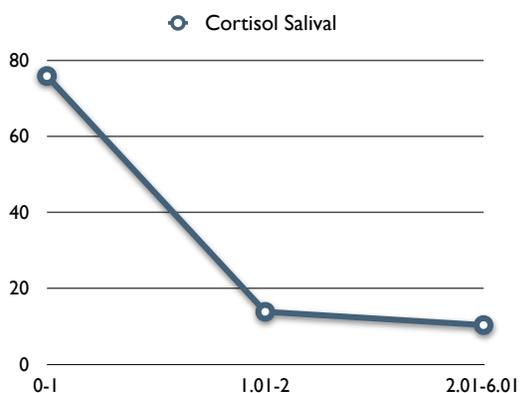
**Tabla 3. Coexistencia de Enfermedades Sistémicas**

Estado Sistémico	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje Válido	Porcentaje Acumulado
Sin ES*	24	82.8	82.8	82.8
Diabetes	1	3.4	3.4	86.2
EAP	1	3.4	3.4	89.7
Aterosclerosis	1	3.4	3.4	93.1
HTA	2	6.9	6.9	100.0
Total	29	100.0	100.0	

\*Sin ES: Sin evidencia clínica de Enfermedad Sistémica

El cortisol salival fué evaluado por medio de ELISA, y los resultados se agrupan en rangos de 0.00 a 1.00, 1.01 a 2.00 y de 2.01 a 6.01, la distribución es 75.9%, 13.8% y 10.3%, respectivamente tomando en consideración que el valor normal estimado matutinameamente en los adultos es de **.094-1.551 (µg/dL)** (Gráfica 5).

**Gráfica 5.**



## 10.2 Estadística Descriptiva

En esta investigación se ha planteado como hipótesis principal que los niveles de cortisol salival están elevados en presencia de enfermedad periodontal. El nivel de cortisol salival según grupo de estudio se dividió en bajo, normal y alto dependiendo de los valores normales de cortisol salival estimado matutinemente en los adultos. Los pacientes del grupo experimental consiste en un total de 18 que corresponde a un 62%; 8 de éstos presentaron niveles de cortisol bajo representando un 44.4%, 5 pacientes presentaron niveles normales que corresponde a un 27.7% y 5 pacientes obtuvieron rangos de cortisol salival elevados sobre los niveles normales que consistió en un 27.7% del total de los pacientes evaluados en éste grupo. En el grupo control se evaluaron un total de 11 pacientes registrándose un 37.9%; dentro de los cuales 8 presentaron niveles de cortisol más bajo que el rango normal representando un 72.7%, 3 pacientes presentaron niveles dentro de los rangos normales de cortisol salival que consiste en el 27.2% y ningún paciente de éste grupo obtuvo niveles de cortisol salival por encima del rango normal el cual es .094-1.551µg/dL (Tabla 4).

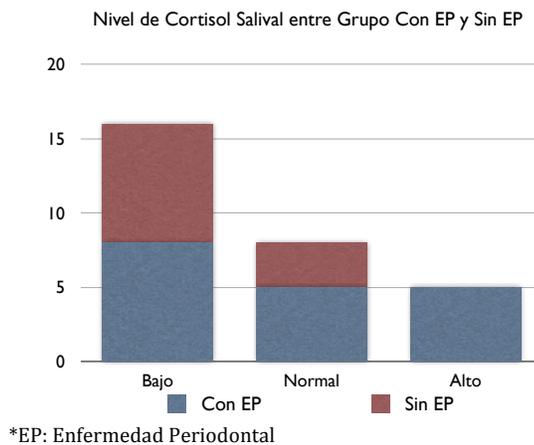
**Tabla 4. Nivel de Cortisol Salival en los Grupos de Estudio**

	Bajo		Normal		Alto		Total	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Con EP	8	44.44	5	27.78	5	27.78	18	62.07
Sin EP	8	72.73	3	27.27	0	0	11	37.93
Total	16	117.2	8	55.5	5	27.78	29	100

\*EP: Enfermedad Periodontal  
 $P= 0.13$

Por lo tanto, no existe relación estadísticamente significativa entre los niveles de cortisol salival y la presencia de enfermedad periodontal (Gráfica 6).

**Gráfica 6.**



Sin embargo, al desglosar esta misma variable, cortisol salival, en cuanto a diagnóstico de enfermedad periodontal y utilizando la prueba  $z$  para muestras pequeñas y análisis de varianza, se obtuvieron como media  $0.955\mu\text{g/dL}$  a los pacientes con enfermedad periodontal en general; media de  $.139\mu\text{g/dL} \pm .314$  en leve,  $1.316\mu\text{g/dL} \pm .225$  en moderada,  $1.854\mu\text{g/dL} \pm .225$  en enfermedad periodontal avanzada y la media en los pacientes sanos  $.222\mu\text{g/dL}$  (Tabla 5 y Gráfica 7).

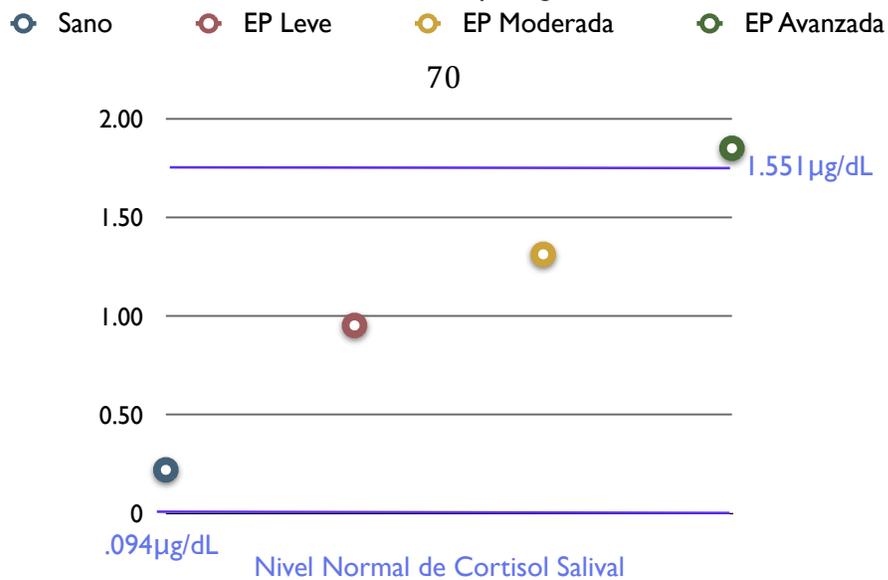
**Tabla 5. Niveles de Cortisol Salival en  $\mu\text{g/dL}$  en relación al Diagnóstico de Enfermedad Periodontal**

	Leve	Moderado	Avanzado
Media	0.1594	1.4622	1.8543
Mediana	0.035	0.751	1.802
Desviación Estándar	0.3146	0.225	0.2251
Mínimo	0.013	0.001	1.66
Máximo	0.869	6.012	2.101
Rango	0.856	6.011	0.441
n	7	9	2
ICI- $\alpha=0.95$	0.0000	0.0000	0.013

Todos estos resultados con un intervalo de confianza del 95%.

**Gráfica 7.**

Relación entre los Niveles de Cortisol Salival y Diagnóstico de Enfermedad Periodontal



### 10.2.1 Análisis de Bondad de Ajuste

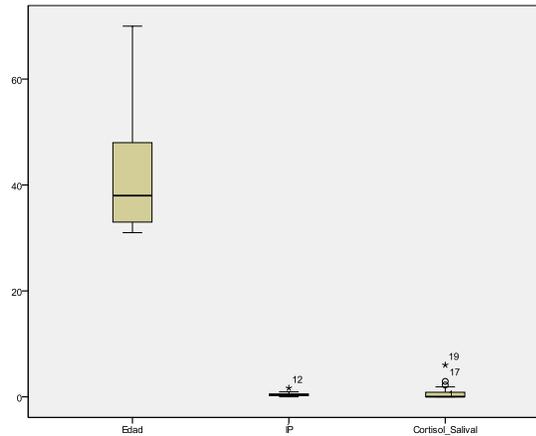
Se ha señalado que las variables explicativas utilizadas en la creación del modelo final son a) edad, medida en años de edad; b) índice periodontal, c) género: hombre o mujer, d) diagnóstico de enfermedad periodontal medido en milímetros de pérdida de inserción clínica y/o radiográfica (Leve, 1 a 2mm; Moderada, 3 a 4 mm y Avanzada mayor a 5 mm). Por su parte, la variable estado sistémico se refiere a personas sanas o pacientes con diabetes, enfermedad ácido péptica, aterosclerosis y/o hipertensión arterial, medidas en número de personas.

Antes de la construcción del modelo, se hace necesario conocer, por medio de diversos procedimientos, el comportamiento que presentan las variables.

Un primer paso, es investigar la presencia de un valor anormal (outlier). Su estudio y detección se hacen evidentes dado que distorsionan los resultados estadísticos (Mertler and Vannata, 2002: 27). Este tipo de análisis sólo se puede desarrollar en variables continuas.

Las variables a mostrar la presencia de outliers son: edad, índice periodontal y cortisol salival. En la siguiente gráfica se muestran los outliers de cada una de estas variables.

**Gráfica 8**



Fuente: Elaborada con datos propios

Se observa que únicamente la variable edad no presenta outliers, las restantes variables, índice periodontal y cortisol salival cuentan con presencia de outliers, un segundo análisis es conocer el grado de normalidad que cada una de estas tres variables presentan, para esto se presentan las pruebas de Kolmogorov-Smirnov y Shapiro-Wilk (Tabla 6).

**Tabla 6. Pruebas de normalidad**

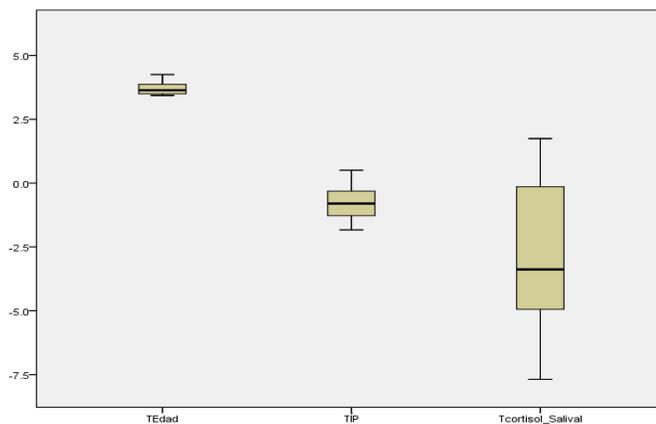
	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Edad	.166	29	.040	.878	29	.003
ÍP	.144	29	.129	.847	29	.001
Cortisol_Salival	.306	29	.000	.609	29	.000

a. Corrección de la significación de Lilliefors

Se demuestra que sólo la variable índice periodontal en la prueba Kolmogorov-Smirnov presenta normalidad ( $p < 0.05$ ), sin embargo, en la siguiente prueba no sucede esto. Las variables restantes no muestran normalidad. Para corregir estos dos problemas, outliers y no normalidad, se procede a transformar las variables por algún procedimiento de linealización (logaritmos, raíz cuadrada, inverso, Z, Z-mad, Box-Cox, etc.).

Las variables edad e índice periodontal se transforman a logaritmos naturales y cortisol salival se linealiza por medio del método Box-Cox; para fines de identificación a estas variables transformadas se les agrego la letra T. Se procede a diferentes procedimientos de linealización, debido al ajuste de bondad, presentándose, lo siguiente:

**Gráfica 9**



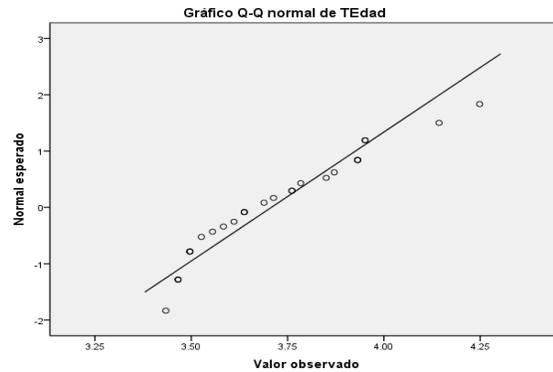
Se observa la no presencia de outliers, por lo que se procede a correr las pruebas de normalidad y los resultados son:

**Tabla 7. Pruebas de normalidad**

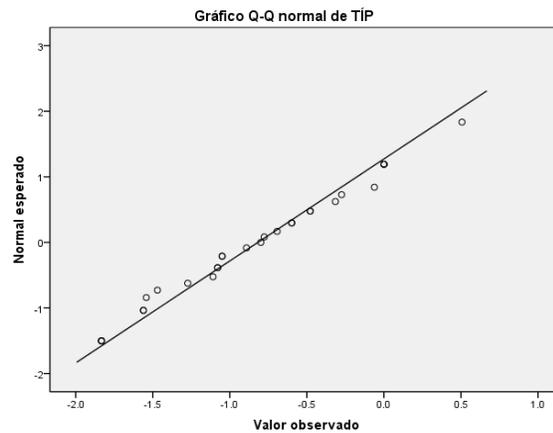
	Kolmogorov-Smirnova			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
TEdad	.143	29	.132	.919	29	.029
TÍP	.089	29	.200	.961	29	.350
Tcortisol_Salival	.159	29	.059	.944	29	.128

Se observa que por el método Kolmogorov-Smirnova las tres variables presentan normalidad (valor mayor a 5%). Sin embargo, la prueba Shapiro-Wilk no presenta normalidad en la Variable Edad. Por otra parte, se solicita gráficos de normalidad, arrojando lo siguiente:

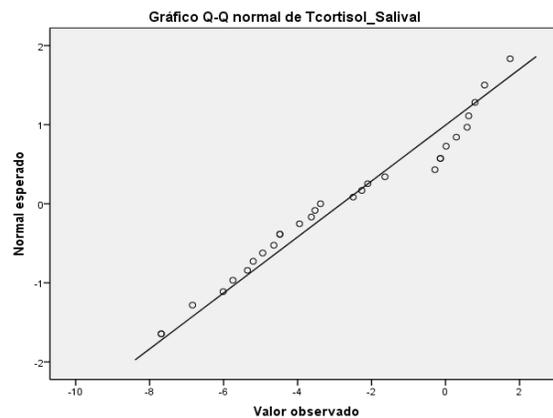
**Gráfica 10. Normalidad de Variable Edad**



**Gráfica 11. Normalidad de Variable TÍP**



**Gráfica 12. Normalidad de Variable TCortisol\_Salival**



### **10.2.2 Modelo Final**

Para la construcción de un modelo que explique el nivel de cortisol salival, se hace necesario el aplicar alguna técnica de regresión. De la existencia o no de heterocedasticidad, se determinará la correspondiente aplicación de mínimos cuadrados ordinarios, generalizados o ponderados. Antes de esto, se procede, en una inicial fase, a descartar variables bajo los siguientes criterios:

- a) Un nivel de correlación mayor a 0.85 (Wooldridge, 2004: 682)
- b) Presentar un factor de varianza inflacionario (VIF) menor a 5 (Berenson, 2008: 637-644)

### **10.2.3 Análisis Correlacional**

Una vez ya linealizadas las variables continuas, en las variables categóricas no es necesario alguna transformación, por su naturaleza, se procede a estimar grado de correlación entre las distintas variables, en total son catorce variables, incluida la variable dependiente. Cabe señalar, que la literatura revisada (Wooldridge, 2004: 682)<sup>i</sup> señala que un grado de correlación mayor a 0.85 presenta problemas de colinealidad entre las variables, a la luz de los resultados, sólo se comprueba que las variables hombre y mujer presentan un grado de correlación perfecto con signo negativo.

**Tabla 8. Correlación**

Correlación de Pearson														
	Hombre	Ed	ÍP	Cortisol Salival	Sano	Leve	Mod	Av	Sano Sistemico	Diabete	EAP	At	HTA	Mujer
Hombre	1	.068	.053	-.048	.276	-.302	.005	-.028	-.044	-.210	-.210	.170	.245	-1.0
Edad		1	.198	.249	-.606	.014	.467	.284	-.701	.383	.197	.197	.485	-.06
ÍP			1	.234	-.223	.150	-.101	.359	-.369	.037	.102	.163	.333	-.05
Cortisol lival				1	-.339	-.069	.236	.335	-.388	.246	.231	.310	.012	.048
Sano					1	-.441	-.524	-.213	.357	-.148	-.148	-.148	-.213	-.27
Leve						1	-.378	-.154	.257	-.107	-.107	-.107	-.154	.302
Moderada							1	-.183	-.286	.282	-.127	.282	.112	-.00
Avanzada								1	-.596	-.051	.694	-.051	.463	.028
Sano Edo stemico									1	-.414	-.414	-.414	-.596	.044
Diabetes										1	-.036	-.036	-.051	.210
EAP											1	-.036	-.051	.210
At												1	-.051	-.17
HTA													1	-.24
Mujer														1

Ed: edad; IP: índice periodontal; Mod: moderado; Av: avanzado; EAP: enfermedad ácido péptica; At: aterosclerosis; HTA: hipertensión arterial

De esta manera, para la construcción del modelo final se hará uso de la mayoría de las variables con excepción, ya sea de la variable hombre o mujer, es indiferente usar una u otra variable. La literatura revisada, no señala determinación alguna que pueda hacer el uso de una variable por sobre la otra.

Un paso final, en la primera etapa de selección de variables, es conocer el estadístico VIF (Variance Inflation Factor) la cual cuantifica la severidad de la multicolinealidad en una regresión de mínimos cuadrados. Este estimador, arroja un índice que mide cuanto crece la varianza por factores de colinealidad. La literatura señala que debe de presentar, una variable, un valor menor a 5; presentar un factor de varianza inflacionario (VIF) menor a 5 (Berenson, 2008: 637-644) (Tabla 9).

**Tabla 9. Variance Inflation Factor<sup>1</sup>**

Variable	VIF
Edad	3.870
ÍP	1.426
Leve	2.300
Moderada	2.454
Avanzada	4.486
Diabetes	1.814
EAP	3.977
ATEROSCLEROSIS	1.334
Hipertension_arterial	3.574
Mujer	1.592

Se ha señalado, que son trece variables las que conformaran al modelo final, incluyendo la variable dependiente, por lo que para reducir el número de variables independientes se utiliza el método de componentes principales (Rencher, 2002: 380-407, Malhotra and Birks, 2007: 645), señalando que las principales variables son sin enfermedad periodontal , enfermedad periodontal leve, avanzada, diabetes, EAP, aterosclerosis, hipertensión arterial y edad.

Estas variables conformaran al modelo final, el cual quedaría de la siguiente manera:

$$Cortisol\ Salival = \alpha_0 + \alpha_1 Avanzada + \alpha_2 Diabetes + \alpha_3 AT + \alpha_4 Sano + \alpha_5 Edad$$

El resultado arrojado por esta regresión de mínimos cuadrados es:

*Cortisol Salival*

$$= \frac{8.182}{(0.7)} + \frac{4.05}{(2.05)} Avanzada + \frac{4.867}{(1.7049)} Diabetes + \frac{5.191}{(1.959)} Aterosclerosis$$

$$- \frac{1.721}{(-1.418)} Sano - \frac{2.957}{(-0.953)} Edad$$

$$R^2 = 0.353, R^2_{ajustado} = 0.213, DW = 1.931, F = 2.512, p = 0.059.$$

---

<sup>1</sup> En su construcción se utilizó paquete SPSS19

Entre paréntesis valores t-estadísticos. El coeficiente de determinación ajustado señala que el 21.3% de la variación en el valor del cortisol salival se explica por el modelo propuesto. Por lo que toca al resultante estadístico Durbin-Watson (DW), el cual es de 1.931, se observa por el DW de tablas, se encuentra que con cuatro grados de libertad, el valor es 1.99. Consiguientemente, se concluye que no existen problemas de autocorrelación de los errores.

Adicionalmente a esto, se procede a realizar la correspondiente prueba Glejser<sup>2</sup>, para la determinación de heterocedasticidad, encontrándose que para esta prueba estadística se calcula  $n \cdot R^2 = 7.5753$  y el valor  $X^2_{95}(4) = 9.488$ . Por lo que, de acuerdo a esta prueba, se acepta la hipótesis nula de homocedasticidad, se consciente la utilización del procedimiento de mínimos cuadrados ordinarios y el correspondiente modelo.

Dentro del análisis arrojado por la regresión se concluye que con un 5% de significancia las variables avanzada, aterosclerosis y diabetes presentan significancia estadística, además de signo positivo. Esto es, cuando un paciente presenta grado de enfermedad periodontal avanzada, el nivel de cortisol salival se incrementa por en 4.05 microgramos por decilitro ( $\mu\text{g/dL}$ ), si presenta aterosclerosis el nivel de cortisol se incrementa en 5.19  $\mu\text{g/dL}$ , si el paciente presenta diabetes, el el nivel de cortisol salival se altera, en cerca de 5  $\mu\text{g/dL}$ .

Al 10% de significancia estadística la variable de paciente sano periodontalmente, presenta significancia, se esperaba un resultado en signo negativo, dado que si el paciente se encuentra sin enfermedad periodontal, se espera que el nivel de cortisol salival sea bajo. Se presenta la relación de medida que un paciente es sano, el nivel de cortisol salival se reduce en 1.72  $\mu\text{g/dL}$ . La variable edad no presentó significancia, por lo que no procederá a su correspondiente descripción.

---

<sup>2</sup> Se utilizó el paquete econométrico Eviews7.0 para esta determinación.

Modelo a estimar:

*Cortisol salival*

$$= \alpha_0 + \alpha_1 \textit{Leve} + \alpha_2 \textit{Moderada} + \alpha_3 \textit{Avanzada} + \alpha_4 \textit{SanoEdoSist} \\ + \alpha_5 \textit{Diabetes} + \alpha_6 \textit{Alterosclerosis} + \alpha_7 \textit{Edad}$$

Modelo estimado:

*Cortisol Salival*

$$= \begin{matrix} -4.5 \\ (-0.23) \end{matrix} \textit{SanoEP} + \begin{matrix} 1.02 \\ (0.72) \end{matrix} \textit{Leve} + \begin{matrix} 2.01 \\ (1.33) \end{matrix} \textit{Moderada} + \begin{matrix} 8.33 \\ (2.43) \end{matrix} \textit{Avanzada} \\ + \begin{matrix} 3.35 \\ (0.96) \end{matrix} \textit{SanoEdoSist} + \begin{matrix} 6.70 \\ (1.84) \end{matrix} \textit{Diabetes} + \begin{matrix} 7.46 \\ (1.94) \end{matrix} \textit{Alterosclerosis} \\ - \begin{matrix} 0.93 \\ (-0.22) \end{matrix} \textit{Edad}$$

$R^2$ ajustado = 0.18, F = 1.90, Prob (F) = 0.11, DW = 1.84,  $X^2$  = 11.47.

#### 10.2.4 Análisis de Subgrupos

A la luz de los resultados arrojados por la regresión, se procede a segmentar la base de datos, en dos subgrupos y ver su comportamiento cuando se contrastan entre sí estos subgrupos en cuanto al grado de cortisol salival. Un primer subgrupo que se forma es con pacientes que presentan alguna enfermedad periodontal (Leve, Moderada o Avanzada) y que presenten alguna enfermedad sistémica (Diabetes, EAP, Hipertensión Arterial y/o Aterosclerosis).

En este subgrupo, de una muestra de 29 observaciones, únicamente cinco observaciones son incluidas en la conformación de éste; personas con enfermedad periodontal leve no presentaron enfermedades sistémicas; un paciente con diabetes y con enfermedad periodontal moderada presentó 2.24µg/dL de cortisol salival, un paciente con enfermedad ácido péptica y con enfermedad periodontal avanzada obtuvo en cortisol salival 1.8µg/dL, un paciente con aterosclerosis y enfermedad periodontal moderada con 6.01µg/dL de cortisol salival, un paciente con hipertensión arterial y enfermedad periodontal avanzada presentó 1.88µg/dL de cortisol salival y un paciente con hipertensión arterial y enfermedad periodontal moderada no presentó nivel de cortisol salival alguno; todos éstos datos descriptivos con un promedio de 2.386 y una desviación estándar de 2.2049 (Tabla 10).

**Tabla 10. Pacientes con Enfermedad Periodontal y Enfermedades Sistémicas**

ES	D	EAP	AT	HTA	Edad	EP	Leve	Moderada	Avanzada	Cortisol Salival	Tcortisol_Salival
1	1	0	0	0	63	1	0	1	0	2.24	0.8
1	0	1	0	0	51	1	0	0	1	1.8	0.58
1	0	0	0	1	51	1	0	0	1	1.88	0.63
1	0	0	1	0	51	1	0	1	0	6.01	1.75
1	0	0	0	1	70	1	0	1	0	0	-6.01

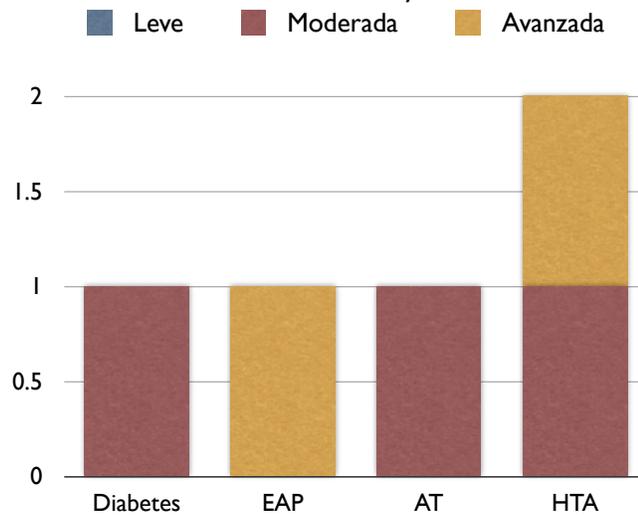
ES: estado sistémico; D: diabetes; EAP: enfermedad ácido péptica; EP: enfermedad periodontal

Promedio 2.386

Desviación Estándar: 2.2049

**Gráfica 10.**

Pacientes con Enfermedad Periodontal y Enfermedades Sistémicas



El siguiente subgrupo se conforma con pacientes que padecen de enfermedad periodontal (leve, moderada o avanzada) sin que presenten enfermedad sistémica (diabetes, enfermedad ácido péptica, hipertensión arterial y/o aterosclerosis). Dentro del cual, se reportó que ningún paciente con enfermedad periodontal avanzada no padece de enfermedad sistémica; en enfermedad periodontal leve se obtuvieron siete pacientes los cuales tuvieron rangos de cortisol salival de  $.04\mu\text{g/dL}$  (dos pacientes),  $.03\mu\text{g/dL}$ ,  $.87\mu\text{g/dL}$ ,

.11µg/dL, .02µg/dL y .01µg/dL; con enfermedad periodontal moderada, seis pacientes con rangos de cortisol salival de 2.92µg/dL, 1.02µg/dL, .2µg/dL, 75µg/dL, .02µg/dL y un valor de 0. Teniendo las siguientes mediadas descriptivas: promedio 0.4638 con una desviación estándar de 0.8239 (Tabla 11).

**Tabla 11. Pacientes con Enfermedad Periodontal sin Enfermedades Sistémicas**

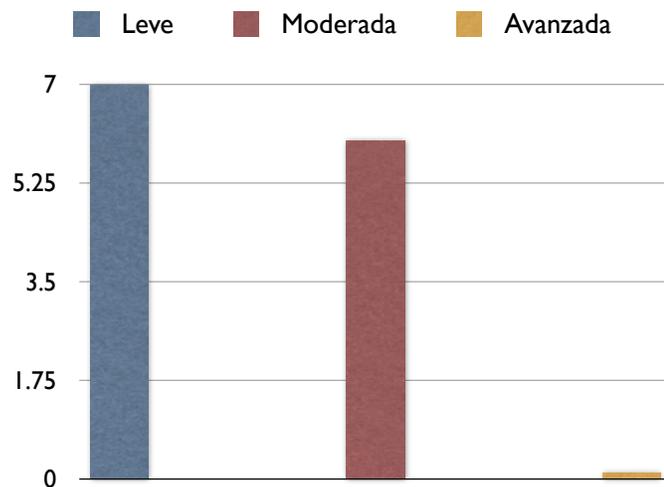
Edad	Enf Periodontal			Cortisol		
	Leve	Moderada	Avanzada	Salival	Tcortisol_Salival	
33	1	0	0	0.04	-3.38	
38	1	0	0	0.03	-3.63	
52	1	1	0	2.92	1.05	
33	1	0	0	0.87	-0.14	
38	1	1	0	1.02	0.01	
44	1	1	0	0.2	-1.64	
43	1	1	0	0	-7.69	
43	1	1	0	0.75	-0.29	
47	1	0	0	0.04	-3.53	
52	1	1	0	0.11	-2.26	
48	1	1	0	0.02	-4.48	
40	1	1	0	0.01	-4.64	
33	1	1	0	0.02	-4.48	

Promedio: .4638

Desviación Estándar: .823

**Gráfica 11.**

Pacientes con Enfermedad Periodontal sin Enfermedades Sistémicas



Se observan dos subgrupos, por lo que se hace necesario el saber si las medias, de la variable cortisol salival, son iguales entre estos dos subgrupos; es decir, que pacientes con algún tipo de enfermedad periodontal que padecen enfermedades sistémicas no presentan diferencia alguna con pacientes periodontales sin enfermedades sistémicas.

Para comprobar esto, se procede a estimar la correspondiente prueba  $Z$  para dos subgrupos con muestras pequeñas. Teniendo la siguientes fórmula a estimar:

$$Z = \frac{\bar{X}_1 - \bar{X}_2}{\sqrt{\frac{s_1^2}{n_1} + \frac{s_2^2}{n_2}}}$$

Una vez insertados los respectivos datos, se tienen los siguientes resultados  $Z = 1.89$  y  $p < 0.0294$ . De la prueba  $Z$  se deduce que la diferencia observada entre medias es **no significativa**; con un  $\alpha$  de 5% (en tablas se tiene un valor de 1.96). Esto es, la diferencia es muy baja, se puede concluir que no hay una diferencia real entre las dos medias de los subgrupos. Además, se tiene un valor de  $p$  menor al 5%.

Por otra parte, una pregunta que surge es: ¿si la enfermedad periodontal hace que por sí sola los niveles de cortisol salival se eleven con respecto a los niveles que un paciente sin enfermedad sistémica presenta?

Para responder a esta pregunta, se conforman dos subgrupos un subgrupo con enfermedad periodontal y enfermedad sistémica y otro grupo con enfermedad periodontal sin enfermedad sistémica. Una vez que se hacen los cálculos necesarios para correr la arriba señalada fórmula de estimación del valor  $Z$ . Se encuentra con un valor de  $Z$  de 1.47, el cuál es menor a 1.96, por lo que se acepta la hipótesis nula en el sentido que no hay una diferencia entre las medias de los subgrupos. El valor  $p$  es de 0.0708.

## 11. DISCUSIÓN

La enfermedad periodontal es una enfermedad inflamatoria de los tejidos de soporte de los dientes causada por microorganismos específicos que producen la destrucción progresiva del del ligamento periodontal y el hueso alveolar con formación de bolsas, recesión o ambas (Flemming, 1999). Por otro lado, el cortisol es el glucocorticoide principal secretado por la corteza suprarrenal que posee grandes efectos en el aumento de la glucemia, en el metabolismo de las proteínas, lípidos y sobre los carbohidratos (Fauci et al., 2009); tiene gran función en el metabolismo intermedio, función cardiovascular, crecimiento (Chrousos 1995; De Kloet *et al.* 2005; Guyton y Hall 2006; McEwen 2007), absorción de calcio en el organismo, mantenimiento de la presión arterial, gluconeogénesis, secreciones de ácidos y pepsinas (Migeon et al., 1990; Drucker, 1987; Fischbach, 1992). El incremento del cortisol sobre los valores normales entre los adultos ha demostrado ser de sumo cuidado para la predisposición de enfermedades sistémicas o bien, ya presentándolas, de la presencia de complicaciones crónicas (Lawrence, 2002 y Oltmanns, 2006). El cortisol tiene gran influencia sobre el sistema inmunológico; ya que, al presentarse en cantidades elevadas, influye en la alteración de la respuesta inmunológica teniendo una mayor propensión a procesos infecciosos e inflamatorios en el periodonto y en la cavidad oral (Rosania et al., 2009). Sin embargo, muy pocas investigaciones se han realizado en cuestión a evaluar el cortisol y enfermedad periodontal.

El objetivo del estudio fue comparar los niveles de cortisol salival entre sujetos con enfermedad peridontal y sin enfermedad periodontal. Para comparar ésta relación se realizó una historia clínica completa contando con el consentimiento informado de los pacientes a los cuales se les tomó una serie radiográfica, índice periodontal, se midió la profundidad de sondeo y se obtuvieron 50ml de saliva en donde por medio de ELISA se evaluó el cortisol. Dependiendo de su estado periodontal, los pacientes se dividieron en dos grupos: control (sanos periodontalmente) y experimental (con enfermedad periodontal), éstos fueron de 11 y 18 respectivamente, con una media de edad de 33 años siendo un 44.8%

mujeres y un 55.2% hombres. En el grupo experimental se presentaron 7 sujetos con enfermedad periodontal leve (24.1%), 9 con enfermedad periodontal moderada (31%) y 2 con enfermedad periodontal avanzada (6.9%); tomando en consideración que los pacientes con enfermedad periodontal leve presentan 1-2mm de pérdida de inserción clínica y/o radiográfica, en moderada 3-4mm y avanzada >5mm. El Índice Periodontal de Russel tuvo en su mayoría rangos de 0-30 (41.4%).

Los pacientes que se incluyeron en el estudio fueron tanto sanos como con padecimientos sistémicos, dentro de los cuales, la frecuencia de los sujetos sin evidencia de enfermedad sistémica fué de 24 (82%), mientras que se identificó la coexistencia de diabetes, enfermedad ácido péptica (EAP), y aterosclerosis presentando la misma proporción de 3.4% en cada uno de los casos, así como hipertensión arterial en un 6.9%.

El cortisol salival fué evaluado por medio de ELISA (kit de inmunoensayo enzimático, Salimetrics, 2011), en el cual, dependiendo de cada laboratorio, se tienen los rangos normales, en este caso, el laboratorio sugiere que en un sujeto adulto y en ayunas, el valor normal estimado matutinemente es de .094-1.551 $\mu$ g/dL; Ansai et al., 2009, publicaron una investigación en la cual, sugieren que para obtener las muestras salivales para la medición de cortisol sea entre las 11:00am y 1:00pm, esto, para minimizar cualquier efecto del ritmo circadiano (oscilaciones entre las variables biológicas en un tiempo determinado), teniendo como resultado que al evaluar el cortisol por la mañana, se reflejan las concentraciones más precisas y distintivas para su medición, evitando la variabilidad que sufre a lo largo del día (Clow et al., 2010). Por lo tanto, se tomaron las mediciones de cortisol entre estos tiempos como lo sugirieron éstas publicaciones y con las recomendaciones del laboratorio para su obtención; los resultados se agruparon en rangos de 0.00 a 1.00 $\mu$ g/dL, 1.01 a 2.00 $\mu$ g/dL y de 2.01 a 6.01 $\mu$ g/dL, la distribución es 75.9%, 13.8% y 10.3%.

El cortisol en valores elevados sobre niveles normales, se encuentra asociado con la activación de algunos aspectos de la inmunidad celular resultando en la hipersecreción de citocinas proinflamatorias como la IL-6 y la IL-10

(Leonard B., 2000), esto se relaciona con los mediadores inflamatorios más comunmente encontrados en lesiones periodontales (De Nardin, 2001; Silva et al., 2007) que pueden provocar la destrucción de la inserción del tejido conectivo y del hueso alveolar; esto da lugar a lo que se encontró en éste estudio en cuestión del grupo experimental (62%), en el cual, la media de cortisol salival es de  $1.854\mu\text{g/dL} \pm .225$  en enfermedad periodontal avanzada en contraste con la media de los pacientes del grupo control (37.9%) de  $.222\mu\text{g/dL}$ , presentando un nivel de confiabilidad del 95%. Éstos resultados se asemejan a un artículo publicado por Rosania et al., 2009, en el cual, a 45 pacientes se les evaluaró el cortisol salival con el estado periodontal encontrando una correlación positiva entre el cortisol ( $2.90 \pm 2.03$ ) y profundidad de bolsa de 5 a 7mm, por lo cual, los pacientes con mayores niveles de cortisol, presentaron mayores sitios con profundidad de bolsa de 5 a 7mm ( $r=0.28$ ;  $P=0.05$ ) así como también el cortisol fue positivamente asociado con el número de dientes con pérdida de inserción de 5 a 7mm ( $r= 0.47$ ;  $P<0.01$ ) y el número de sitios con profundidad de bolsa  $>7\text{mm}$  ( $r= 0.36$ ;  $P= 0.05$ ).

Hilgert et al., 2006, con una muestra que constó de 235 participantes realizó una investigación en alusión a éste tema evaluando el estrés, el cortisol y la enfermedad periodontal en la cual, sus exámenes clínicos constaron de profundidad de bolsa , nivel de inserción clínica y sangrado al sondeo (BOP) obteniendo como resultados que las variables de hipercortisolemia, BOP en al menos 26%, género masculino mostraron ser independientemente asociados con la severidad de la periodontitis; la hipercortisolemia, género, BOP en 25% de los sitios con  $<25\%$  de higiene oral fueron independientemente asociados con la extensión de la periodontitis definido por nivel de inserción clínica. Sin embargo, ésta publicación, se relaciona con nuestros resultados en cuestión a los grupos de estudio evaluados en donde no se encontró diferencia estadísticamente significativa ( $P= .013$ ) en relación al cortisol salival; el cortisol en las muestras fue dividido en bajo, normal y alto, tanto en el control como en el experimental, encontrándose, solamente en el 27.7% de los casos el cortisol elevado, en contraste con el 72.7% del grupo control en donde el cortisol salival se encontró por debajo de los niveles normales estimados por la mañana tomando en consideración que,

dentro de éste grupo, ningún paciente se encontró con los niveles de cortisol salival por encima de lo normal.

Se ha mencionado en nuestro estudio que el cortisol, el glucocorticoide principal, se secreta gracias a la activación del eje hipotalámico-pituitario adrenal, por lo tanto, ésta activación del HPA a grandes cantidades es un predictor de enfermedad cardiovascular, diabetes tipo 2 y accidente cerebrovascular como lo indican Rosmond y Bjorntorp en el 2000 en una publicación realizada en Suecia, en la cual, al determinar la concentración de cortisol salival, tuvieron como resultados que las variabilidades de cortisol son factores de riesgo establecidos para las enfermedades cardiovasculares, diabetes tipo 2 y accidente cerebrovascular; así como también, las anormalidades en el eje HPA están estrechamente relacionadas con obesidad abdominal y con la resistencia a la insulina, por lo cual, cabe mencionar, que existe un hallazgo encontrado en ésta investigación en relación a la coexistencia de enfermedades sistémicas, los niveles de cortisol salival y el grado de enfermedad periodontal; los pacientes con enfermedad periodontal leve, no presentaron padecimientos sistémicos a diferencia de los sujetos con enfermedad periodontal moderada y avanzada que si presentan enfermedades sistémicas tales como diabetes, aterosclerosis, hipertensión arterial y enfermedad ácido péptica teniendo una media de cortisol salival de  $2.38 \pm 2.204 \mu\text{g/dL}$  que corresponden a presentar niveles altos de cortisol salival por encima de los rangos normales en los adultos matutinemente; éstos resultados tienen relación con numerosos estudios en los cuales se asocian los niveles de cortisol con padecimientos sistémicos que nos muestran un amplio panorama en la relación que existe entre estas dos situaciones al presentarse al mismo tiempo; por ejemplo, Chiodini et al., 2007 en el Journal de la Diabetes Care por la American Diabetes Association evaluó la presencia de secreción de cortisol en pacientes diabéticos tipo 2, con y sin complicaciones crónicas y encontraron en el análisis logístico que el número de complicaciones fue significativamente asociado con la presencia de los niveles de cortisol en suero ( $R = 0.345$ ;  $P < 0.0001$ ) y con la duración de la diabetes ( $R = 0.39$ ;  $P < 0.0001$ ).

Por lo tanto, en los pacientes diabéticos tipo 2, la actividad hipotalámica-pituitaria-adrenal es mayor en pacientes con complicaciones diabéticas como macroangiopatía, retinopatía y neuropatía (Lentle, 1964; Bhatia y Adarsh, 1983; Tsigos et al., 1993; Roy et al., 1998; Peppas-Patrikiou et al., 1998; Dacou-Voutetakis et al., 1998), así como también, el grado de secreción de cortisol se encuentra en relación con la presencia y el número de complicaciones diabéticas (Oltmanns, 2006).

En el Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism en 1998 se publicó un artículo por Rosmond et al., en donde se evaluaron las concentraciones de cortisol en distintas ocasiones y se encontró la correlación más fuerte entre el cortisol salival con los factores de obesidad (índice de masa corporal y la circunferencia entre cintura y cadera), metabólicos (insulina, glucosa, triglicéridos y con los dos tipos de colesterol) y por último con las variables hemodinámicas (presiones arteriales sistólicas y diastólicas).

Schoorlemmer en el 2009, citó un artículo que hace alusión a las diversas relaciones entre los niveles elevados de cortisol asociados con osteoporosis, hipertensión, diabetes mellitus y susceptibilidad a las infecciones, obteniendo como conclusión la asociación entre los niveles altos de cortisol asociados con los grandes riesgos de mortalidad y presentar hipertensión y diabetes mellitus.

En nuestra investigación, también se evaluó la presencia de enfermedad periodontal sin enfermedad sistémica encontrándose que ningún paciente con enfermedad periodontal avanzada presentó padecimiento sistémico, así como también, el total de los pacientes con enfermedad periodontal leve y moderada sin la presencia de enfermedades sistémicas obtuvieron una media de  $.463 \pm .823 \mu\text{g/dL}$  de cortisol salival por lo que conlleva a representar niveles por debajo de los valores normales de cortisol salival que constan de  $.094\text{-}1.551 \mu\text{g/dL}$ , obteniendo como resultados que la diferencia observada entre las medias es no significativa con un  $\alpha$  de 5% en relación a la cuestión que era indispensable observar entre los pacientes con enfermedad periodontal con padecimiento sistémico y sin este ( $P = .07$ ).

## 12. CONCLUSIÓN Y RECOMENDACIONES

Dentro de las limitaciones del estudio, podemos asumir que la enfermedad periodontal leve y las enfermedades sistémicas son independientes en relación a los niveles de cortisol salival.

Los niveles de cortisol salival son dependientes de los pacientes con enfermedad periodontal moderada y avanzada así como con evidencia clínica de enfermedad sistémica.

Además, hay una estrecha asociación entre los niveles más altos de cortisol salival y enfermedad periodontal avanzada; por lo tanto, la enfermedad periodontal eleva los niveles de cortisol salival, a mayor progresión de enfermedad periodontal, mayores son los niveles de cortisol salival.

Sin embargo, para establecer otra relación, sugerimos la realización de un estudio con una mayor población ya que no es representativo tener 29 muestras únicamente, de la misma manera se recomienda un cuestionario más amplio en relación al estado civil, tamaño familiar, variables socioeconómicas, nivel educativo y nivel de higiene oral así como también una mayor división de grupos con más enfermedades sistémicas.

Finalmente, es muy importante que la necesidad privada apoye la investigación periodontal de mi Universidad para incrementar los recursos económicos y así coadyuvar a la realización de investigaciones posteriores.

## APÉNDICES

### Anexo I.

#### Hoja de Consentimiento Informado

##### Información para el paciente

La enfermedad periodontal es una infección causada por bacterias que se caracteriza por destrucción de los tejidos alrededor de los dientes, afecta principalmente a la encía y al hueso alveolar. Esta enfermedad se caracteriza por enrojecimiento y sangrado de encías, movilidad de dientes, pérdida de hueso, y, eventualmente, de los dientes. Diversos factores sistémicos la intensifican, como por ejemplo la diabetes, cardiopatía isquémica, aterosclerosis; entre muchos otros.

Debido a esto, usted está siendo invitado a participar en un estudio llamado **“La Relación entre la Enfermedad Periodontal y los Niveles de Cortisol Salival”** que consta **solamente de un diagnóstico periodontal sin dolor ni molestia alguna y de sólo una muestra de saliva** la cual reflejará sus niveles de Cortisol que le será de beneficio para conocer y prevenir, en caso de que se encuentren elevados, los riesgos y complicaciones que éste puede conllevar en su salud en general.

Otro de los beneficios que usted recibe es la **evaluación gratuita** de su saliva, que tiene un costo aproximado de \$2, 580.00 en cualquier laboratorio con el equipo necesario para su medición.

La información que se recopila (historia clínica, diagnóstico periodontal, radiografías y resultado de sus niveles de Cortisol Salival) serán utilizados en ésta investigación y se anexarán a su expediente en caso de iniciar su tratamiento periodontal en ésta clínica. Su participación en este estudio es totalmente voluntaria, si usted no desea participar, se le realizará el tratamiento periodontal sin ninguna alteración, de así desearlo. No existe riesgo alguno que comprometa su salud al participar en esta investigación.

Si usted desea participar en el estudio, lea, llene y firme la siguiente información:

Yo \_\_\_\_\_, acepto participar en el proyecto de investigación “La Relación entre el Cortisol Salival y la Enfermedad Periodontal”, teniendo conocimiento de que las autoridades pertinentes y el Comité de Investigación y de Ética tendrán acceso directo a mis registros originales, sin violar la confidencialidad a la cual tengo derecho, que, al firmar el Consentimiento Informado, yo, o mi representante legal, lo autorizamos.

---

Firma del Tesista

Dra. Myrna González Cantú

---

Firma del Participante

**Anexo II.**

**Historia Clínica**

**1. Datos Personales**

**Fecha:** \_\_\_\_\_

Nombre: \_\_\_\_\_

Edad: \_\_\_\_\_ Sexo: \_\_\_\_\_

Ocupación: \_\_\_\_\_

Dirección: \_\_\_\_\_

Teléfono: \_\_\_\_\_ Celular: \_\_\_\_\_

**2. Antecedentes Médicos:**

Señale si padece alguna de éstas enfermedades:

Presión sanguínea alta: \_\_\_\_\_ Artritis: \_\_\_\_\_

Presión sanguínea baja: \_\_\_\_\_ Osteoporosis: \_\_\_\_\_

Problemas cardiacos: \_\_\_\_\_ Gastritis: \_\_\_\_\_

Aterosclerosis: \_\_\_\_\_ Úlcera: \_\_\_\_\_

Diabetes: \_\_\_\_\_ Anemia: \_\_\_\_\_

Problemas del riñón: \_\_\_\_\_ Tiroides: \_\_\_\_\_

Hepatitis: \_\_\_\_\_ Alergias: \_\_\_\_\_

Tuberculosis: \_\_\_\_\_ SIDA: \_\_\_\_\_

En caso que si, especifique desde cuando y qué y cuánto medicamento toma para controlarla:

\_\_\_\_\_

P.A: \_\_\_\_\_ mm/Hg

Está bajo tratamiento con algún medicamento? Antibiótico, Esteroides, Hormonas? Sí \_\_\_\_\_ No \_\_\_\_\_

En caso que sí, especifique cuál, su dosis y desde cuando:

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Ha estado hospitalizado en los últimos 4 años? Sí \_\_\_\_\_ No \_\_\_\_\_

Ha recibido transfusiones sanguíneas? Sí \_\_\_\_\_ No \_\_\_\_\_

Fuma? Sí \_\_\_\_\_ No \_\_\_\_\_

En caso que si, especifique desde cuándo y cuantos cigarrillos por día:

\_\_\_\_\_

Mujeres:

Está embarazada? Sí \_\_\_\_\_ No \_\_\_\_\_

Es regular en su periodo menstrual? Sí \_\_\_\_\_ No \_\_\_\_\_

Toma algún tipo de píldora anticonceptiva? Sí \_\_\_\_\_ No \_\_\_\_\_

### 3. Antecedentes Dentales:

Ha recibido tratamiento periodontal (de las encías) los últimos meses?

Sí \_\_\_\_\_ No \_\_\_\_\_

Especifique: \_\_\_\_\_

Conoce lo que es placa dentobacteriana y sarro? Sí \_\_\_\_\_ No \_\_\_\_\_

Existe sangrado en sus encías? Sí \_\_\_\_\_ No \_\_\_\_\_

Tiene los dientes sensibles? Sí \_\_\_\_\_ No \_\_\_\_\_

Tiene sus dientes flojos? SÍ \_\_\_\_\_ No \_\_\_\_\_

Se le atorran alimentos entre los dientes? SÍ \_\_\_\_\_ No \_\_\_\_\_

Mastica con todos sus dientes? Sí \_\_\_\_\_ No \_\_\_\_\_

Hay molestia al masticar? Sí \_\_\_\_\_ No \_\_\_\_\_

Ha recibido instrucciones profesionales de cómo cepillar sus dientes?

Sí \_\_\_\_\_ No \_\_\_\_\_

Con qué frecuencia cepilla los dientes? Sí \_\_\_\_\_ No \_\_\_\_\_

Utiliza hilo dental o algún enjuague dental? Sí \_\_\_\_\_ No \_\_\_\_\_

Hasta donde yo conozco todas las preguntas anteriores, las he contestado con la verdad y son ciertas. Si hay algún cambio me hago responsable de informar a la Doctora.

---

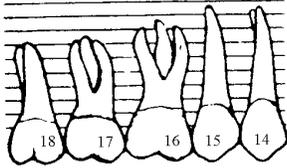
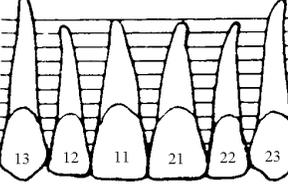
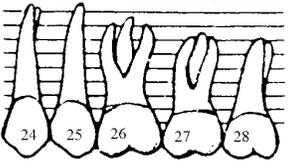
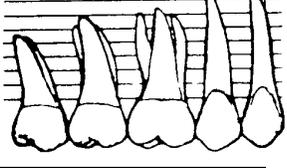
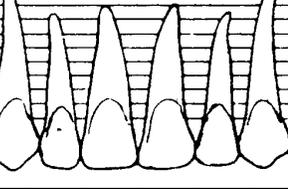
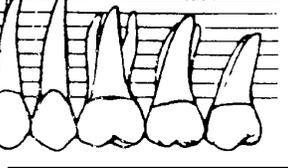
Firma

**Anexo III.**

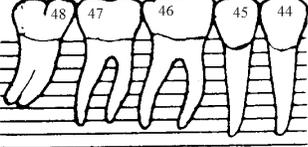
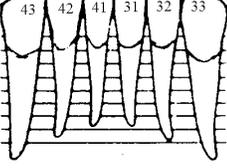
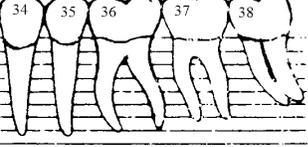
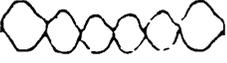
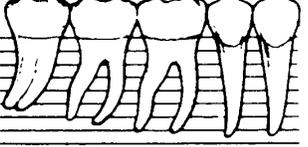
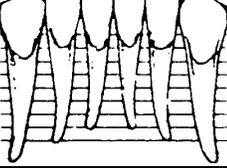
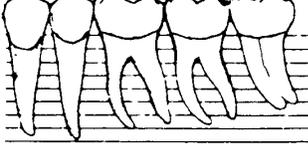
**Periodontograma**

Nombre: \_\_\_\_\_

Fecha: \_\_\_\_\_

PIC	<table border="1"><tr><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr></table>											<table border="1"><tr><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr></table>													<table border="1"><tr><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr></table>												
PB	<table border="1"><tr><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr></table>											<table border="1"><tr><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr></table>													<table border="1"><tr><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr></table>												
NI	<table border="1"><tr><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr></table>											<table border="1"><tr><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr></table>													<table border="1"><tr><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr></table>												
				FACIAL																																	
				LINGUAL																																	
																																					
	<table border="1"><tr><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr></table>											<table border="1"><tr><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr></table>													<table border="1"><tr><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr></table>												
	18 17 16 15 14	13 12 11 21 22 23	24 25 26 27 28																																		

RIGHT \_\_\_\_\_ LEFT

	48 47 46 45 44	43 42 41 31 32 33	34 35 36 37 38																																		
PIC	<table border="1"><tr><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr></table>											<table border="1"><tr><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr></table>													<table border="1"><tr><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr></table>												
PB	<table border="1"><tr><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr></table>											<table border="1"><tr><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr></table>													<table border="1"><tr><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr></table>												
NI	<table border="1"><tr><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr></table>											<table border="1"><tr><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr></table>													<table border="1"><tr><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr></table>												
				FACIAL																																	
																																					
				LINGUAL																																	
	<table border="1"><tr><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr></table>											<table border="1"><tr><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr></table>													<table border="1"><tr><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr></table>												
		93																																			

**Anexo IV:**

**Enfermedad Periodontal**

Nombre: \_\_\_\_\_

Fecha: \_\_\_\_\_

**Evaluación Radiográfica**

**Reabsorción Horizontal**

1.7 1.6 1.5 1.4 1.3 1.2 1.1 2.1 2.2 2.3 2.4 2.5 2.6 2.7


4.7 4.6 4.5 4.4 4.3 4.2 4.1 3.1 3.2 3.3 3.4 3.5 3.6 3.7

**Reabsorción Vertical**

1.7 1.6 1.5 1.4 1.3 1.2 1.1 2.1 2.2 2.3 2.4 2.5 2.6 2.7


4.7 4.6 4.5 4.4 4.3 4.2 4.1 3.1 3.2 3.3 3.4 3.5 3.6 3.7

**Diagnóstico:**

\_\_\_\_\_

**Ev. Radiográfica:**

**Leve**= 25%

**Moderada**= 50%

**Avanzada**= >75%

**Enfermedad Periodontal Crónica:**

**Localizada**= <30% sitios afectados

**Generalizada**= >30% sitios afectados

**Leve**= 1-2mm de pérdida de inserción clínica u ósea

**Moderada**= 3-4mm de pérdida de inserción clínica u ósea

**Avanzada**= >5mm de pérdida de inserción clínica u ósea

**Anexo V:**

**Índice Periodontal:**

Nombre: \_\_\_\_\_

Fecha: \_\_\_\_\_

Resultado:

**Superior:**

1.7 1.6 1.5 1.4 1.3 1.2 1.1 2.1 2.2 2.3 2.4 2.5 2.6 2.7


1.7 1.6 1.5 1.4 1.3 1.2 1.1 2.1 2.2 2.3 2.4 2.5 2.6 2.7

**Inferior:**

4.7 4.6 4.5 4.4 4.3 4.2 4.1 3.1 3.2 3.3 3.4 3.5 3.6 3.7


4.7 4.6 4.5 4.4 4.3 4.2 4.1 3.1 3.2 3.3 3.4 3.5 3.6 3.7

## **Anexo V:**

### **Preparación para Muestra de Saliva**

Para prevenir la posibilidad de que se encuentren sustancias contaminantes en la saliva que pudieran interferir con el inmunoensayo, se recomiendan las siguientes precauciones para los participantes que serán los donantes de la saliva:

- Eliminar la ingestión de alcohol antes de la colección de saliva.
- No ingerir comidas completas en al menos 60 minutos antes de la recolección de saliva.
- Evitar productos lácteos por 20 minutos antes de la recolecta de saliva.
- Evitar alimentos con alto contenido de azúcar o acidez, contenido de cafeína alto, inmediatamente antes de la colección de saliva, ya que pueden comprometer el ensayo reduciendo el pH de la saliva e incrementando el crecimiento bacteriano.
- Enjuagar la boca con agua para la remoción de los residuos de comida antes de la recolección. Esperar por lo menos 10 minutos después del enjuague para la recolección de saliva para evitar la dilución de la muestra.
- Documentar el consumo alcohol, cafeína, nicotina y prescripción de medicamentos de venta libre.
- Se recomienda documentar el nivel de actividad física para los participantes y la presencia de enfermedades orales.

## **Anexo VI:**

### **Características para la toma de saliva**

Para prevenir la posibilidad de que se encuentren sustancias contaminantes en la saliva que pudieran interferir con el inmunoensayo, se recomiendan las siguientes precauciones para los participantes que serán los donantes de la saliva:

- Eliminar la ingestión de alcohol antes de la colección de saliva.
- No ingerir comidas completas en al menos 60 minutos antes de la recolección de saliva.
- Evitar productos lácteos por 20 minutos antes de la recolección de saliva.
- Evitar alimentos con alto contenido de azúcar o acidez, contenido de cafeína alto, inmediatamente antes de la colección de saliva, ya que pueden comprometer el ensayo reduciendo el pH de la saliva e incrementando el crecimiento bacteriano.
- Enjuagar la boca con agua para la remoción de los residuos de comida antes de la recolección. Esperar por lo menos 10 minutos después del enjuague para la recolección de saliva para evitar la dilución de la muestra.
- Documentar el consumo alcohol, cafeína, nicotina y prescripción de medicamentos de venta libre.
- Se recomienda documentar el nivel de actividad física para los participantes y la presencia de enfermedades orales.

## Bibliografia

- A.A.P. (Informational Paper). The Pathogenesis Of Periodontal Diseases. *Journal Of Periodontology*. 1999. 70 (4): 457-470.
- American Diabetes Association: Diagnosis And Classification Of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care*. 2004. 27 (Suppl. 1):5–S10.
- Andrews Rc, Herlihy O, Livingstone De, Andrew R, Walker Br: Abnormal Cortisol Metabolism And Tissue Sensitivity To Cortisol In Patients With Glucose Intolerance. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002. 87:5587–5593.
- Andrews Rc, Walker Br: Glucocorticoids And Insulin Resistance Old Hormones, New Targets. *Clinl Sci (Lond)*. 1999. 96:513–523.
- Ansai, Soh, Ishisaka, Yoshida, Awano, Hamasaki, Sonoki, Takata, Takehara. Determination Of Cortisol And Dehydroepiandrosterone Levels In Saliva For Screening Of Periodontitis In Older Japanese Adults. *International Journal Of Dentistry*. 2009. 8.
- Armitage Gc Diagnosis Of Periodontal Diseases. *J Periodontol*. 2003 Aug. 74(8):1237-47.
- Armitage Gc: Development Of A Classification System For Periodontal Diseases And Conditions. *Ann Periodontol*. 1999. 4:1.
- Barnes. How Corticosteroids Control Inflammation: Quintiles Prize Lecture 2005. *Br J Pharmacol*. 2006 June; 148(3): 245–254.
- Bennett Herbert T., Cohen S. Stress And Immunity In Humans: A Meta-Analytic Review. *Psychosomatic Medicine*. 1993. 55:364-379.
- Berliner And Dougherty. Influence Of Reticuloendothelial And Other Cells On The Metabolic Fate Of Steroids. *Annals Of The New York Academy Of Sciences*. Volume 88, The Reticuloendothelial System (Res) Pages 14–29, June 1960
- Bhatia Rp, Adarsh Singh Rh: Cortisol In Diabetic Retinopathy. *Ann Ophthalmol*. 1983. 15: 128–130.
- Bjontorp P, Holm G, Rosmond R: Hypothalamic Arousal, Insulin-Resistance And Type 2 diabetes mellitus. *Diabet Med*. 1999. May;16(5):373-83.
- Boldyreff B, Wehling M. Aldosterone: Refreshing A Slow Hormone By Swift Action. *News Physiol Sci*. 2004. 19:97.
- Brandtstädter Joche, Bernhard Baltes-Götz, Clemens Kirschbaum, Dirk Hellhammer.

Developmental and personality correlates of adrenocortical activity as indexed by salivary cortisol: Observations in the age range of 35 to 65 years. *Journal of Psychosomatic Research*. 1991. Volume 35, Issues 2-3 Pages 173-185.

- Cai Hua, And Harrison D. Endothelial Dysfunction In Cardiovascular Diseases: The Role Of Oxidant Stress. *Circulation Research*. 2000. 87:840.
- Canals J, M.Teresa Colomina, JoséL. Domingo<sup>a</sup>, Edelmira Domènech Influence of smoking and drinking habits on salivary cortisol levels. *Personality and Individual Differences*. Volume 23, Issue 4, October 1997, Pages 593-599.
- Cato A.C., Wade E. Molecular Mechanisms Of Anti-Inflammatory Action Of Glucocorticoids. *Bioessays*. 1996;18:371–378
- Chernow, B. Hormonal Responses To Graded Surgical Stress. *Arch Intern Med*. 1987. 147, 1273-1278.
- Chiodin Ii, Guido Adda, Alfredo Scillitani, Francesca Coletti, Valentina Morelli, Sergio Di Lembo, Paolo Epaminonda, Benedetta Masserini, Paolo Beck-Peccoz, Emanuela Orsi, Bruno Ambrosi, Maura Arosio. Cortisol Secretion In Patients With Type 2 Diabetes. *Diabetes Care*, Volume 30, Number 1, January 2007.
- Chobanian Av, Bakris Gl, Black Hr. Seventh Report Of The Joint National Committee On Prevention, Detection, Evaluation, And Treatment Of High Blood Pressure. *Hypertension*. 2003. 42 (6): Pp. 1206–52.
- Chrousos Gp & Gold Pw. A Healthy Body In A Healthy Mind – And Vice Versa – The Damaging Power Of ‘Uncontrollable’ Stress. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83: 1842-45.
- Chrousos Gp, Torpy Dj, Gold Pw: Interactions Between The Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis And The Female Reproductive System: Clinical Implications. *Ann Intern Med*. 1998. 129:229.
- Clow, A., Hucklebridge, F., Stalder, T., Evans, P., & Thorn, L. The Cortisol Awakening Response: More Than A Measure Of Hpa Axis Function. *Neuroscience And Biobehavioral Reviews*. 2010. 35, 97-103.
- Contreras Santos, Freddy. “Fisiopatología” Editorial Mc. Graw - Hill, 1997.

- Cooper, C. L. And Marshall, J. Occupation Sources Of Stress: A Review Of The Literature Relating To Coronary Heart Disease And Mental Heart Disease And Mental Health. *Journal Of Occupational Psychology*. 1976. 49, 11-28.
- Da Silva. Sex Hormones And Glucocorticoids: Interactions With The Immune System. *Annals Of The New York Academy Of Sciences*. 1999. Volume 876. Pp 102-118.
- Dacou-Voutetakis C, Peppas-Patrikiou M, Dracopoulou M: Urinary Free Cortisol And Its Nyctohemeral Variation In Adolescents And Young Adults With Iddm: Relation To Endothelin 1 And Indices Of Diabetic Angiopathy. *J Pediat Endocrinol Metab*. 1998. 11:437– 445.
- Dannenberg A. The Antiinflammatory Effects Of Glucocorticosteroids. *Inflammation*. 1979. Vol 3, Number 3.
- De Nardin, E. The Role Of Inflammatory And Immunological Mediators In Periodontitis And Cardiovascular Disease. *Annals Of Periodontology*. 2001. 6 (1): 30-40.
- Dedovic K, Duchesne A, Andrews J, Engert V, Pruessner Jc. The Brain And The Stress Axis: The Neural Correlates Of Cortisol Regulation In Response To Stress. *Neuroimage*. 2009. 47(3):864-71.
- Deo V, Bhongade Ml. Pathogenesis Of Periodontitis: Role Of Cytokines In Host Response. *Dent Today*. 2010 Sep. 29(9):60-2, 64-6.
- Di Rosa, P., Calignano, A., Carnuccio, R., Ialenti, A. & Sautebin, L. Multiple Control Of Inflammation By Glucocorticoids. *Agents And Actions*. 1985. 17, 284-289.
- Dimopoulou, Ioanna Md; Tsagarakis, Stylianos Md, Phd; Anthi, Anastasia Md; Milou, Ema Md; Ilias, Ioannis Md; Stavrakaki, Krystallia Md; Charalambidis, Charalambos Md; Tzanela, Marinella Md; Orfanos, Stylianos Md; Mandragos, Konstantinos Md; Thalassinou, Nikolaos Md; Roussos, Charis Md, Phd. High Prevalence Of Decreased Cortisol Reserve In Brain-Dead Potential Organ Donors. *Critical Care Medicine*. 2003 - Volume 31 - Issue 4 - Pp 1113-1117
- Dinneen S., Alzaid, J Miles, And R Rizza. Metabolic Effects Of The Nocturnal Rise In Cortisol On Carbohydrate Metabolism In Normal Humans. *J Clin Invest*. 1993. 92(5): 2283–2290.

- Dorn, L.D., Lucke, J.F., Loucks, T.L. , Berga, S.L. Salivary Cortisol Reflects Serum Cortisol: Analysis Of Circadian Profiles. *Ann Clin Biochem.* 2007. 44. 281-284.
- Dreisbach, Albert W; Sat Sharma Y Claude Kortas . Hypertension. *Nephrology: Hypertension And The Kidney.*2010.
- Drucker, S. New M1: Disorders Of Adrenal Steroidgenesis. *Pediatr Clin North Am.* 1987. 34. 1055-1066.
- Edwards<sup>a</sup>, A. Clow<sup>a</sup>, P. Evans<sup>a</sup> And F. Hucklebridge.Exploration Of The Awakening Cortisol Response In Relation To Diurnal Cortisol Secretary Activity *Psychoneuroendocrinology* (2004) 29, 925–930
- Emack, J., Kostaki, A., Walker, C.D., Matthews, S. G. (2008). Chronic Maternal Stress Affects Growth Behavior And Hypothalamo-Pituitary-Adrenal Function In Juvenile Offspring. *Horm Behav.* 2008. 54(4),514-20. 29.
- Engler D, Pham T, Fullerton Mj, Ooi G, Funder Jw, Clarke Ij. Studies Of The Secretion Of Corticotropin-Releasing Factor And Arginine Vasopressin Into The Hypophysial-Portal Circulation Of The Conscious Sheep. I. Effect Of An Audiovisual Stimulus And Insulin-Induced Hypoglycemia. *Neuroendocrinology.* 1989. Apr;49(4):367-81.
- Etzion, Dalia, Eden, Dov, : Lapidot, Yael. Relief From Job Stressors And Burnout: Reserve Service As A Respite. *Journal Of Applied Psychology [Jap].*1998., 83(4), 577 - 85.
- Farreras Y Rozman. “Medicina Interna” Vol Ii, 14a. Edición, Editorial Mosby / Doyma, 2000
- Farsky, P Sannomiya And J Garcia-Leme. Secreted Glucocorticoids Regulate Leukocyte-Endothelial Interactions In Inflammation. A Direct Vital Microscopic Study. *Journal Of Leukocyte Biology,* 1995 Vol 57.
- Fauci, Braunwald, Kasper, Hauser, Longo, Jameson. Harrison, *Principios De Medicina Interna* 17a Ed. Mc Graw Hill. 2009. Vol Ii. Pp 2187.
- Ferrando A., Charles A. Stuart, Melinda Sheffield-Moore And Robert R. Wolfe. Inactivity Amplifies The Catabolic Response Of Skeletal Muscle To Cortisol. *The Journal Of Clinical Endocrinology & Metabolism.* 1999. Vol. 84, No. 10 3515-3521.

- Fischbach, F.T. The Manual Of Laboratory And Diagnostic Tests. 4<sup>th</sup> Ed. 1992. Philadelphia: J.B. Lippincott
- Flemming Tf: Periodontitis, Ann Periodontol. 1999. 4:32.
- Francis J., P D Home, I Hanning, K G Alberti, W M Tunbridge. Intermediate Acting Insulin Given At Bedtime: Effect On Blood Glucose Concentrations Before And After Breakfast. Br Med J (Clin Res Ed) 1983; 286 : 1173
- Francis, S.J., Walker, R.F., Riad-Fahmy, D., Hughes, D., Murphy, J.F., Gray, O.P. Assessment Of Adrenocortical Activity In Term Newborn Infants Using Salivary Cortisol Determinations. J Of Pediatrics. 1987. 111. 129-133.
- Fried, Y., Rowland, K. M. And Ferris, G. R. The Physiological Measurement Of Work Stress: A Critique. Personnel Psychology. 1984. 37, 583-615.
- Fuster, V., Badimon, L., Badimon, J. And Chesebro, J. The Pathogenesis Of Coronary Artery Disease And The Acute Coronary Syndromes. New Enganland Journal Of Medicine. 1992. 326, 242-248.
- Ganong, Fisiología Médica 23<sup>a</sup> Ed. Mc Graw Hill. 2010. Pp 337-334.
- Garrett Bridgette E., Phd, Office On Smoking And Health, National Center For Chronic Disease Prevention And Health Promotion Cigarette Smoking --- United States, 1965—2008.Supplements.January 14, 2011 / 60(01);109-113
- Genco Rj. Current View Of Risk Factors For Periodontal Diseases. J Periodontol. 1996 Oct;67(10 Suppl):1041-9.
- Gillingham Lg, Harris-Janz S, Jones Pj.Dietary Monounsaturated Fatty Acids Are Protective Against Metabolic Syndrome And Cardiovascular Disease Risk Factors. Lipids. 2011. N 6. Vol. 46.
- Goodyer, Herbert And Altham. Recent Life Events, Cortisol, Dehydroepiandrosterone And The Onset Of Major Depression In High-Risk Adolescents. *The British Journal Of Psychiatry*. 2000. 177: 499-504
- Granger, D.A., Cicchetti, D., Rogosch, F., Et a. Blood Contamination In Children's Saliva: Prevalence, Stability, And Impact On The Measurement Of Salivary Cortisol, Testosterone, And Dehydroepiandrosterone. Psychoneuroendocrinology. 2007.32(6), 724-33. 23.
- Graves, Dt. The Potential Role Of Chemokines And Inflammatory Cytokines In

- Periodontal Disease Progression. *Clinical Infectious Diseases*. 1999. 28: 482-490.
- Guérineau Nc, Desarménien Mg. Developmental And Stress-Induced Remodeling Of Cell-Cell Communication In The Adrenal Medullary Tissue. *Cell Mol Neurobiol*. 2010 Nov 9.
  - Gupta S, Aslakson E, Gurbaxani Bm, Vernon Sd. Inclusion Of The Glucocorticoid Receptor In A Hypothalamic Pituitary Adrenal Axis Model Reveals Bistability. *Theor Biol Med Model*. 2007. Feb 14;4:8.
  - Guyton, Hall. *Tratado De Fisiología Médica 10maed*. Mc Graw Hill. 2006. Cap 77. Pp 1054-1061.
  - Harrison. *Principios De Medicina Interna 16a Edición* (2006).
  - Hilgert JB, F.N. Hugo, D.R. Bandeira And M.C. Bozzetti. Stress, Cortisol, And Periodontitis In A Population Aged 50 Years And Over. *J Dent Res*. 2006. 85:324.
  - Hilgert, Hugo, Bandeira And Bozzetti. Stress, Cortisol, And Periodontitis In A Population Aged 50 Years And Over. *J Dent Res*. 2006. 85(4):324-328.
  - Hiramatsu R. Direct Assay Of Cortisol In Human Saliva By Solid Phase Radioimmunoassay And Its Clinical Applications. *Clinica Chimica Acta*. 1981. 117. 239-249.
  - Honda, T. Domon, H. Okui, T. Kajita, K. Amanuma, R. Yamazaki, K. Balance Of Inflammatory Response In Stable Gingivitis And Progressive Periodontitis Lesions. *Clinical And Experimental Immunology*. 2006. 144: 35-40.
  - Iacopino, Am. Periodontitis And Diabetes Interrelationships: Role Of Inflammation. *Annals Of Periodontology* 2001. 6 (1):125-137.
  - Jackson, P. R., Wall, T. D., Martin, R. And Davids, K. New Measures Of Job Control, Cognitive Demand, And Production Responsibility. *Journal Of Applied Psychology*. 1993. 78, 753-762.
  - Jessop Ds: Central Non-Glucocorticoid Inhibitors Of The Hypothalamo-Pituitary-Adrenal Axis. *J Endocrinol*. 1999. 160:169.
  - Jex, S. M. And Beehr, T. A. Emerging Theoretical And Methodological Issues In The Study Of Work-Related Stress. In G. R. Ferris And K. W. Rowland (Eds). *Research In*

Personnel And Human Resources Management. 1991. (Vol.9). Greenwich. Ct: Jai Press.

- Kalman and Grahn. Measuring Salivary Cortisol in the Behavioral Neuroscience Laboratory. *Journal of Undergraduate Neuroscience Education* (JUNE). 2004. 2(2): A41-A49).
- Katan M., N. Nigro, F. Fluri, P. Schuetz, N.G. Morgenthaler, F. Jax, S. Meckel, A. Gass, R. Bingisser, A. Steck, L. Kappos, S. Engelter, B. Müller, M. Christ-Crain. Stress Hormones Predict Cerebrovascular Re-Events After Transient Ischemic Attacks. *Neurology*. 2011 Vol. 76 No. 6 563-566.
- Katori Masakoto And Majima Masataka. A Missing Link Between A High Salt Intake And Blood Pressure Increase. Department Of Pharmacology, Kitasato University School Of Medicine, Kitasato, Sagamihara, Kanagawa, Japan February 8, 2006.
- Katzung Bertram G. *Farmacología Básica Y Clínica*, 9aed. Manual Moderno. 2005. Cap. 39. Pp 641.
- Keil R.M.K. Coping And Stress: A Conceptual Analysis. *Journal Of Advanced Nursing*, 2004. Volume 45, Number 6. Pp. 659-665(7).
- Kiecolt-Glaser, J. K., Ogrocki, P., Stout J. C., Speicher, C. E. And Glaser, R. (1987). Marital Quality, Marital Disruption And Immune Function. *Psychosomatic Medicine*, 49, 13-34.
- Kiess, W., Meidert, A., Dressendorfer, R.A., Schriever, K., Kessler, U., Konig, A., Schwarz, H.P., & Strasburger, C.J. (1995). Salivary Cortisol Levels Throughout Childhood And Adolescence: Relation With Age, Pubertal State, And Weight. *Pediatr Res*, 37(4 Pt 1), 502-6.
- Kinane, Df. Lappin, Df. Immune Processes In Periodontal Disease: A Review. *Annals Of Periodontology*. 2001. 7(1): 62-71.
- King, Michael W. (2005). *Lange Q&A Usml Step 1* (Sixth Ed.). New York: Mcgraw-Hill, Medical Pub. Division. P. 82.
- Kirk C. Klasing, David E. Laœerin, Raymond K. Peng And. Michael Fry. Immunologically Mediated Growth Depression In Chicks: Influence Of Feed Intake, Corticosterone And Interleukin-1. *J. Nutr.* 1987. 117: 1629-1637.

- Kirschbaum C & Hellhammer Dh. Salivary Cortisol In Psychobiological Research: An Overview. *Neuropsychobiology* 1989; 22: 150-69.
- Kreiger, D.T. Rhythms Of Acth And Corticosteroid Secretion In Health And Disease And Their Experimental Modification. *J Steroid Biochem.* 6. 758- 91.
- Kumar, Path, Abbas, Fausto, And Aster. Robbins & Cotran. Pathologic Basis Of Disease (8th Edición). 2009. Cap. 11 Hypertensive Vascular Disease. En Saunders (Elsevier).
- Laudat Mh, Cerdas S, Fournier C, Guiban D, Guilhaume B, Luton Jp. Salivary Cortisol Measurement: A Practical Approach To Assess Pituitary-Adrenal Function. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; **66**: 343-48.
- Lazarus, R. S. And Folkman, S. (1984). Stress, Appraisal Con Coping. New York: Springer.
- Lentle Bc, Thomas Jp: Adrenal Function And The Complications Of Diabetes Mellitus. *Lancet.* 1964. 2:544–549.
- Leresche L, Dworkin Sf . The Role Of Stress In Inflammatory Disease, Including Periodontal Disease: Review Of Concepts And Current Findings. *Periodontol* 2000. 2002. 30:91-103.
- Lindhe, J. Lang, Np. Clinical Periodontology And Implant Dentistry. 5<sup>th</sup> Edition. Blackwell Munksgard. London, Uk. 2008.
- Litchfield; Steven C. Hunt; Xavier Jeunemaitre; Naomi D. L. Fisher; Paul N. Hopkins; Roger R. Williams; Pierre Corvol; ; Gordon H. Williams. Increased Urinary Free Cortisol: A Potential Intermediate Phenotype Of Essential Hypertension. *Hypertension.* 1998.31:569-574.
- Loe H, Theilade E, Jensen Sb: Experimental Gingivitis In Man, *J Periodontol.* 1965. 36:177.
- Løe, Harald and Silness, John. Periodontal Disease in Pregnancy I. Prevalence and Severity', *Acta Odontologica Scandinavica.* 1963. 21:6,533 — 551
- Lupien Sonia, Mony De Leon<sup>3</sup>, Susan De Santi<sup>3</sup>, Antonio Convit<sup>3</sup>, Chaim Tarshish<sup>3</sup>, N. P. V. Nair<sup>1</sup>, Mira Thakur<sup>1</sup>, Bruce S. McEwen<sup>4</sup>, Richard L. Hauger<sup>5</sup> & Michael J. Meaney Cortisol Levels During Human Aging Predict Hippocampal Atrophy And Memory Deficits. *Nature Neuroscience.* 1998, 69 – 73.

- Lutz, C.K., Tiefenbacher, S., Jorgensen, M.J., Et Al. (2000). Techniques For Collecting Saliva From Awake, Unrestrained Adult Monkeys For Cortisol Assay. *Am J Primatol.* 2000. 52(2), 93-99.
- Magnano et al., Use of Salivary Cortisol Measurements in Young Infants: A Note of Caution. *Child Development.* 1989, 60, 1099-1101.
- Maron Dj, Ridker Pm, Pearson Ta . Risk Factors And The Prevention Of Coronary Heart Disease. In: Alexanderrw, Schlantrc, Fusterv, O’rourkera, Robertsr, Sonnenblickeh, Eds. *Hurst’s The Heart, Arteries And Veins.* New York: Mcgraw-Hill, 1998; 1175-95.
- Martinez-Canut Pedro, Amparo Lorca, Rafael Magán. Smoking And Periodontal Disease Severity. *Journal Of Clinical Periodontology.* 1995. Volume 22, Issue 10, Pages 743–749.
- Matuszek Ma . Elevated Levels Of Circulating Cortisol In Young Normotensive Adult Men With A Family History Of Hypertension. *Clin Exp Pharmacol Physiol* - 01-Mar-2008; 35(3): 280-6.
- Mayer. Immunology - Immunoglobulins- Antigen-Antibody Reactions And Selected Tests. *J of Inmun.* 2010
- McEwen Bs. Physiology And Neurobiology Of Stress And Adaptation: Central Role Of The Brain. *Physiol Rev.* 2007 Jul;87(3):873-904.
- McMahan M., J. Gerich, R. Rizza Effects Of Glucocorticoids On Carbohydrate Metabolism. *Diabetes. Metabolism Reviews.* February 1988. Volume 4, Issue 1, Pages 17–30.
- Migeon, C.J. And Lanes, R.L. Adrenal Cortex: Hypo- And Hyperfunction. F. Lifshitz (Ed). *Pediatric Endocrinology, A Clinical Guide.* 2<sup>nd</sup> Ed. 1990. Pp 333-352. New York: Marcel Dekker.
- Nestler, Je, Barlascini, Co, Clore, Jn & Blackard, Wg. Dehydroepiandrosterone Reduces Serum Low Density Lipoprotein Levels And Body Fat But Does Not Alter Insulin Sensitivity In Normal Men. *Journal Of Clinical Endocrinology & Metabolism.* 1998. 66:57-61.
- Newmann, Mg. Takei, Hh. Klokkevold, Pr. Carranza, Fa. *Periodontología Clínica.* 10ma Edición. Mc Graw Hill Interamericana. México D.F. 2010.

- Nieman Dc. Immune Response To Heavy Exertion. *J Appl Physiol* 2000; 82: 1385-1394.
- Nishmura, F. Iwamoto, Y. Mineshiba, J. Shimizu, A. Soga, Y. Murayma, Y. Periodontal Disease And Diabetes Mellitus: The Role Of Tumor Necrosis Factor-A In A 2 Way Relationship. *Journal Of Periodontology*. 2003; 74 (1): 97- 102.
- Nunn. Me. Understanding The Etiology Of Periodontitis: An Overview Of Periodontal Risk Factors. *Periodontology* 2000. 2003. 32. 11-23
- O'leary, Ann. Stress, Emotion, And Human Immune Function. *Psychological Bulletin*. 1990. Vol 108(3).363-382.
- Oberleithner H: Unorthodox Sites And Models Of Aldosterone Action. *News Physiol Sci*. 2004. 19:51.
- Okada, H. Cytokine Expression In Periodontal Health And Disease. *Critical Review In Oral Biology And Medicine*. 1998. 9 (3): 248-266.
- Oldehinkel Aj, Ormel J, Bosch Nm, Bouma Em, Van Roon Am, Rosmalen Jg, Riese H. Stressed Out? Associations Between Perceived And Physiological Stress Responses In Adolescents: The Trails Study. *Psychophysiology*. 2011 Apr;48(4):441-452.
- Oltmanns Km, Dodt B, Raspe Hh, Schweiger U, Born J, Fehm H, Peters A: Cortisol Correlates With Metabolic Disturbances In A Population Study Of Type 2 Diabetic Patients. *Eur J Endocrinol*. 2006. 154: 325–331.
- Oneida Terazón Miclín, Katuska Ragolta MÓgrave , Rafael Laborí Ruiz. Modification To Some Risk Factors In Patients With Hypertension In The Community. *Medisan* 2009;13(6).
- Peppas-Patrikiou M, Scordili M, Antoniou A, Giannaki M, Dracopoulou M, Dacou-Voutetakis C: Carotid Atherosclerosis In Adolescents And Young Adults with Iddm: Relation To Urinary Endothelin, Albumin, Free Cortisol And Other Factors. *Diabetes Care*. 1998. 21:1004–1007.
- Phillips Di, Barker Dj, Fall Ch, Seckl Jr, Whorwood Cb, Wood Pj, Walker Br: Elevated Plasma Cortisol Concentrations: A Link Between Low Birth Weight And The Insulin Resistance Syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*. 1998. 83:757–760.

- Philstrom Bl. Periodontal Risk Assessment, Diagnosis And Treatment Planning. *Periodontol* 2000. 2001;25:37-58.
- Pressner, J.C., Wolf, O.T., Hellhammer, D.H., Buske-Kishbaum, A., Von Auer, K., Jobst, S., Kaspers, F. And Kirschbaum, C. Free Cortisol Levels After Awakening: A Reliable Marker For Assessment Of Adrenocortical Activity. *Life Sciences*. 1997. 61, 2530-2549.
- Pruessner J., Dirk H. Hellhammer, and Clemens Kirschbaum. Burnout, Perceived Stress, And Cortisol Responses To Awakening. *Psychosomatic Medicine* 1999. 61:197-204.
- Raff H, Findling Jw. A Physiologic Approach To Diagnosis Of The Cushing Syndrome. A Physiologic Approach To Diagnosis Of The Cushing Syndrome *Ann Intern Med*. 138:980, 2003
- Raff, H., Raff, J.L., & Findling, J.W. Late-Night Salivary Cortisol As A Screening Test For Cushing's Syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*. 1998. 83(8), 2681- 86.
- Ramey Sl, Downing Nr, Franke Wd, Perkhounkova Y, Alasagheirin Mh. Relationships Among Stress Measures, Risk Factors And Inflammatory Biomarkers In Law Enforcement Officers. *Biol Res Nurs*. 2011 Feb 28.
- Rhen T., Cidlowski J.A. Antiinflammatory Action Of Glucocorticoids – New Mechanisms For Old Drugs. *New Engl. J. Med*. 2005;353:1711–1723.
- Richard H. Rahe Cdr Mc, Usnr, Robert T. Rubin Md, And Ransom J. Arthur Capt Mc, Usn. The Three Investigators Study. Serum Uric Acid, Cholesterol, And Cortisol Variability During Stresses Of Everyday Life. *Psychosomatic Medicine*. 1974. 36:258-268.
- Ritchie, Cs. Kinane, Df. Nutrition, Inflammation, And Periodontal Disease. *Nutrition*. 2003. 19 (5): 475-6.
- Rizzo. J., House, R. And Lirtzman, S. Role Conflict And Ambiguity In Complex Organizations. *Administrative Science Quarterly*. 1970. 15, 150-163.
- Robin, P., Predine, J., And Milgrom, E. Assay Of Unbound Cortisol In Plasma. *J Clin Endocrinol Metab*. 46. 277-283.
- Rosania Ae; Low Kg; McCormick Cm; Rosania Da. Stress, Depression, Cortisol And Periodontal Disease. *Journal Of Periodontology*. 2009. Feb; Vol. 80 (2), Pp. 260-6.

- Rosmond Roland, Dallman Mary F. And Björntorp Per. Stress-Related Cortisol Secretion In Men: Relationships With Abdominal Obesity And Endocrine, Metabolic And Hemodynamic Abnormalities: Journal Of Clinical Endocrinology And Metabolism. 1998. Vol 83.. No 6.
- Rosmond, P. Björntorp. The Hypothalamic–Pituitary–Adrenal Axis Activity As A Predictor Of Cardiovascular Disease, Type 2 Diabetes And Stroke. Journal Of Internal Medicine. February 2000. Volume 247, Issue 2, Pages 188–197.
- Roubenoff R. And Rall L. Humoral Mediation Of Changing Body Composition During Aging And Chronic Inflammation. Nutrition Reviews. January 1993. Volume 51, Issue 1, Pages 1–11.
- Roy Ms, Roy A, Brown S: Increased Urinary Free Cortisol Outputs In Diabetic Patients. J Diabetes Complications. 1998. 12:24–27.
- Salimetrics, Llc 101 Innovation Blvd., Suite 302 State College, Pa 16803, Usa (T) 814-234-7748, (F) 814-234-1608 800-790-2258 (Usa & Canada Only)  
www.Salimetrics.Com.
- Salvi, Ge. Lawrence, Hp. Offenbacher, S. Beck, Jd. Influence Of Risk Factors On The Pathogenesis Of Periodontitis. Periodontology 2000. 1997. 14. 173-201.
- Sapse Alfred T. Stress, Cortisol, Interferon And “Stress” Diseases : I. Cortisol As The Cause Of “Stress” Diseases. Medical Hypotheses. 1984. Volume 13, Issue 1. Pages 31-44.
- Schane Rebecca E.; Pamela M. Ling, Stanton A. Glantz, Health Effects Of Light And Intermittent Smoking. Circulation. 2010;121:1518-1522.
- Schöbitz B, Reul Jm, Holsboer F. The Role Of The Hypothalamic-Pituitary-Adrenocortical System During Inflammatory Conditions. Crit Rev Neurobiol. 1994. 8(4):263-91.
- Schoorlemmer Rm . Relationships Between Cortisol Level, Mortality And Chronic Diseases In Older Persons. Clin Endocrinol (Oxf) - 01-Dec-2009; 71(6): 779-86
- Schwartz, E., & Granger, D.A. Transferrin Enzyme Immunoassay For Quantitative Monitoring Of Blood Contamination In Saliva. Clin Chem.2004. 50(3), 654-56.

- Serido J, Almeida Dm, Wethington E. Chronic Stressors And Daily Hassles: Unique And Interactive Relationships With Psychological Distress. *J Health Soc Behav.* 2004 Mar;45(1):17-33.
- Silness, John and Løe, Harald. Periodontal Disease in Pregnancy II. Correlation Between Oral Hygiene and Periodontal Condition',*Acta Odontologica Scandinavica.*1964.22:1,121 — 135.
- Silva, Ta. Garlet, Gp. Fukada, Sy. Silva, Js. Cunha, Fq. Chemokines In Oral Inflammatory Diseases: Apical Periodontitis And Periodontal Disease. *Journal Of Dental Research.* 2007. 86 (4):306-319.
- Smith Rf, Dobson H. Hormonal Interactions Within The Hypothalamus And Pituitary With Respect To Stress And Reproduction In Sheep. *Domest Anim Endocrinol.* 2002.
- Soskolne, Wa. Kingler, A. The Relationship Between Periodontal Diseases And Diabetes: An Overview. *Annals Of Periodontology.* 2001. 6(1): 91-98.
- Spat A, Hunyady L. Control Of Aldosterone Secretion: A Model For Convergence In Cellular Signaling Pathways. *Physiol Rev.* 2004. 84:489.
- Stanford, Tw. Rees, Td. Acquired Immune Suppression And Other Risk Factors/Indicators For Periodontal Disease And Progression. *Periodontology* 2000. 2003. 32. 118-135.
- Starkman, Gebarski Berent Schteingart Hippocampal formation volume, memory dysfunction, and cortisol levels in patients with Cushing's syndrome. *Biological Psychiatry.* 1992. Volume 32. P 756-765.
- Susman, E.J., Schmeelk, K.H., Worrall, B.S., Granger, D.A., Ponirakis, A., & Chrousos, M.D. (1999). Corticotropin-Releasing Hormone And Cortisol: Longitudinal Associations With Depression And Antisocial Behavior In Pregnant Adolescents. *J Amer Acad Child Adolesc Psychiatry,* 38(4), 460-67.
- Swaab Df, Bao Am, Lucassen Pj. The Stress System In The Human Brain In Depression And Neurodegeneration. *Ageing Res Rev.* 2005 May;4(2):141-94.
- Swales. *Manual Of Hypertension.* 1995. Oxford: Blackwell Science. Pp. Xiii
- Terpstra J., L. W. Hessel, J. Seepers, C. M. Van Gent. The Influence Of Meal Frequency On Diurnal Lipid, Glucose And Cortisol Levels In Normal Subjects *European Journal Of Clinical Investigation.* April 1978. Volume 8, Issue 2, Pages 61–66.

- Tsigos C, Young Rj, White A: Diabetic Neuropathy Is Associated With Increased Activity Of The Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis. *J Clin Endocrinol Metab.* 1993. 76: 554–558.
- Van Cauter, R Leproult and D J Kupfer. *Effects of Gender and Age on the Levels and Circadian Rhythmicity of Plasma Cortisol.* *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* July 1, 1996 vol. 81 no. 7 2468-2473.
- Van Dyke, Te. Dave, S. Risk Factors For Periodontitis. *Journal Of The International Academy Of Periodontology.* 2005. 7 (1): 3-7.
- Velázquez Mo, Rosas Pm, Lara Ea, Pastelín Hg, Attie F, Tapiacr. *Hipertensión Arterial En México: Resultados De La Encuesta Nacional De Salud (Ensa) 2000.*
- Vining, R.F., Mcginley, R.A., And Symons, R.G. *The Measurement Of Hormones In Saliva: Possibilities And Pitfalls.* *J Steroid Biochem.* 1983. 27. 81-94.
- Vining, R.F., Mcginley, R.A., Maksvytis, J.J., & Ho, K.Y. (1983). *Salivary Cortisol: A Better Measure Of Adrenal Cortical Function Than Serum Cortisol.* *Ann Clin Biochem,* 20(Pt 6), 329-35.
- Weissmann, Grazia Sessa, Vernon Bevans. *Effect Of DmsO On The Stabilization Of Lysosomes By Cortisone And Chloroquine In Vitro.* *Annals Of The New York Academy Of Sciences.* 2006. Volume 141, *Biological Actions Of Dimethyl Sulfoxide.* 1967. Pages 326–332.
- Whembolua, G.L., Granger, D.A., Singer, S., Et Al. *Bacteria In The Oral Mucosa And Its Effects On The Measurement Of Cortisol, Dehydroepiandrosterone, And Testosterone In Saliva.* *Hormbehav.* 2006. 49(4), 478-83.

## **RESUMEN BIOGRÁFICO**

Myrna Karina González Cantú  
Candidato para el Grado de  
Maestría en Ciencias Odontológicas  
con Especialidad en Periodoncia e Implantología

Tesis: “LA RELACIÓN ENTRE LA ENFERMEDAD PERIODONTAL Y  
LOS NIVELES DE CORTISOL SALIVAL”

Campo de Estudio: Ciencias de la Salud

Datos Personales: Nacida en Monterrey; N.L.; México el 18 de Marzo de 1986, hija de Myrna Nelly Cantú Silva y Amador González Cantú

Educación: Egresada de la Universidad Autónoma de Nuevo León, grado obtenido de Cirujano Dentista en 2009.

Experiencia Profesional: Práctica privada

