



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Facultad de Odontología

Escuela Profesional de Odontología

Variación de la actividad de alfa amilasa salival en respuesta al estrés ocasionado ante la realización de una prueba académica por los estudiantes de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos

TESIS

Para optar el Título Profesional de Cirujano Dentista

AUTOR

Abraham Isaac Salomón VILLA ROMERO

ASESOR

Sofia Belinda ESPINOZA ESCAJADILLO

Lima, Perú

2018



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Villa A. Variación de la actividad de alfa amilasa salival en respuesta al estrés ocasionado ante la realización de una prueba académica por los estudiantes de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos [Tesis de pregrado]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Odontología, Escuela Profesional de Odontología; 2018.



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCO
 (Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)
FACULTAD DE ODONTOLOGIA
VICE DECANATO ACADÉMICO
UNIDAD DE ASESORÍA Y ORIENTACIÓN DEL ESTUDIANTE

ACTA

Los Docentes que suscriben, reunidos el cuatro de abril del 2018, por encargo de la Sra. Decana de la Facultad, con el objeto de constituir el Jurado de Sustentación para obtener el Título Profesional de Cirujano Dentista del Bachiller:

VILLA ROMERO, Abraham Isaac Salomón ✓

CERTIFICAN :

Que, luego de la Sustentación de la Tesis « VARIACIÓN DE LA ACTIVIDAD DE ALFA AMILASA SALIVAL EN RESPUESTA AL ESTRÉS OCASIONADO ANTE LA REALIZACIÓN DE UNA PRUEBA ACADÉMICA POR LOS ESTUDIANTES DE LA FACULTAD DE ODONTOLOGÍA DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS » y habiendo absuelto las preguntas formuladas, demuestra un grado de aprovechamiento: BUENO, siendo calificado con un promedio de: Dieciséis....., siendo

(en letras)

(en números)

En tal virtud, firmamos en la Ciudad Universitaria, a los cuatro días del mes de abril del dos mil dieciocho.

PRESIDENTE DEL JURADO

Dr. Luis Hernando Gálvez Calla

MIEMBRO

Dr. Justiniano Sotomayor Camayo

MIEMBRO (ASESOR)

Mg. Sofia Belinda Espinoza escajadillo

Escala de calificación: Grado de Aprovechamiento:
 Sobresaliente (18-20), Bueno (15-17), Regular (12-14), Desaprobado (11 ó menos)
 Criterios : Originalidad, Exposición, Dominio del Tema, Respuestas.

MIEMBROS DEL JURADO DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

- **PRESIDENTE:** Dr. Luis Hernando Gálvez Calla
- **MIEMBRO ASESOR:** Mg. Blga. Sofia Belinda Espinoza Escajadillo
- **MIEMBRO:** Dr. Justiniano Sotomayor Camayo

A Dios por darme la fuerza y ser mi guía en la vida para alcanzar mis objetivos, a mis padres y hermanos por todo el apoyo recibido, a mis maestros por sus enseñanzas y a las personas que me brindaron su amistad y la ayuda incondicional en la elaboración de la presente tesis.

AGRADECIMIENTOS

A mi asesora la Mg. Blga. Sofía Belinda Espinoza Escajadillo, por su apoyo, paciencia y constante dedicación en la elaboración en este trabajo de investigación.

A los docentes de la Facultad de Odontología de la UNMSM por sus aportes a mi formación profesional.

A mi familia, amigos y todas las personas que me ayudaron y motivaron a la realización de este estudio.

RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue determinar si la actividad de la enzima alfa amilasa salival presenta variación frente al estrés ocasionado por la realización de una prueba académica por parte de los estudiantes de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. El diseño de la investigación fue analítico, longitudinal y prospectivo. La muestra estuvo compuesta por 30 estudiantes. Se realizaron las tomas de muestra salival 4 horas antes de la prueba académica y luego a 7 días después de la misma. La actividad de alfa amilasa salival se determinó mediante un ensayo de tipo cinético. Se encontró que existe un aumento en la actividad de alfa amilasa antes de la prueba académica y que existe una disminución en la actividad de la enzima después de la prueba, con significancia estadística ($p=0$) en la prueba T-student para muestras relacionadas. Se concluyó que existe una variación significativa de la actividad de alfa amilasa salival frente al estrés ocasionado por una prueba académica.

Palabras clave: Alfa amilasa salival - estrés – prueba académica.

ABSTRACT

The objective of the present study was to determine if the activity of the salivary alpha amylase enzyme varies according to the stress caused by the performance of an academic test by the students of the Faculty of Dentistry of the National University of San Marcos. The design of the investigation was analytical, longitudinal and prospective. The sample consisted of 30 students. Salivary samples were taken 4 hours before the academic test and then 7 days after the test. The salivary alpha amylase activity was determined by a kinetic type assay. It was found that there is an increase in the alpha amylase activity before the academic test and that there is a decrease in the activity of the enzyme after the test, with statistical significance ($p = 0$) in the T-student test for related samples. It was concluded that there is a significant variation of salivary alpha amylase activity against stress caused by an academic test.

Keywords: Salivary alpha amylase - stress - academic test.

ÍNDICE

I.	INTRODUCCIÓN	11
II.	PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN.....	12
2.1.	AREA PROBLEMA.....	12
2.2.	DELIMITACIÓN.....	12
2.3.	FORMULACIÓN.....	13
2.4.	OBJETIVOS.....	13
2.4.1.	OBJETIVO GENERAL.....	13
2.4.2.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	13
2.5.	JUSTIFICACIÓN	14
2.6.	LIMITACIONES.....	14
III.	MARCO TEÓRICO.....	15
3.1.	ANTECEDENTES	15
3.2.	BASES TEÓRICAS	21
3.2.1.	Alfa amilasa salival	21
3.2.1.1.	Funciones de la alfa amilasa salival.....	25
3.2.1.2.	Medición de la alfa amilasa salival como medio de diagnóstico.....	26
3.2.2.	Estrés.....	28
3.2.2.1.	Factores bioquímicos del estrés	28
3.2.2.2.	Estrés frente a una prueba académica	30
3.3.	HIPÓTESIS.....	31
3.4.	OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES.....	31
IV.	METODOLOGÍA.....	32
4.1.	TIPO DE INVESTIGACIÓN	32
4.2.	POBLACIÓN Y MUESTRA.....	32
4.2.1.	POBLACIÓN	32
4.2.2.	MUESTRA.....	32
4.2.3.	CRITERIOS DE INCLUSIÓN.....	32
4.2.4.	CRITERIOS DE EXCLUSIÓN	33
4.3.	PROCEDIMIENTO Y TÉCNICAS	33
4.4.	PROCESAMIENTO DE DATOS	34
4.5.	ANÁLISIS DE RESULTADO.....	34

V. RESULTADOS	35
5.1. RESULTADO DE LA ACTIVIDAD DE ALFA AMILASA SALIVAL ANTES DE LA PRUEBA ACADÉMICA	35
5.2. RESULTADO DE LA ACTIVIDAD DE ALFA AMILASA SALIVAL DESPUÉS DE LA PRUEBA ACADÉMICA.	36
5.3. RESULTADO DE LA CORRELACIÓN ENTRE LA ACTIVIDAD DE ALFA SALIVAL ANTES Y DESPUÉS DE LA PRUEBA ACADÉMICA.	37
VI. DISCUSIÓN	38
VII. CONCLUSIONES.....	40
VIII. RECOMENDACIONES	41
IX. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	42
X. ANEXOS	45
ANEXO N°1: FICHA DE RECOLECCIÓN	45
ANEXO N°2: CONSENTIMIENTO INFORMADO.....	46
ANEXO N°3: FOTOGRAFÍAS.....	47

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1. RESULTADO DE LA ACTIVIDAD DE ALFA AMILASA SALIVAL EN LOS ESTUDIANTES ANTES DE RENDIR LA PRUEBA ACADÉMICA. LIMA, 2017.....	36
TABLA 2. RESULTADO DE LA ACTIVIDAD DE ALFA AMILASA SALIVAL EN LOS ESTUDIANTES DESPUES DE RENDIR LA PRUEBA ACADÉMICA. LIMA, 2017	37
TABLA 3. PRUEBA T-STUDENT PARA MUESTRAS RELACIONADAS DE ACTIVIDAD DE ALFA AMILASA SALIVAL ANTES Y DESPUÉS DE LA PRUEBA ACADÉMICA. LIMA, 2017.....	38

ÍNDICE DE GRÁFICOS

GRAFICO 1. DISTRIBUCIÓN DE LA ACTIVIDAD DE ALFA AMILASA ANTES DE LA PRUEBA ACADÉMICA SEGÚN FRECUENCIA. LIMA, 2017	36
GRAFICO 2. DISTRIBUCIÓN DE LA ACTIVIDAD DE ALFA AMILASA DESPUES DE LA PRUEBA ACADÉMICA SEGÚN FRECUENCIA. LIMA, 2017	37
GRAFICO 3. VALORES DE LA ACTIVIDAD DE ALFA AMILASA SALIVAL ANTES Y DESPUÉS DE LA PRUEBA ACADÉMICA APLICADA EN LOS ESTUDIANTES. LIMA, 2017	38

I. INTRODUCCIÓN

El estudio del estrés y sus efectos en humanos resulta bastante complejo dada la diversidad de variables que pueden modificar dicha respuesta y que son difíciles de controlar, entre ellas la heterogeneidad genética y cultural, la edad, el sexo, los estresores a considerar, las diferencias interindividuales en la forma de percibir los estímulos estresantes, así como la imposibilidad de mantener a los individuos expuestos a un único estresor. No obstante, existen varios paradigmas para el estudio del estrés en seres humanos. Uno de estos modelos es el de estrés académico. El estrés académico es aquel que se produce en el ámbito educativo como resultado de las exigencias académicas que se les presentan a los estudiantes durante la prosecución de sus estudios.

Desde el punto de vista analítico, el estrés puede ser valorado mediante la vía de activación del sistema simpático adreno-medular. Este sistema es evaluado mediante biomarcadores plasmáticos como la epinefrina y norepinefrina. Sin embargo, su aplicación produce una respuesta estresante significativa por sí misma. El uso de saliva como muestra para evaluación del estrés tiene varias ventajas con respecto al uso de sangre, como el ser obtenido por procedimientos no invasivos que no producen estrés o daño, y es muy simple de obtener, lo cual puede ser realizado por personal con un mínimo entrenamiento.

En trabajos publicados durante la última década, se ha reportado que la actividad de la alfa amilasa salival podría ser un buen marcador de estrés agudo, ya que la estimulación simpática de las glándulas salivales, principalmente las parótidas, aumenta la secreción de esta enzima hacia la saliva. Sin embargo, ha sido poco empleada en el estudio del estrés académico.

II. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

2.1. ÁREA PROBLEMA

La saliva es un fluido biológico de gran importancia, ya que, además de mantener la homeostasis en la cavidad oral, es un medio perfecto para monitorear la salud en general debido a que está compuesta de una variedad de proteínas, enzimas, hormonas, anticuerpos, constituyentes antimicrobianos y citosinas, muchos de los cuales pasan de la sangre a la saliva, a través de sistemas de transporte intra y extracelular.

Dentro del contenido proteico de la saliva, el componente de mayor concentración es la α -amilasa, la cual es secretada por el páncreas y por las glándulas salivales, ambas de carácter enzimático.

Se ha encontrado que su concentración se eleva en respuesta de un aumento en la actividad del sistema nervioso simpático, por lo cual se ha propuesto como un biomarcador sensible a cambios en el organismo humano que están relacionados con el estrés.

2.2. DELIMITACIÓN

El estrés académico es aquel que se produce en el ámbito educativo como resultado de las exigencias académicas que se les presentan a los estudiantes durante la prosecución de sus estudios.

Los exámenes son considerados como fuentes de estrés. Aquellos individuos que no dispongan de las herramientas necesarias para afrontarlos de manera adecuada podrían padecer ansiedad. La ansiedad, por tanto, necesita de los mecanismos del estrés, adaptativos, para desarrollarse; no obstante, las consecuencias a largo plazo que se podrían manifestar en un sujeto ansioso podrían ser graves para su salud y su bienestar

completo. El organismo activa el sistema nervioso simpático, que libera catecolaminas al torrente sanguíneo. Esta liberación de catecolaminas conlleva un aumento en la vigilancia y la alerta.

Se ha relacionado la secreción de alfa-amilasa salival con los niveles de noradrenalina en sangre, proponiéndola como marcador indirecto de la activación simpática. De esta manera, la secreción de alfa-amilasa ha sido utilizada como marcador indirecto de la actividad del sistema simpático-adrenomedular.

2.3. FORMULACIÓN

¿Cuál es la variación de la actividad de alfa amilasa salival en respuesta al estrés ocasionado ante la realización de una prueba académica en los estudiantes de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos?

2.4. OBJETIVOS

2.4.1. OBJETIVO GENERAL

- Determinar la variación de la actividad de alfa amilasa salival en respuesta al estrés ocasionado ante la realización de una prueba académica en los estudiantes de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos

2.4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar la actividad de alfa amilasa salival en respuesta al estrés ocasionado antes de la realización de una prueba académica por parte de los estudiantes de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.
- Determinar la actividad de alfa amilasa salival en respuesta al estrés ocasionado después de la realización de una prueba académica por parte de los estudiantes de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

- Comparar actividad de alfa amilasa salival en respuesta al estrés ocasionado antes y después de la realización de una prueba académica por parte de los estudiantes de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

2.5. JUSTIFICACIÓN

La alfa-amilasa salival es considerado un biomarcador de estrés agudo, en el contexto de la investigación, resulta importante su estudio a fin de intentar minimizar las posibles consecuencias del estrés sobre los resultados académicos del estudiante y más importante aún sobre su salud.

Ante los pocos estudios de investigación relacionados con la actividad de la alfa amilasa salival y el estrés académico. Este estudio aportará a la comunidad universitaria datos estadísticos sobre este tema.

2.6. LIMITACIONES

- Poca bibliografía y antecedentes de investigaciones científicas, referentes a la variación de la actividad de alfa amilasa salival en respuesta al estrés académico.

III. MARCO TEÓRICO

3.1. ANTECEDENTES

Medina-Martel y col. (2014)¹, estudiaron el estrés académico, cortisol sérico y la actividad de alfa amilasa salival. Su objetivo fue evaluar el estrés académico y determinar cortisol sérico y actividad de alfa amilasa salival a fin de evidenciar posibles asociaciones entre estos parámetros. Se aplicó el Cuestionario de Evaluación de Estrés Académico (De Pablo y col, 2004) a 23 estudiantes voluntarios de 4to y 8vo semestre para evaluar la intensidad y frecuencia con la cual los estudiantes perciben 18 estresores académicos. Se determinó cortisol sérico y alfa amilasa salival en muestras de sangre y de saliva respectivamente, recolectadas 4 o 6 días antes de un parcial teórico, el día del parcial y 4 días posteriores al mismo entre las 7:00 y 8:00 a.m. Los resultados se presentan como porcentajes y medias. Las medias se compararon empleando el método estadístico t de Student y el coeficiente de correlación de Pearson fue calculado para evaluar las correlaciones estadísticas entre el cortisol y la alfa amilasa salival. Los valores de $p < 0,05$ fueron considerados estadísticamente significativos. La intensidad de estrés académico fue similar entre ambos semestres, aunque la frecuencia de exposición fue mayor en el 8vo semestre. En el 4to semestre no se observaron cambios significativos en la concentración de cortisol sérico y actividad de α -amilasa salival entre los días evaluados. En el 8vo semestre el cortisol disminuyó a los 4 días posteriores al parcial teórico, sin variaciones en la alfa amilasa salival. Se concluyó que la mayor frecuencia de exposición observada en el 8vo semestre podría estar asociada a una mejor respuesta adaptativa al estrés experimentado durante la época de exámenes. La ausencia de cambios en la actividad de la alfa amilasa salival entre los días evaluados podría estar asociada al efecto del estrés crónico sobre su secreción. La falta de correlación entre los valores de cortisol sérico y alfa amilasa salival podría indicar que ambos marcadores tienen comportamientos diferentes en respuesta a los estímulos estresantes.

Martin Carreras-Presas y col. (2013)², estudiaron el nivel de estrés autopercebido, la alteración de biomarcadores salivales y respuesta cardiovascular. El objetivo del proyecto fue analizar los cambios que se producen a nivel psicofísico en alumnos de 4º de la Licenciatura en Odontología antes y después de la realización de una prueba objetiva. Se realizó un estudio longitudinal, prospectivo, aleatorizado sobre 33 estudiantes voluntarios sanos, para determinar el impacto a nivel fisiológico de un examen como agente estresor. Los criterios de inclusión fueron: Alumnos de 4º curso de la Licenciatura de Odontología, que fuesen a realizar un examen parcial de Patología Medica Bucofacial, que hubieran seguido las instrucciones previas a la recogida de muestras y que hubieran firmado el consentimiento informado. Se excluyeron a los pacientes con alteraciones sistémicas, y los que se encuentren medicados. El cortisol y la alfa-amilasa fueron determinados en saliva. Se recogió saliva no estimulada mediante el método de recolección del goteo directo, durante 5 minutos. Se realizó estudiar la evolución de las variables cuantitativas en el antes y después de la realización de un examen, se utilizó la prueba T-Student de muestras relacionadas. Para estudiar la posible relación entre dos variables cuantitativas, y ya que todas se aproximaban a la distribución Normal, se usó la r de Pearson, con su significación estadística asociada. En todas las pruebas se considera un nivel de significación p menor de 0,05. La media del cortisol salival después del examen (3,40 ng/mL) es inferior a ésta antes del examen (5,73 ng/mL). Del estudio estadístico se desprende que existen diferencias significativas en el cortisol salival antes y después del examen, con una p de 0,001. La media de la alfa-amilasa salival después del examen (141,84 U/mL) es inferior a ésta antes del examen (144,22 U/mL). El estudio estadístico no demostró diferencias estadísticamente significativas al comparar los resultados antes y después del examen, observándose una p de 0,905. Se concluyó que existe una correlación positiva en la tensión arterial, la frecuencia cardíaca, y los niveles de cortisol, y alfa amilasa con el estrés autopercebido antes de la prueba evaluatoria.

Vineeta R. y col. (2014)³ Evaluaron la utilidad de la actividad de la alfa amilasa salival como indicador de estrés crónico. El estudio se realizó seleccionando 100 pacientes de los departamentos de Psicología Clínica y Medicina Oral y Radiológica. Los sujetos fueron divididos en dos grupos: uno de 50 sujetos diagnosticados con estrés psicosocial crónico después de una detallada evaluación objetiva y subjetiva por expertos (grupo de estudio), y otro de 50 sujetos seleccionados de entre la gente que acude al departamento dental para chequeo de rutina, los cuales no presentaban signos de estrés según evaluación psicométrica (grupo control). Se excluyeron a sujetos menores de 18 años, fumadores, embarazadas, con tratamiento medicamentoso, con desórdenes alimenticios (Anorexia, bulimia) u otras enfermedades. Se recolectó aproximadamente 1 ml de saliva no estimulada de cada sujeto, depositada en pequeños contenedores de plástico estériles y llevados de inmediato al Departamento de Bioquímica para la estimación de los niveles de alfa amilasa salival mediante el uso del analizador automático Hitachi 912, usando sustratos sintéticos. Las comparaciones de los valores de alfa amilasa salival entre los diferentes grupos fueron hechas usando la prueba estadística no paramétrica Mann-Whitney U, comparando sus medianas. Se considero el nivel de significancia p menor o igual a 0.05. Los niveles de alfa amilasa salival fueron altos en el grupo de estudio. Hubo diferencia significativa ($p=0.002$). Se concluyo que la actividad de alfa amilasa salival se incrementa en pacientes con estrés psicosocial crónica y puede ser usado como biomarcador del estrés crónico.

Nater Urs Markus y col. (2009)⁴ Evaluaron la relación entre la alfa amilasa salival y parámetros adrenérgicos (ej. Catecolaminas), así como con otros marcadores de estrés (ej. Cortisol y parámetros cardiovasculares). Participaron en el estudio 30 sujetos de sexo masculino, dentro del rango de 19 a 28 años, seleccionados aleatoriamente. Se excluyo a sujetos fumadores, a los que tomaban algún tipo de medicamento y a los que padecieran de algún desorden crónico somático o psicológico. Se les aplico un test de estrés psicosocial (TSST), el cual consiste en una tarea aritmética mental y un discurso libre en

frente de una audiencia, y una condición de control (descanso). La alfa amilasa salival, cortisol salival, así como las catecolaminas plasmáticas y la actividad cardiovascular fueron medidos repetidas veces antes, durante y después de ambas condiciones. La alfa amilasa y cortisol salival fueron recolectadas por medio de saliva estimulada depositada en tubos plásticos, almacenadas a -20° C y procesadas en el analizador automático Cobas Mira, usando kits enzimáticos de laboratorios Roche. Las catecolaminas fueron obtenidas en muestras de sangre y determinadas por medios electroquímicos. La evaluación de cambios autonómicos fue realizada mediante medidas de frecuencia cardiaca durante todo el tiempo del estudio. Se encontró diferencias significativas entre las condiciones de estrés y descanso en alfa amilasa salival, cortisol salival, catecolaminas plasmáticas y parámetros cardiovasculares. Se concluye que los cambios en la alfa amilasa salival reflejan cambios autonómicos, de este modo es parte de una respuesta al estrés psicobiológico general, la cual la hace una muy interesante variable que puede ser fácilmente obtenida.

Thoma MV y cols. (2012)⁵ Estudiaron la asociación entre la actividad de la alfa amilasa salival y la concentración de norepinefrina plasmática, como marcador de la actividad del sistema nervioso simpático. El objetivo del estudio fue examinar la relación entre la actividad de la alfa amilasa salival por stress inducido y la concentración de norepinefrina plasmática. Participaron en el estudio 66 sujetos sanos (promedio de edad de 24 años), que incluía a 40 mujeres y 26 hombres, de entre los cuales 18 mujeres seguían un régimen anticonceptivo oral y 15 sujetos eran fumadores habituales. Los sujetos fueron sometidos al Test de Stress Psicosocial (TSST). Se tomaron muestras de saliva y de sangre en 4 tiempos durante todo el experimento para su posterior análisis. Como se esperaba, la alfa amilasa salival y la norepinefrina mostraron incremento significativo en respuesta a la inducción de estrés agudo ($p < 0.001$). Análisis de regresión (controlando edad, sexo, fumadores y régimen anticonceptivo) revelaron que las respuestas al estrés en la alfa amilasa salival predijeron significativamente la respuesta al estrés en la

norepinefrina plasmática ($r=0.326$; $p=0.025$). Se encontraron altos niveles de alfa amilasa salival en los fumadores habituales ($F=4.27$; $P=0.043$). En conclusión, los datos obtenidos muestran claramente una asociación entre las respuestas al estrés en alfa amilasa salival y norepinefrina plasmática.

O'Leary E. y col. (2015)⁶ Examinaron la respuesta de la alfa amilasa salival seguida de un periodo de restricción aguda de sueño verificado en comparación de una condición reposada. En adición se examinó la sensibilidad de la respuesta de la alfa amilasa salival seguido de un protocolo de stress de laboratorio que expone a los participantes a evaluación social negativa presentada por transmisión de video. Participaron 108 adultos jóvenes saludables (17-22 años, $M=18.39$ años). Se excluyo a los que usaron salbutamol para tratamiento de broncoespasmo. Los participantes se agruparon aleatoriamente en dos grupos (restricción de sueño y descanso normal), los cuales descansarían bien o no durante 7 noches. Luego completaron tareas de estrés social, que consistía en resolver operaciones aritméticas mentales, combinado con evaluación de su desarrollo por medio de transmisión de video para generar estrés social negativo. Fueron recolectadas muestras de saliva no estimulada antes y después del experimento. La actividad enzimática de la alfa amilasa salival fue evaluada mediante el uso de un kit de reacción cinética (Salimetrics), la cual es directamente proporcional al incremento de la absorbancia a 405nm. Se observó un marcado incremento de la actividad de alfa amilasa salival en respuesta al estresor social negativo en ambos grupos. Además, los participantes con sueño restringido exhibieron un incremento significativo en el nivel basal de la actividad de alfa amilasa salival.

Rohleder N. y col. (2009)⁷ Estudiaron la influencia de los cambios del flujo salival en la secreción de alfa amilasa salival por stress inducido. Participaron del estudio 26 sujetos sanos de sexo masculino. Los criterios de exclusión fueron enfermedades crónicas (psiquiátricas, endocrinas, cardiovasculares, etc.), medicación con drogas psicoactivas,

betabloqueantes o glucocorticoides, edad <20 ó >35 años. Los sujetos fueron sometidos a las condiciones de test de stress psicosocial (TSST) y de control. La saliva fue recolectada en las condiciones estimulada y no estimulada. Fueron medidos el flujo salival, niveles y secreción de alfa amilasa salival, cortisol salival y ritmo cardiaco. Se observó que el flujo salival se incrementó solo cuando la saliva fue recolectada de manera no estimulada. Los incrementos de los niveles de alfa amilasa salival por estrés inducido resultaron correlacionados con los incrementos de la secreción de amilasa, pero no del flujo salival. Los resultados sugieren que se pueden obtener medidas válidas de alfa amilasa salival sin la necesidad de evaluar el flujo salival.

Chourasia A. y col. (2016)⁸ Evaluaron la correlación entre el nivel de estrés y la actividad de la alfa amilasa salival. Participaron en el estudio 81 estudiantes de Ph.D. (26), M.phil.(25) y M.Sc. (30). Los niveles de alfa amilasa salival promedio encontrados fueron de 83.96 U/ml, 102.66 U/ml y 90.86 U/ml para Ph.D., M.Phil y M.Sc. respectivamente. Mientras que el promedio de estrés subjetivo medido mediante test fue de 75.96, 72.88 y 80.03 para Ph.D., M.Phil y M.Sc. respectivamente. Sin embargo, las herramientas estadísticas no detectaron diferencia significativa en el puntaje de estrés. La comparación de la actividad enzimática de la alfa amilasa salival entre los estudiantes revelaron que el nivel de la actividad enzimática de alfa amilasa salival de los estudiantes de M.Phil es significativamente más alta que la de los otros dos grupos, que puede ser atribuible a su alto nivel de estrés. Además, los análisis de datos también revelaron una alta correlación positiva entre la puntuación de estrés y la actividad de alfa amilasa salival lo que sugiere que ésta es un marcador bioquímico importante para la estimación del estrés.

3.2. BASES TEÓRICAS

3.2.1. Alfa amilasa salival (AAS)

La AAS pertenece a la familia de glucósidos hidrolasa, que es una importante familia de proteínas que se caracteriza por la capacidad de catalizar la hidrólisis de enlaces alfa-1,4-glucosídicos. La evidencia indica que la alfa-amilasa salival es un primer paso vital en el proceso de digestión en humanos debido a su capacidad de unirse y descomponer el almidón y otros polisacáridos.⁹

La AAS es también una proteína de unión al calcio, que requiere que se una un ion de calcio para hacer que la proteína funcione. Una función importante de la AAS es que, en ausencia de alfa-amilasa pancreática humana, que es la enzima primaria para la digestión del almidón, la AAS puede representar una posible vía alternativa compensatoria para la digestión de amilosa, amilopectina y glucógeno. Esto se vuelve especialmente vital en enfermedades como la pancreatitis crónica y la fibrosis quística, y también durante los primeros seis meses de la vida de un bebé, en los que el nivel de alfa-amilasa pancreática es muy bajo o inexistente. En casos como este, AAS es crítica no solo para la descomposición del almidón sino también para el mantenimiento de la salud bucal. La AAS es la enzima más abundante en la saliva humana, muy probablemente porque tiene al menos tres funciones distintas: actividad hidrolítica al descomponer el almidón, unir bacterias orales y unirse a la hidroxiapatita de los dientes, que juega un papel en la formación de placa en los dientes.^{8,9}

En general, las amilasas son proteínas con múltiples dominios que muestran baja identidad global en las secuencias. El motivo común en ellas es el segmento de ocho hélices (β/α), que es el que contiene el sitio activo (o núcleo catalítico). La AAS está presente tanto en las secreciones pancreáticas como en la salival, sus secuencias promedio son altamente homólogas y con alto grado de similitud estructural. La homología entre las dos es del 97 % y son producidas por dos genes muy cercanos: el

AMY1 y el AMY2. La AAS es el producto de tres genes AMY1A, AMY1B y AMY1C, los cuales codifican para tres secuencias proteicas idénticas, pero muestran variaciones interindividuales en el número de copias y, por lo tanto, en la expresión de la proteína.⁷

Existen ciertas diferencias entre la amilasa encontrada en la saliva y la que se encuentra en las secreciones pancreáticas. Por ejemplo, la amilasa salival está controlada por el locus AMY1 del cromosoma mientras que la amilasa pancreática está controlada por el locus AMY2. También se pueden separar mediante cromatografía de intercambio iónico o electroforesis en gel de poliacrilamida, lo que indica otras diferencias estructurales y de composición significativas entre las dos proteínas. Además, la AAS es inhibida por semilla de trigo (*Triticum aestivum*), un inhibidor de la alfa-amilasa tipo II, y se reveló que la inhibición era lenta y de unión firme. Algunos de los residuos más importantes en la molécula de AAS son los residuos de histidina (His-201) y triptófano (Trp-58 y Trp-59) en el sitio activo. Estos residuos pueden jugar un papel en la diferenciación entre los extremos de glicina y glicona de los sustratos de polisacáridos. Dado que la digestión del almidón es una de las funciones más importantes de la alfa-amilasa salival, estos residuos son esenciales para la función y la importancia de la proteína.¹⁶

El nombre químico de la AAS es α -1,4-D-glucano glucanohidrolasa y en su clasificación numérica para las enzimas le corresponde el código EC 3.2.1.1, lo que la clasifica dentro del grupo de las enzimas como una hidrolasa. Se compone de 496 aminoácidos y se encuentra principalmente en dos isoformas, una glucosilada con peso molecular de 62 kDa (kilodaltons) y otra isoforma no glucosilada con peso molecular de 56 kDa.¹⁴

La alfa-amilasa salival es una enzima que se pliega en tres dominios distintos, A, B y C. Está glicosilada y también se une a un ion de calcio y un ion cloruro para funcionar correctamente. Se considera una hidrolasa y 444 moléculas de agua se encuentran típicamente coordinadas con la molécula en su estado natural. El dominio A se encuentra en los residuos 1-99 y 169-404. Este es el dominio central de la proteína y exhibe una

estructura de barril. El sitio de unión catalítica para polisacáridos se encuentra en el dominio A con los residuos catalíticos Asp-197, Glu-233 y Asp-300. Estos residuos se agrupan uno al lado del otro en la hendidura de unión. Asp-197 también lleva una carga formal. También hay de siete a nueve residuos aromáticos, incluidos Trp-58 y Trp-59, que podrían existir en la hendidura para la unión a la glucosa. La cadena lateral de Trp-59 se encuentra en una conformación localizada cuando la proteína no está ligada, pero cuando se une un ligando, Trp-59 experimenta un cambio conformacional, un enlace de hidrógeno con el último residuo de glucosa del sacárido unido. La hendidura de unión al sustrato en alfa-amilasa salival puede diferenciar entre los extremos reductores y no reductores de los sustratos debido a los residuos Trp-58 y Trp-59, que entran en interacciones hidrófobas y de apilamiento con el extremo reductor del sustrato. Además, el extremo N de la amilasa salival se encuentra en el dominio A, y los residuos ácidos en este extremo adoptan una conformación plana que permite que la proteína se una a la hidroxiapatita. El dominio A también es donde se une el ion cloruro, que es necesario para neutralizar los residuos básicos en la hendidura de unión del sustrato. Una de las partes más importantes de la proteína es la región de bucle flexible de los residuos 304 a 310, que es esencial para la hidrólisis de sacáridos. Una gran cantidad de residuos de glicina están presentes en esta área, lo que aumenta la flexibilidad del bucle. Cuando se une un sustrato, el ciclo se vuelve más ordenado y adopta una conformación cerrada. Cuando el producto se crea y está listo para ser lanzado, el ciclo se vuelve más flexible y adopta la conformación abierta.^{16,10}

El dominio B se encuentra desde los residuos 100 a 168 y existe como un bucle sobresaliente que se extiende desde el dominio A. Es una mezcla de estructuras helicoidales y extendidas, y contiene el ion de calcio que es esencial para que funcione la alfa-amilasa salival. El ion de calcio se une a Asn-100, Arg-158, Asp-167 e His-201. El ion calcio hace que el dominio B sea parcialmente rígido, lo que se ve reforzado por dos puentes disulfuro y un enlace disulfuro entre dominios. Esto ancla el dominio B cerca de

la hendidura de unión al sustrato, lo que proporciona un entorno asimétrico en la hendidura, de modo que el sustrato se une en la orientación adecuada de los extremos reductores y no reductores.

El dominio C es el dominio C-terminal y se compone de 92 aminoácidos. Se compone de diez cadenas beta, ocho de las cuales están en la formación de barril de clave griega y dos de ellas en bucles. Este dominio está más alejado del sitio activo. En la interfaz de los dominios A y C hay una región alta en moléculas hidrófobas y grupos de interacciones aromático-aromáticas que se producen en esta área intercaladas con residuos de metionina. El dominio C contiene Ser-414, un sitio para posible N-glicosilación. La alfa-amilasa salival existe en un estado glicosilado, pero la amilasa pancreática humana no. El mismo gen no produce ambas amilasas, y, además, es posible que la aparición de proteínas glicosiladas sea resultado de la competencia entre el plegamiento de proteínas y los eventos de glucosilación.¹⁶

La AAS constituye entre el 10 % y el 20 % del total de las proteínas de la saliva, es sintetizada y secretada por las glándulas del paladar y por células acinares que forman más del 80 % de las células en las glándulas salivares mayores (parótida, submaxilar y sublingual), y de estas son las parótidas las que la sintetizan en mayor proporción. En la saliva comienza la digestión de los alimentos, especialmente de los almidones ingeridos, gracias a la actividad enzimática de esta proteína. Dicha actividad es más eficiente cuando el bolo alimenticio se mezcla, por los movimientos de la lengua, con la AAS, por lo que puede causar una disminución en la percepción del grosor y en la viscosidad de los alimentos. La AAS, aunque en menor concentración, también hace parte de otros fluidos corporales, como el plasma sanguíneo, las secreciones bronquiales y las lágrimas.⁵

3.2.1.1 Funciones de la alfa amilasa salival

Como la mayoría de las proteínas de la saliva, en el medio oral la AAS posee múltiples funciones, organizadas en tres categorías biológicas: primero, la función enzimática o la actividad hidrolítica, responsable de la degradación de los almidones en oligosacáridos, la digestión del glucógeno y otros polisacáridos (por la hidrólisis de los enlaces glucosídicos α -1,4 de los oligosacáridos, que liberan glucosa al medio ambiente oral).⁵

Segundo, la unión a la superficie del esmalte o a la hidroxiapatita. Existe suficiente evidencia que indica que la α -amilasa se une al esmalte del diente o a la hidroxiapatita cuando se hacen pruebas in vitro. Se une al diente y forma parte constitutiva de la película adquirida al esmalte (PA). Análisis inmunológicos y bioquímicos han mostrado que la AAHS es un componente esencial de la PA. La PA está formada por la adherencia de los componentes salivales al esmalte y es una biopelícula adsorbida sobre la superficie del diente libre de bacterias y de sus fragmentos proteolíticos, que se establece de manera natural y espontánea dos horas después de haber limpiado los dientes. La AAS hace parte de esta película y, por medio de estudios de microscopía de transmisión electrónica, se ha probado que se distribuye dentro de la PA al azar y que se encuentra en mayor cantidad entre los 30 y 60 min del inicio de su formación.

Tercero, la AAS desempeña un papel importante en la unión de las bacterias orales, ya que se une con alta afinidad a estreptococos orales, los primeros colonizadores de la placa dentobacteriana. Esta característica biológica tiene una doble importancia: en primer lugar, contribuye a la depuración o limpieza de algunos microorganismos, al unirse a esta proteína de forma soluble, ya que durante la deglución o el cepillado de los dientes estos microorganismos pueden eliminarse del ambiente oral, lo que es beneficioso en la inmunidad de las mucosas orales, ya que inhibe la adherencia y el crecimiento de las bacterias. En segundo lugar, como parte de la PA y, al estar unida al esmalte, también permite la unión de algunas bacterias y retiene entre el 50 % y el 60 % de su actividad

enzimática, lo cual hace que tenga un papel en la formación de la placa dentobacteriana que se inicia por la adhesión de las bacterias a los componentes salivales adsorbidos en la superficie del diente. Diferentes estudios desarrollados *in vitro* mostraron que la AASH, unida a la hidroxiapatita, promueve la adhesión de algunas bacterias como el *Streptococcus gordonii* (*S. gordonii*). El modelo experimental de la hidroxiapatita sintética cubierta con saliva ha sido ampliamente usado para el estudio de la adhesión de las bacterias a los componentes salivales y ha permitido identificar varios componentes salivales que actúan como receptores de microorganismos del género de los estreptococos. Dentro de estos, la AAS se ha identificado como un potencial receptor de estos microorganismos, que contribuye a la formación de la placa dentobacteriana, especialmente por la unión de estreptococos del grupo *viridans*.^{4,20}

3.2.1.2 Medición de la alfa amilasa salival como medio de diagnóstico

La presencia en la saliva de las sustancias propias del suero humano se da por la existencia de una capa de células epiteliales que separan los conductos salivales de la circulación sistémica y permite la transferencia de sustancias del suero a la saliva por diferentes mecanismos (transporte activo o difusión a través de la membrana celular o por transporte pasivo o la difusión a través de un gradiente de concentración), razón por la cual una muestra de saliva puede ser potencialmente usada para el diagnóstico de algunas enfermedades como cáncer oral y de mama, enfermedad periodontal, síndrome de Sjögren, entre otros. Las ventajas de usarla como medio de diagnóstico es que su muestreo es fácil y no invasivo, pero este potencial aún no ha sido totalmente aprovechado, por el poco desarrollo en las técnicas para la detección de los componentes que están en menor concentración. Sin embargo, se espera que, con el avance de la bioinformática, la genómica y la proteómica, la saliva se convierta cada vez más en una herramienta de estudio, debido a su capacidad de reflejar condiciones de salud oral y sistémica.^{11,13}

La gran variabilidad que tiene la concentración de las proteínas salivales se ha usado para caracterizar el estado de enfermedad de algunos individuos, y son conocidos como *biomarcadores*. Según el Instituto Nacional de Salud de los Estados Unidos, se le concede este término a un parámetro biológico medible de forma cuantitativa que sirve como un indicador de la salud y de evaluaciones fisiológicas relacionadas con procesos patogénicos, la exposición ambiental, el diagnóstico de una enfermedad o la respuesta a una terapia farmacológica o a una intervención terapéutica.¹⁴

La AAS, especialmente por su alta concentración, se ha usado como biomarcador. Su concentración es de $1080 \pm 135,6$ UI o de 476 ± 120 $\mu\text{g/ml}$ en adultos. Otras moléculas de la saliva solo se podrían cuantificar en el orden de los pg/ml , lo cual dificulta enormemente la estandarización de los métodos y técnicas de recolección y medición de estos compuestos.²

Por otro lado, se ha demostrado que la concentración de la AAS aumenta rápidamente durante el estrés agudo, ya que su liberación, como la de otros componentes salivales, está regulada por el sistema nervioso autónomo, en particular por los nervios simpáticos. Con base en algunos resultados encontrados desde 1979, en los que la AAS se incrementó en respuesta al ejercicio físico y a la correlación positiva significativa entre esta y las concentraciones plasmáticas de norepinefrina en respuesta al ejercicio físico, se ha sugerido el uso de la AAS como un marcador de la actividad del sistema nervioso simpático. Mediciones electrofisiológicas clásicas como la conductancia de la piel y el ritmo cardíaco, empleadas para la determinación de la actividad del sistema nervioso simpático han sido remplazadas con mediciones de la actividad de la AAS.¹⁶

También se han reportado aumentos en la concentración salival de esta proteína, cuando las personas se lanzan desde un paracaídas, cuando se someten a un juego de video estresante y cuando se enfrentan a una prueba académica. Los hallazgos en cuanto al aumento de la concentración de esta proteína en la saliva hicieron pensar que dicho

aumento estaba relacionado con el incremento del flujo salival total cuando las personas están sometidas a estrés psicosocial. No obstante, un estudio mostró que, efectivamente, la concentración de esta enzima aumenta con la exposición al estrés, sin que necesariamente por esta misma razón aumente el flujo salival; este trabajo abrió la puerta para que se incrementaran los estudios en los cuales la AAS fuera una herramienta importante para la investigación en la psicobiología del estrés.^{11,13}

3.2.2 Estrés

La palabra estrés deriva del griego *stringere* que significa provocar tensión. El estrés se produce cuando ocurre una alteración en este funcionamiento normal por la acción de algún agente externo o interno. El organismo en estas circunstancias reacciona de forma extraordinaria, realizando un esfuerzo para contrarrestar el desequilibrio y produce la sensación subjetiva de tensión (presión). Esto suele suponer, además, un incremento de las actividades de inhibición y, por tanto, un cambio en los estados emocionales.¹⁵

3.2.2.1 Factores bioquímicos del estrés

El eje hipotálamo-hipófiso-suprarrenal propicia la secreción de hormonas (cortisol) o activación del sistema simpático (adrenalina, noradrenalina), en un intento defensivo normal; pero el mundo moderno reduce o impide la descarga del exceso de energía sin definir claramente un final de la crisis, por lo que nuestro sistema neuroendocrino permanece hiperexcitado por períodos prolongados. El cortisol provoca que las células abandonen su normal trabajo de mantenimiento en beneficio de creación de energía que nos prepare para la primitiva "lucha o fuga" (lo que explica por qué una persona en situación de estrés se muestra intranquila y pasea o se mueve de un lugar a otro), energía extra que desencadena una aceleración del normal proceso de producción de radicales libres. El mismo cortisol, así como las catecolaminas, conducen a la formación

de leucotrienos y tromboxanos los que a su vez producen más radicales libres; más aún, las mismas catecolaminas se descomponen en radicales libres.^{15,17}

La hormona Acth siempre se ve en aumento en las personas estresadas. Actúa sobre la corteza suprarrenal produciendo cortisol (respuesta neuro endocrina). El hipotálamo, bajo un estímulo estresor, estimula la hipófisis comunicando el estímulo a puntos terminales. El sistema nervioso central lo proyecta al resto del organismo y codifica el estrés externo e interno, a esto se le llama Heterostasis. En la heterostasis, normalmente circula por la sangre una determinada cantidad de sustancias, por ejemplo, la glucosa, las cuales aumentan las consecuencias del estrés y llevan al medio interno a un nivel que pone en alerta a todo el organismo y resume el cambio fisiológico el cual pasa a ser fisiopatológico.

El organismo responde dentro de tres ejes fisiológicos:

Neural: Hay una activación inmediata del sistema nervioso simpático y del parasimpático que controlan la respiración, el ritmo cardiaco, la tensión muscular (toxicidad), los movimientos.

Neuroendocrino: Se activa lentamente y hace que se aumente la actividad de la médula, de las glándulas suprarrenales que liberan adrenalina, noradrenalina y catecolaminas; esto es muy importante, pues prepara al organismo para responder a cualquier amenaza externa ya sea luchando o huyendo.

Endocrino: Cuando la actividad es más aguda, más mantenida e intensa. Cuando no se puede superar el problema, este eje controla la liberación de glucocorticoides (glucosa y Corticoides), mineralcorticoides (especialmente magnesio), hormonas del crecimiento, timo (glándula del timo e hipófisis), tiroideas, vasopresina (eleva la presión) y cortisol (hormona productora de estrés).^{15,7}

3.2.2.2 Estrés frente a una prueba académica

Desde los grados preescolares hasta la educación universitaria de postgrado, cuando una persona está en un período de aprendizaje experimenta tensión. A ésta se le denomina estrés académico, y ocurre tanto en el estudio individual como en el aula escolar.

Entre los eventos presentes en la vida académica, quizá el que genera mayor estrés y preocupación a los estudiantes universitarios es la situación de examen. Los exámenes son programados de forma anticipada, versan sobre contenidos desarrollados en clase, se ejecutan bajo presión y el resultado no es inmediato. Sin embargo, aunque no es un evento sorpresivo, suscita reacciones emocionales desagradables antes, durante y después de rendirlo, denominadas de forma genérica como afrontamiento, que es definido como los esfuerzos del individuo para hacer frente a una situación estresante. De forma más esquemática, son 4 fases que resumen el afrontamiento a dicho evento: anticipatoria, confrontativa, de espera y de resultados, y en cada una se llevan a cabo estrategias de afrontamiento para menguar el impacto emocional de la situación.^{15,18}

Desde un plano temporal, la situación pre-examen puede ubicarse en la fase anticipatoria, en la que el estudiante se prepara y analiza la forma más eficaz de regular sus emociones frente a la evaluación. En esta etapa la incertidumbre tiende a ser alta, facilitando la aparición de emociones negativas, y como consecuencia de ello se podrían obtener resultados desfavorables en la evaluación. De ese modo, se ven obligados a desplegar respuestas de afrontamiento que los ayude a enrumbar un curso de acción adecuado.

En esta fase anticipatoria se desarrolla el afrontamiento pre-examen, y podrían implementarse estrategias diferenciadas: *Orientación a la tarea y preparación*, *Evitación* y *Búsqueda de apoyo social*. La primera hace referencia a enfrentar activamente la

inminente situación de examen mediante acciones directas; la segunda busca alejar de los pensamientos y dejar de realizar acciones relacionadas con estudiar, y la tercera busca apoyo instrumental y emocional, es decir, tanto pautas y consejos sobre cómo estudiar, como soporte emocional. Todas las estrategias están basadas en los planteamientos del afrontamiento al estrés vigentes hasta hoy.^{15,19}

3.3. HIPÓTESIS

H₁

- Existe una relación directa entre la actividad de alfa amilasa salival y el estrés ocasionado frente a una prueba académica.

H₀

- No existe una relación directa entre la actividad de alfa amilasa salival y el estrés ocasionado frente a una prueba académica.

3.4. OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

Variable	Definición	Dimensión	Indicador	Valor final	Escala
Actividad de alfa amilasa salival antes de la prueba académica	Cantidad de enzima que cataliza la conversión de 1 mmol de sustrato en un minuto	-	U/ml	Valor > 0	Razón
Actividad de alfa amilasa salival después de la prueba académica		-	U/ml	Valor > 0	Razón

IV. METODOLOGÍA

4.1. TIPO DE INVESTIGACIÓN

- Según el análisis y alcance de los resultados:

ANALÍTICO: Porque se analizó la relación entre el estrés ocasionado frente a una prueba académica y la actividad de la alfa amilasa salival.

- Según el periodo y secuencia del estudio:

LONGITUDINAL: Las variables han sido estudiadas en dos momentos determinados.

- Según el control de la asignación de los factores de estudio:

CUASIEXPERIMENTAL: El estudio de las variables se realizó en el mismo grupo de sujetos, evaluándose antes y después de la prueba académica.

- Según el inicio del estudio en relación con la cronología de los hechos:

PROSPECTIVO: El estudio se inició a partir de la causa y efecto de la variable.

4.2. POBLACIÓN Y MUESTRA

4.2.1. POBLACIÓN

Se determinó como población a los estudiantes matriculados en la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos en el año académico 2017.

4.2.2. MUESTRA

El tipo de muestra fue no probabilística, por conveniencia se seleccionó a 30 estudiantes matriculados en el curso de Bioquímica Aplicada en el periodo 2017-II (2do semestre).

4.2.3. CRITERIOS DE INCLUSIÓN

- Estudiantes matriculados en el curso Bioquímica Aplicada.

- Estudiantes que realizaran una prueba académica de Bioquímica Aplicada.
- Estudiantes que hayan firmado el Consentimiento Informado.

4.2.4. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- Estudiantes que padezcan de alguna enfermedad que pudiera influir en los resultados de las determinaciones de las variables del estudio: Hipertensión arterial, infección activa.
- Estudiantes que estén bajo tratamiento médico para la ansiedad.

4.3. PROCEDIMIENTO Y TÉCNICAS

Se recogió muestras de saliva no estimulada de los sujetos 4 horas antes de la prueba parcial teórica de Bioquímica y 7 días después del parcial.

La saliva se obtuvo por salivación espontánea previo enjuagado de la boca con agua potable a temperatura ambiente. Las muestras fueron centrifugadas a 5000 rpm por 5 minutos, para precipitar las células epiteliales provenientes de la mucosa oral y el sobrenadante fue recuperado para su posterior análisis.

La actividad de alfa amilasa salival se determinó mediante un ensayo de tipo cinético de la marca comercial Wiener lab. Este se basa en la hidrólisis del sustrato 2-cloro-p-nitrofenil- α -D-maltriosido por la alfa amilasa presente en la muestra para producir 2-cloro-p-nitrofenol el cual se determina espectrofotométricamente a 405 nm.

En un tubo de ensayo mantenido a 37°C en baño maría se colocó 2 ml de reactivo A (solución que contiene 2-cloro-p-nitrofenil- α -D-maltriosido 2.25 mmol/L, cloruro de calcio 5 mmol/L, cloruro de sodio 70 mmol/L, tiocianato de potasio 900 mmol/L y buffer ácido 2-morfolino etano sulfónico pH 6 100 mmol/L), luego se preincubó por 3 minutos y posteriormente se agregó 50 μ l de muestra de saliva. Se mezcló

inmediatamente y se realizó la lectura de absorbancia a 405 nm luego de 1 y 2 minutos. Se determinó la diferencia entre la segunda y primera lectura. Se utilizó el valor obtenido para calcular la actividad de alfa amilasa mediante la siguiente relación:

$$\text{Amilasa (U/l)} = \Delta\text{Absorbancia/min} \times 3.178^*$$

*factor calculado por el fabricante del kit.

4.4. PROCESAMIENTO DE DATOS

La recolección de datos se realizó mediante el llenado de una ficha en el cual se registró la actividad de alfa amilasa salival de los sujetos; para lo cual se hizo uso del programa Microsoft Excel 2016.

4.5. ANÁLISIS DE RESULTADO

Los datos recolectados fueron procesados en un ordenador Intel Core i7- 2670QM con el programa SSPS (Versión 24) y evaluados con estadística descriptiva: medidas de tendencia central (máximo, mínimo, media, desviación estándar).

La prueba T- Student para muestras relacionadas fue utilizada para comparar las medias en un mismo grupo (antes y después).

Los resultados hallados se colocaron en tablas para ser interpretados.

V. RESULTADOS

5.1 Resultado de la actividad de alfa amilasa salival antes de la prueba académica

La tabla 1 presenta que, antes de la prueba académica, el valor mínimo de la actividad de alfa amilasa salival obtenido de la muestra fue 118 U/ml, un valor máximo de 395 U/ml y un promedio de 224,93 U/ml.

n	Máximo	Mínimo	Media	Desviación estándar
30	395	118	224,93	66,554

Tabla 1. Resultado de la actividad de alfa amilasa salival en los estudiantes antes de rendir la prueba académica. Lima, 2017

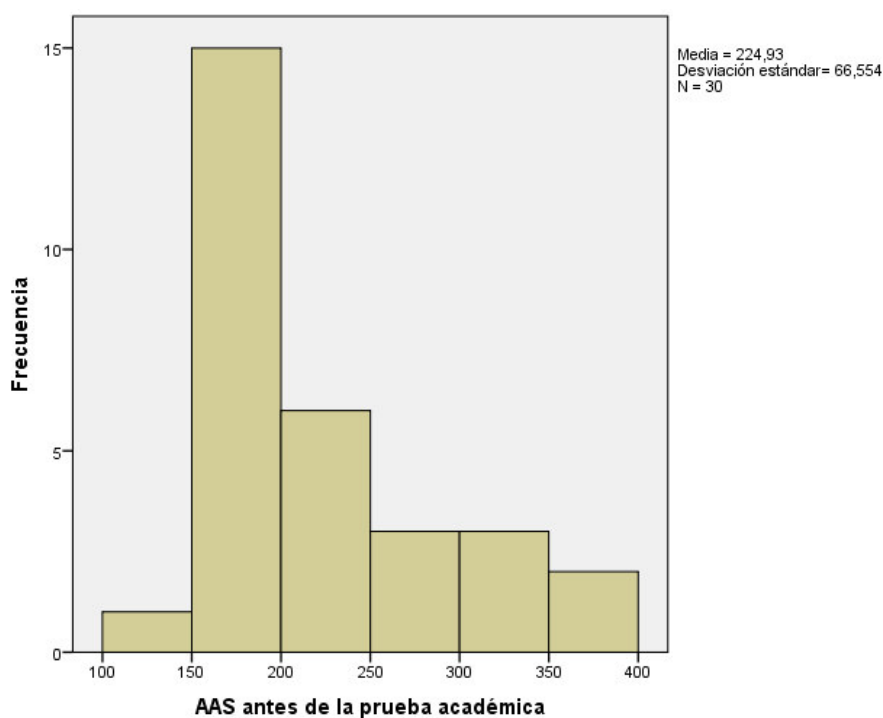


Gráfico 1. Distribución de la actividad de alfa amilasa antes de la prueba académica según frecuencia. Lima, 2017

5.2 Resultado de la actividad de alfa amilasa salival después de la prueba académica

La tabla 2 presenta que, después de la prueba académica, el valor mínimo de la actividad de alfa amilasa salival obtenido de la muestra fue 31 U/ml, un valor máximo de 158 U/ml y un promedio de 94,9 U/ml.

n	Máximo	Mínimo	Media	Desviación estándar
30	158	31	94,9	34,459

Tabla 2. Resultado de la actividad de alfa amilasa salival en los estudiantes después de rendir la prueba académica. Lima, 2017

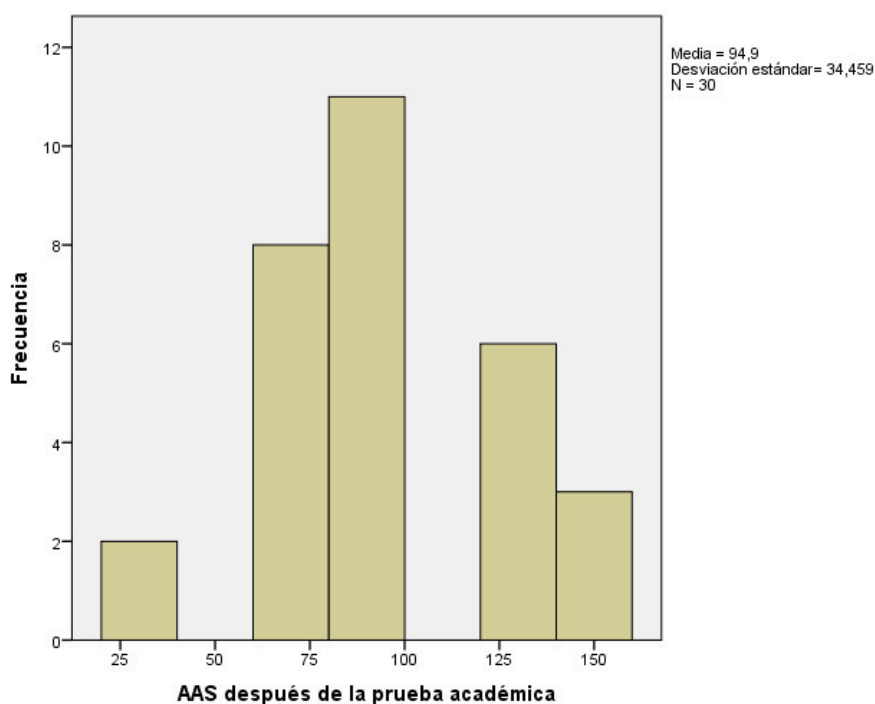


Gráfico 2. Distribución de la actividad de alfa amilasa después de la prueba académica según frecuencia. Lima, 2017

5.3 Resultado de la correlación entre la actividad de alfa salival antes y después de la prueba académica.

Al evaluar el efecto del estrés ocasionado por la prueba académica en la actividad de alfa amilasa salival, se encontró una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$) entre los tiempos de aplicación de la prueba.

t	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias
.491	0.00	130,033

Tabla 3. Prueba T-student para muestras relacionadas de actividad de alfa amilasa salival antes y después de la prueba académica. Lima, 2017

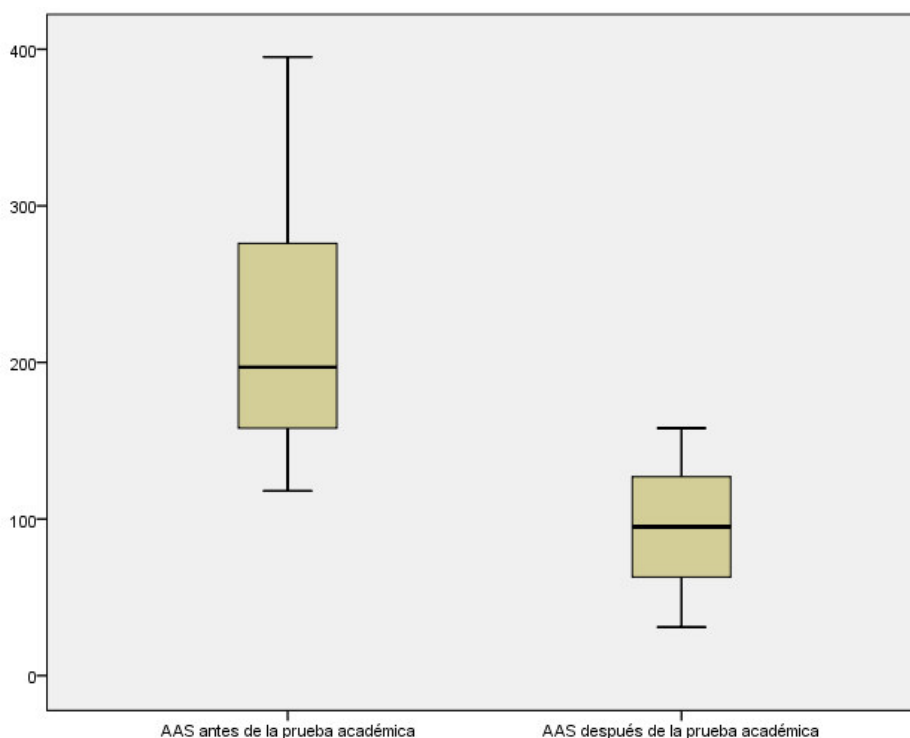


Gráfico 3. Valores de la actividad de alfa amilasa salival antes y después de la prueba académica aplicada en los estudiantes. Lima, 2017

VI. DISCUSIÓN

Las personas en aparente buen estado de salud general pueden manifestar cambios en distintos biomarcadores frente a situaciones de estrés. En el presente estudio se trabajó con la actividad de alfa amilasa salival, el cual fue medido antes y después de la aplicación de una prueba académica que fue usada como factor estresante con el fin de observar el efecto que éste produce en la actividad de la mencionada enzima.

Para la comunidad universitaria, el conocimiento de estos cambios es necesario para intentar reducir los posibles efectos negativos en los resultados académicos y en la salud del estudiante.

En este estudio se encontró diferencia significativa con respecto a la actividad de alfa amilasa salival antes y después de la realización de una prueba académica por parte de los estudiantes.

El aumento de la actividad de la alfa amilasa salival se debe a la estimulación continua del sistema nervioso simpático que es un mecanismo adaptativo ante una situación estresante, en el cual se produce la liberación de catecolaminas que conllevan a diversos efectos, uno de ellos es el aumento de la concentración de la mencionada enzima que producen las glándulas salivales.

Nater y col. encontraron diferencias estadísticamente significativas en relación con la actividad de alfa amilasa salival en condiciones de estrés y de reposo. Por lo que se reafirma el resultado encontrado en el presente estudio.

O'Leary y col. encontraron un marcado incremento de la actividad de alfa amilasa salival en sujetos expuestos a un estresor psicosocial, además también se observó un significativo aumento de su actividad enzimática basal en sujetos con restricción del sueño. Estas observaciones sugieren que existe una relación directamente

proporcional entre el número de estresores y la actividad de la alfa amilasa salival, lo cual se puede ver reflejado en los diferentes valores numéricos que toma la actividad enzimática en cada individuo de la muestra del presente estudio.

Martín Carreras-Presas y col. no encontraron diferencias estadísticamente significativas al comparar los resultados de la actividad de alfa amilasa salival antes y después de un examen académico. Sin embargo, la toma de muestras tuvo una diferencia de 2 horas una de la otra, y en nuestro estudio fue de 7 días, lo que supondría un periodo mayor de reposo para que la concentración de la enzima alcance su valor basal.

Medina-Martel y col. tampoco encontraron que los valores de la actividad de alfa amilasa salival antes y después de un examen escrito fueran estadísticamente diferentes entre sí. Este resultado podría deberse a que la muestra fue conformada por estudiantes de 4to y 8vo semestre, los cuales tendrían mayor prosecución y experiencia a la alta frecuencia de exposición a los estresores académicos, frente a los estudiantes de 2do semestre que conformaron la muestra del presente estudio.

VII. CONCLUSIONES

- Existe una variación significativa de la actividad de alfa amilasa salival frente al estrés ocasionado por una prueba académica.
- Al comparar los valores de la actividad de alfa amilasa salival en ambos tiempos, se observa que ésta es mayor antes de la prueba académica.
- Al comparar los valores de la actividad de alfa amilasa salival en ambos tiempos, se observa que ésta es menor después de la prueba académica.
- La actividad de alfa amilasa salival varía entre individuo e individuo.
- Los valores promedio de la actividad de alfa amilasa salival antes y después de la prueba académica son de 224,93 U/ml y 94,9 U/ml respectivamente de los estudiantes.

VIII. RECOMENDACIONES

- Realizar más estudios acerca de la relación entre la actividad de alfa amilasa salival y el estrés académico, usando una muestra de mayor tamaño que pueda ser representativa de la población.
- Realizar estudios longitudinales de mayor duración para valorar si la actividad de alfa amilasa salival al principio del semestre, antes de iniciar cualquier tipo de evaluación, sería un mejor reflejo de la condición basal de los estudiantes, en vista de la posibilidad de que sea alterada por estrés crónico.
- Realizar estudios que permitan observar el efecto de otros tipos de estrés en la actividad de alfa amilasa salival medida en distintas poblaciones.
- Realizar estudios que permitan observar el efecto del estrés en distintos biomarcadores, como, por ejemplo: cortisol, inmunoglobulinas, etc.

IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Medina-Martel y col. Evaluación de estrés académico, cortisol sérico y actividad de alfa amilasa saliva en estudiantes de bioanálisis de la UCV. Acta Científica de la Sociedad Venezolana de Bioanalistas Especialistas. 2014; Vol 17(2): 66-74
2. Martín Carreras-Presas, Carmen; Somacarrera Pérez, María Luisa; Díaz Rodríguez, Milagros. Nivel de estrés autopercebido, alteración de biomarcadores salivales y respuesta cardiovascular ante la realización de una prueba académica. X Jornadas Internacionales de Innovación Universitaria, Villaviciosa de Odón, 11-12 de julio, 2013.
3. Vineetha R, Pai KM, Vengal M, Gopalakrishna K, Narayanakurup D. Usefulness of salivary alpha amylase as a biomarker of chronic stress and stress related oral mucosal changes - a pilot study. J Clin Exp Dent 2014;6(2):132-137
4. Nater UM, Rohleder N. Salivary alpha-amylase as a noninvasive biomarker for the sympathetic nervous system. Psychoneuroendocrinology 2009; 34:486-496.
5. Thoma V, Kirschbaum C, Wolf J, Rohleder N. Acute stress responses in salivary alpha-amylase predict increases of plasma norepinephrine. Biol Psychology 2012; 91:342-348.
6. O'Leary, É. D., Howard, S., Hughes, B. M., & James, J. E. Salivary α -amylase reactivity to laboratory social stress with and without acute sleep restriction. Journal of Psychophysiology, 2015; 29(2), 55-63.
7. Nicolas Rohleder, Urs M. Nater. Determinants of salivary α -amylase in humans and methodological considerations. Psychoneuroendocrinology. 2009; 34(4):469-485.

8. A. Chourasia, N. Sinha and R. K. Pradhan. A study on salivary α -amylase activity as a marker of stress. *Biochemical and Cellular Archives*. 2016, 16(2):373-377.
9. Koh D, Ng V, Lin A. Alpha amylase as a salivary biomarker of acute stress of venepuncture from periodic medical examinations. *Front Public Health* 2014;2(121):1-5.
10. Engert V, Vogel S, Efanov S, Duchesne A, Corbo V, Ali C, Pruessner J. Investigation into the cross-correlation of salivary cortisol and alpha-amylase response to psychological stress. *Psychoneuroendocrinology* 2011;36(9):1294-1302.
11. Bosch JA, Veerman ECI, de Geus EJ, Proctor GB. α -Amylase as a reliable and convenient measure of sympathetic activity. *Psychoneuroendocrinology* 2011; 36:449-453.
12. Strahler J, Mueller A, Rosenloecher F, Kirschbaum C, Rohleder N. Salivary α -amylase stress reactivity across different age groups. *Psychophysiology* 2010;47(1):587-595.
13. Spielmann N, Wong DT. Saliva: diagnostics and therapeutic perspectives. *Oral Dis*. 2011 May; 17(4): 345-54.
14. O'Donnell, K., Kammerer, M., O'Reilly, R., Taylor, A., & Glover, V. Salivary alpha-amylase stability, diurnal profile and lack of response to the cold hand test in young women. *Stress*. 2009; 12(6), 549-554
15. Labrador C. Estrés académico en estudiantes de la facultad de Farmacia y Bioanálisis. Tesis Doctoral. Mérida-Venezuela, Universidad de los Andes. 2012;76- 121.

16. Peng Y, Chen X, Sato T, Rankin SA, Tsuji RF, Ge Y. Purification and high-resolution top-down mass spectrometric characterization of human salivary α -amylase. *Anal Chem.* 2012; 84(7):3339-46
17. Trueba AF, Mizrachi D, Auchus RJ, Vogel PD, Ritz T. Effects of psychosocial stress on the pattern of salivary protein release. *Physiol Behav.* 2012; 105(3): 841-9
18. Ishitobi Y, Akiyoshi J, Tanaka Y, Ando T, Okamoto S, Kanehisa M, Kohno K, Ninomiya T, Maruyama Y, Tsuru J, Kawano A, Hanada H, Isogawa K, Kodama K. Elevated salivary α -amylase and cortisol levels in unremitted and remitted depressed patients. *International journal of psychiatry in clinical practice.* 2010; 14: 268-273
19. Unno K, Tanida N, Ishii N, Yamamoto H, Iguchi K, Hoshino M, Takeda A, Ozawa H, Ohkubo T, Raj Juneja L & Yamada H. Anti-stress effect of theanine on students during pharmacy practice: Positive correlation among salivary α -amylase activity, trait anxiety and subjective stress. *Pharmacology, biochemistry, and behavior.* 2013; 111: 128-35
20. Bellagambi F, Degano I, Ghimenti S, Lomonaco T, Dini V, Romanelli M, Mastorci F, Gemignani A, Salvo P, Fuoco R, Di Francesco F. Determination of salivary α -amylase and cortisol in psoriatic subjects undergoing the Trier Social Stress Test. *Microchemical Journal.* 2017; 136: 177-184

X. ANEXOS

ANEXO N°1:



FICHA DE RECOLECCIÓN
UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA



Nombre:

Ficha N°

I. Datos generales

- Padece de alguna enfermedad actualmente:
SÍ, ¿Cuál? _____ No
- ¿Está tomando algún medicamento?
SÍ, ¿Cuál? _____ No

II. Análisis de saliva

➤ Antes del examen

<i>Absorbancia 1</i>	
<i>Absorbancia 2</i>	
Actividad de alfa amilasa salival	

➤ Después del examen

<i>Absorbancia 1</i>	
<i>Absorbancia 2</i>	
Actividad de alfa amilasa salival	

ANEXO N°2:



CONSENTIMIENTO INFORMADO
UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA



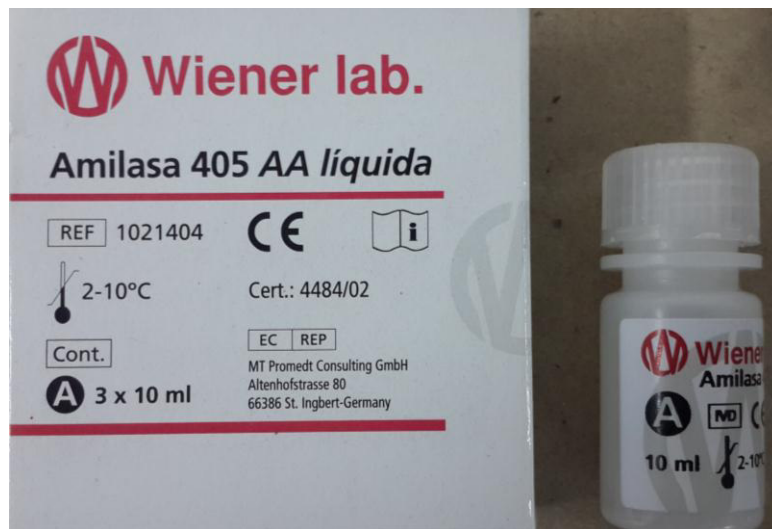
Yo _____
(nombre completo)

Estoy de acuerdo en participar del estudio titulado “*VARIACION DE LA ACTIVIDAD DE ALFA AMILASA SALIVAL EN RESPUESTA AL ESTRÉS OCASIONADO ANTE LA REALIZACION DE UNA PRUEBA ACADEMICA*”. El propósito y naturaleza del estudio me ha sido descrito por el investigador principal, Bach. Abraham Isaac Salomón Villa Romero.

Yo comprendo lo que se me solicita y también sé que puedo hacer las consultas que estime pertinentes. Sé que puedo contactarme con el investigador principal en cualquier momento sobre una duda o molestia generada. También comprendo que puedo suspender mi participación en cualquier momento.

Firma del participante: _____

ANEXO N°3: FOTOGRAFÍAS



Materiales usados



Recolección de muestra salival



Centrifugado de muestras



Incubación de las muestras en baño maría a 37° C



Lectura de absorbancia en espectrofotómetro a 405 nm