EVALUACIÓN DE ESTRÉS ACADÉMICO, CORTISOL SÉRICO Y ACTIVIDAD DE α-AMILASA SALIVAL EN ESTUDIANTES DE BIOANÁLISIS DE LA UCV

Matilde Medina-Martel [1], Engelbert Jiménez [2], Isis Bello [2], Fariel Casadiegos[3] , Marlene Briceño[3]
[1] Profesora de la Escuela de Bioanálisis, Facultad de Medicina, Universidad Central de Venezuela.
[2]Licenciados en Bioanálisis, Escuela de Bioanálisis. Facultad de Medicina, Universidad Central de Venezuela.
[3] Laboratorio Ambulatorio Docente Asistencial del Hospital Clínico Universitario.
Recibido para publicación el 2 noviembre 2014. Aprobado para publicación el 30 noviembre 2014.

RESUMEN:
Los estudiantes de la Escuela de Bioanálisis de la Universidad Central de Venezuela manifiestan con frecuencia que la carrera es muy estresante. Sin embargo, el estrés académico no ha sido estudiado en esta Escuela. El cortisol es considerado un biomarcador clásico de estrés y se ha reportado que la α-amilasa salival podría ser un buen marcador de estrés agudo en humanos, ya que su secreción salival se incrementa por estimulación simpática. *Objetivos*: evaluar estrés académico, cortisol sérico y α-amilasa salival en estudiantes de los semestres 4to y 8vo de esta Escuela. *Materiales y métodos*: se aplicó el Cuestionario de Evaluación de Estrés Académico (De Pablo y col, 2004) para evaluar la intensidad y frecuencia con la cual los estudiantes perciben 18 estresores académicos. Se determinó cortisol sérico y α-amilasa salival en muestras de sangre y de saliva respectivamente, recolectadas 4 (día A) o 6 días (día A+) antes de un parcial teórico, el día del parcial (día B) y 4 días posteriores al mismo (día C) entre las 7:00 y 8:00 a.m. *Resultados*: la intensidad de estrés académico fue similar entre ambos semestres aunque la frecuencia de exposición fue mayor en el 8vo semestre. 4to semestre: no se observaron cambios significativos en la concentración de cortisol sérico y actividad de α-amilasa salival entre los días evaluados. 8vo semestre: el cortisol disminuyó en el día C respecto a los días A y B, sin variaciones en la α-amilasa. *Conclusiones*: 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. En relación a la α-amilasa salival aún falta mucho por investigar respecto a la hora ideal para la toma de la muestra, así como al impacto del estrés crónico sobre su actividad y variaciones diurnas.

Palabras claves: Estrés académico, cortisol sérico, amilasa salival.

EVALUATION OF ACADEMIC STRESS, SERUM CORTISOL AND SALIVARY α-AMYLASE IN UCV BIOANALYSIS STUDENTS

SUMMARY
The students of Bioanalysis School from Universidad Central de Venezuela frequently express that this is a very stressful career. However, academic stress has not been properly studied in this School. Blood cortisol has been used as a classical stress biomarker and in recent years, it has been reported that salivary α-amylase activity could be a good acute stress marker in humans since the sympathetic stimulation increases its secretion by salivary glands, specially the parotid. *Objectives*: to evaluate academic stress, serum cortisol and salivary α-amylase in 4th and 8th semester students of this School. *Materials and Methods:* Academic Stress Evaluation Questionnaire (De Pablo et al, 2004) was employed to assess the intensity and frequency with which these students perceived 18 academic stressors. Serum cortisol and salivary α-amylase were quantitated in blood and saliva specimens collected 4 days (day A) or 6 days (day A+) before a written examination, the day of the exam (day B) and 4 days after the exam (day C) between 7:00 and 8:00 a.m. *Results:* academic stress was perceived with similar intensity by the students of both semesters, but 8th semester students showed higher frequency of exposition to stressors. 4th semester: serum cortisol and salivary α-amylase did not change among the evaluated days. 8th semester: cortisol diminished in day C respect to days A and B, without modifications in amylase activity among these days. *Conclusions:* the higher frequency of exposition to stress and the experience acquired during their longer continuing time in the career could be associated to a better adaptive response to examination period stress in 8th semester students. Salivary α-amylase must be further investigated to know the ideal time and methods to collect samples, as well as the impact of chronic stress on its activity and diurnal pattern of secretion.

Key words: Academic stress, serum cortisol, salivary amylase.

Introducción

La respuesta al estrés es considerada una ventaja evolutiva que permite a los seres vivos protegerse de situaciones potencialmente amenazantes o que pongan en riesgo sus vidas. Sin embargo, el estrés se ha convertido en los últimos años en un problema de salud pública, debido a la sobreexposición que experimentan los individuos de las sociedades modernas a situaciones estresantes (1, 2). El estrés prolongado o crónico ha sido asociado a la fisiopatogenia de una serie de enfermedades, las cuales representan causas importantes de morbi-mortalidad a nivel mundial. Es el caso de enfermedades psiquiátricas (3), metabólicas, cardiovasculares (4), inmunológicas, infecciosas (5) digestivas (6) y cáncer (7), entre otras.

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

Solicitar copia a: Matilde Medina-Martel (e-mail: linext2000@yahoo.com)

cultural, la edad, el sexo, los estresores a considerar, las diferencias interindividuales en la forma de percibir los estímulos estresantes (5, 8), así como la imposibilidad de mantener a los individuos expuestos a un único estresor. Es por ello que los resultados obtenidos por los investigadores que trabajan en esta área pueden llegar a ser tan diferentes (9). No obstante, existen varios paradigmas para el estudio del estrés en seres humanos. Uno de estos modelos es el de estrés académico (10, 11). 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 prosecusión de sus estudios (12).

En el caso particular de la Escuela de Bioanálisis de la UCV, los estudiantes manifiestan con frecuencia que la carga horaria y académica de la carrera es altamente estresante, lo cual podría estar asociado a bajo rendimiento y a trastornos de salud. A pesar de lo referido anteriormente, el estrés académico y su impacto sobre diversos biomarcadores de estrés no han sido apropiadamente estudiados en esta población estudiantil. El cortisol en sangre (sérico o plasmático) es uno de los biomarcadores clásicos empleados para evaluar la respuesta al estrés en humanos (13). Se ha señalado que sería mas conveniente medir cortisol salival como marcador de estrés (14) puesto que representa la fracción libre del cortisol plasmático y la obtención de saliva es mucho menos invasiva (15) que la obtención de sangre por punción venosa, la cual podría constituir un estresor *per se* para algunos individuos (16). No obstante, para el momento de la realización de este trabajo no se pudieron ubicar en nuestro país, proveedores de reactivos para la determinación de cortisol salival.

En trabajos publicados durante la última década, se ha reportado que la actividad de la enzima α-amilasa salival podría ser un buen marcador de estrés agudo (17, 18, 19), ya que la estimulación simpática de las glándulas salivales, principalmente las parótidas, aumenta la secreción de esta enzima hacia la saliva. Sin embargo, aún se encuentra en investigación y ha sido poco empleada en el estudio del estrés académico.

Por todo lo antes expuesto, los objetivos de este trabajo fueron: evaluar estrés académico a través de un cuestionario y determinar cortisol sérico y actividad de α-amilasa salival a estudiantes de los semestres 4to y 8vo de la Escuela de Bioanálisis de la UCV en muestras tomadas 4 días antes, el día de un parcial teórico y 4 días después del mismo, a fin de evidenciar posibles asociaciones entre estos parámetros.

Materiales y Métodos

Sujetos. La aplicación de un cuestionario a 23 estudiantes voluntarios de los semestres 9º y 10º de Bioanálisis nos permitió conocer que el 4to. y el 8vo. semestre son considerados el semestre menos (100%) y el más estresante (87%) de la carrera, respectivamente. Una vez conocida esta información se les dictó una charla informativa sobre los objetivos del trabajo a los estudiantes de 4to. y 8vo. semestre, solicitando su participación voluntaria en el mismo. *Criterios de Inclusión.* Estudiantes de 4to. y 8vo. semestre de la Escuela de Bioanálisis de la UCV, preferiblemente regulares, que expresaran su deseo voluntario de participar en el estudio y firmaran el Consentimiento informado. *Criterios de Exclusión.* Cualquier patología o tratamiento médico que pudiera alterar la respuesta al estrés, como esteroides, antidepresivos o ansiolíticos, padecimiento de infección activa o cirugía reciente, el uso de anticonceptivos orales (éste sólo para la determinación de cortisol total sérico) o cualquier enfermedad inflamatoria crónica de las encías.

Recolección de datos y cuestionario. Se obtuvieron datos demográficos como: sexo, edad, condición regular o repitiente y número de materias electivas inscritas y se aplicó el Cuestionario de Evaluación de Estrés Académico (CEEA) diseñado por De Pablo y col (20) y validado en estudiantes universitarios venezolanos por Feldman y col (21). Este fue respondido por 27 estudiantes voluntarios de cada uno de los semestres en estudio. El CEEA es autoaplicado y consta de 18 ítems o estresores académicos los cuales son valorados a través de una escala tipo Likert de 0 a 9, desde nada estresante hasta muy estresante, permitiendo de este modo medir la intensidad con la cual éstos son percibidos por los individuos. La pregunta: "últimas 4 semanas SI___ NO___", permitió evaluar la frecuencia de exposición a cada uno de los estresores en las últimas 4 semanas. Los estresores evaluados fueron los siguientes: 1. Preparar un examen inmediato, 2.- Efectuar un examen oral, 3.-Efectuar un examen escrito, 4.- Esperar los resultados de un examen, 5.- Suspender un examen, 6.- Ser preguntado en clase, 7.- Preparar un trabajo individualmente, 8.- Preparar un trabajo en grupo, 9.- Preguntar una duda al profesor en clase (en público), 10.- Preguntar una duda al profesor fuera de la clase (en privado), 11.- Hablar con un profesor sobre tus problemas académicos, 12.- Participar en un seminario (discusión de temas en grupos reducidos), 13.- Efectuar actividades de práctica, 14.- Exponer un tema en clase, 15.- Discutir problemas académicos, 16.- Entrar o salir del aula cuando la clase ya ha empezado, 17.- Excesiva

cantidad de materia para estudiar, 18.- Falta de tiempo para estudiar.

Obtención de muestras de sangre y de saliva

Las muestras se obtuvieron entre las 7:00 y 8:00 am con los sujetos en condición de ayuno, previa lectura y firma del Consentimiento Informado por cada uno de los participantes. Las muestras se tomaron 4 días antes de un segundo parcial teórico (día A), el día del parcial (día B) y 4 días después del parcial (día C). Un total de 14 estudiantes del 4to. semestre (divididos en dos grupos, 6 en el primero y 8 en el segundo) donaron muestras de sangre y de saliva. Por razones inherentes a su cronograma de actividades académicas y a cambios en las fechas de los exámenes parciales realizados a solicitud de los estudiantes, a los sujetos incluidos en el 2do. grupo de voluntarios del 4to. semestre, se les tomaron las primeras muestras 6 días antes del parcial (día A+). 22 estudiantes del 8vo. semestre fueron donantes voluntarios de muestras. En este semestre se cumplió cabalmente el esquema de toma de muestras planteado en el presente trabajo.

Se obtuvo sangre venosa sin anticoagulante por punción en fosa antecubital para la obtención de suero, el cual fue empleado en la determinación de cortisol sérico. Luego de la retracción del coágulo las muestras fueron centrifugadas durante 10 minutos a 2000 rpm a fin de separar el suero del paquete globular. Los sueros fueron congelados a -20 ºC hasta el momento de la determinación.

La saliva se obtuvo por salivación espontánea (22) previo enjuagado de la boca con 60 ml de agua potable a temperatura ambiente. Las muestras fueron centrifugadas para precipitar las células epiteliales provenientes de la mucosa oral y el sobrenadante fue recuperado y congelado a -20ºC.

Esta investigación contó con el Aval del Comité de Bioética de la Escuela de Bioanálisis de la UCV.

Determinación de cortisol sérico

El cortisol sérico fue determinado mediante un ELISA inmunofluorescente competitivo de la marca TOSOH según las instrucciones del fabricante, en un equipo TOSOH modelo aia 600ii previa calibración del equipo para la prueba y aceptación de los valores obtenidos para los sueros controles empleados, los cuales correspondieron a dos niveles de control: normal y alto.

Determinación de amilasa salival

La actividad de alfa-amilasa salival se determinó mediante un ensayo de tipo cinético de la marca comercial HELFA Diagnósticos. Este se basa en la hidrólisis directa del sustrato sintético 2-cloro,4-nitrofenil, α-maltotriósido por la amilasa presente en la muestra para producir 2-cloro,4-nitrofenol el cual se determina espectrofotométricamente a 405 nm. La medición se efectuó en un equipo Stat Fax Millenium III previa dilución 1:200 de las muestras con solución salina fisiológica (14). Estas fueron procesadas por duplicado, reportándose el valor promedio de ambas lecturas. Para los controles empleados, BioRad nivel 1 y 2, siempre se obtuvieron valores dentro del rango esperado establecido por el fabricante.

Estadística

Los resultados se presentan como porcentajes y media ± error estándar de la media. Las medias se compararon empleando el método estadístico t de Student del programa Excel de Microsoft y el coeficiente de correlación de Pearson fue calculado para evaluar las correlaciones estadísticas entre el cortisol y la amilasa a través del programa estadístico SPSS 22.0. Los valores de $p<0,05$ fueron considerados estadísticamente significativos.

Resultados

Características de la muestra en estudio

Los participantes que respondieron el CEEA fueron principalmente de sexo femenino, 92% en el 4to. semestre y 77,7% en el 8vo. semestre, con edades promedio de 21,07 ± 0,57 años en 4to. y 23,0 ± 0,15 años en 8vo semestre. La mayoría fueron estudiantes regulares, 81,4% en el 4to. semestre y 92,5% en el 8vo. Un porcentaje similar cursó 4 materias obligatorias: 74,1% en 4to. semestre y 70,4% en el 8vo. Sin embargo, un 81,4% de los estudiantes del 4to. semestre y sólo un 18,6% de los estudiantes del 8vo. semestre cursaron materias electivas.

Estrés Académico Autopercibido

El estrés académico autopercibido global fue similar entre ambos semestres, con un valor promedio de 5,42 ± 0,21 en el 4to semestre y 5,80 ± 0,14 en el 8vo, sin diferencias estadísticamente significativas entre ambos (Tabla 1). Estos valores se ubicaron en el rango de estrés moderado en la escala del 1 al 9, donde la valoración de 1 a 3 fue considerada como poco estresante, de 4 a 6, moderadamente estresante y de 7 a 9, muy estresante.

El estresor "efectuar un examen escrito" fue percibido con moderada intensidad y con elevada frecuencia por los estudiantes de 4to. y de 8vo. semestre. Esta concordancia en cuanto a intensidad y frecuencia fue conveniente al relacionar este estresor con los biomarcadores de estrés evaluados en este trabajo.

TABLA 1. Valores promedio de la intensidad de estrés académico autopercibido global de los semestres en estudio.

Estrés Académico Autopercibido global	
4to. Semestre (X ± EE)	8vo. Semestre (X ± EE)
5,42 ±0,21	5,80 ± 0,14

Los valores se presentan como la media ± error estándar de la media. n=27.

Cuando se evaluó la frecuencia de exposición a los estresores contemplados en el CEEA, se observó que un porcentaje igual o mayor al 80% de los estudiantes del 4to semestre estuvieron expuestos a 7 de los mismos en las últimas 4 semanas mientras que 80% o mas de los estudiantes del 8vo estuvieron expuestos a 12 de estos estresores en las últimas 4 semanas, lo cual constituye una exposición 71,43% mas alta que la experimentada por los estudiantes del 4to semestre (Figura 1).

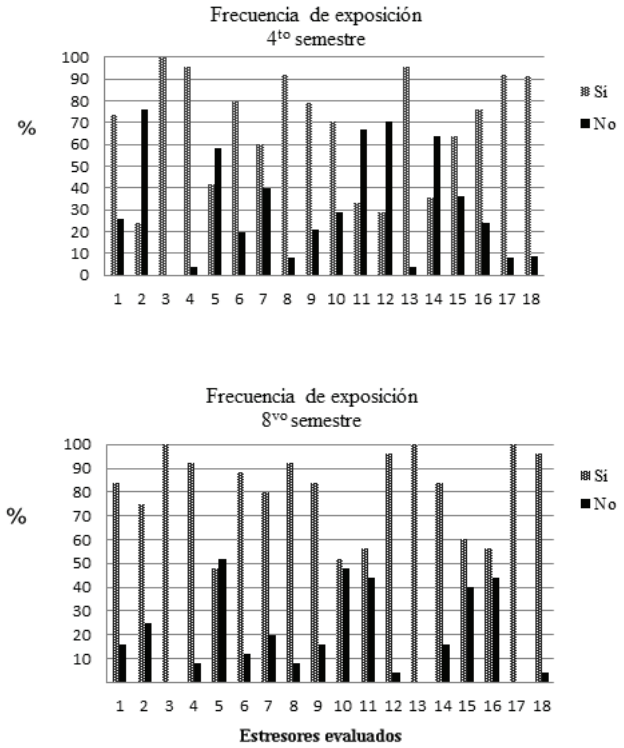


FIGURA 1. Exposición a los estresores evaluados en las últimas 4 semanas para los estudiantes de 4to. (gráfica superior) y 8vo. semestre (gráfica inferior). Los datos se expresan en porcentaje. n=27.

Cortisol Sérico

4to. semestre. Los valores de cortisol obtenidos en el 1er. grupo de voluntarios fueron, el día A: 13,15 ± 1,41 µg/dL, el día B: 16,14 ± 1,86 µg/dL y el día C: 19,72 ± 2,67 µg/dL. En el 2do grupo de voluntarios se obtuvieron en el día A+: 14,74 ± 1,51 µg/dL, el día B: 15,58 ± 2,02 µg/dL y el día C: 12,89 ± 1,49 µg/dL. Estos valores no fueron estadísticamente diferentes entre sí. Puesto que los valores obtenidos en los días B y C de ambos grupos de voluntarios se tomaron en las mismas condiciones de tiempo con respecto al examen parcial, se promediaron sus valores para compararlos con los valores obtenidos en el 8vo semestre. El valor obtenido al promediar los 2 grupos de voluntarios del 4to semestre fue 15,81 ± 1,35 µg/dL el día B y 15,73 ± 1,68 µg/dL el día C.

8vo. semestre. Día A: 13,48 ± 0,99 µg/dL, día B: 13,54 ± 1,03 µg/dL y día C: 10,96 ± 0,96 µg/dL. El cortisol del día C fue estadísticamente menor con respecto a los días A (p=0,02) y B (p=0,006). Al comparar los valores del cortisol en los días B y C entre el 4to y 8vo semestre no se observaron diferencias significativas entre los días B de estos semestres (p=0,193) pero si entre los días C (p=0,023) (Figura 2).

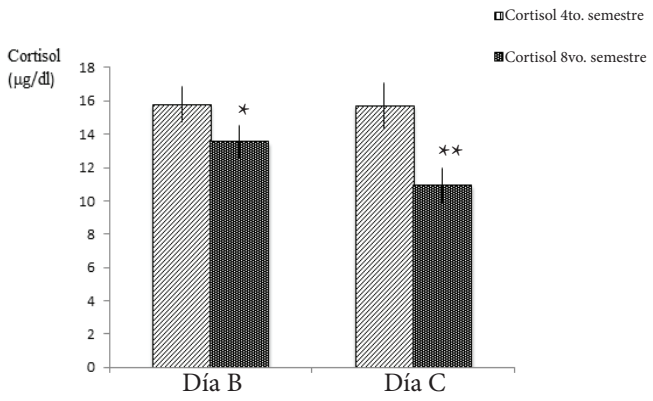


FIGURA 2. Comparación del cortisol sérico correspondiente a los días B y C en estudiantes del 4to y 8vo semestre de Bioanálisis. Los valores se muestran como media ± error estándar de la media. (*): p<0,05 respecto al día B del 8vo. semestre, (**): p<0,05 respecto al día C del 4to. semestre. 4to. semestre: n=12. 8vo. semestre: n=20.

Amilasa salival

4to. semestre. Los valores de amilasa obtenidos en el 1er. grupo de voluntarios fueron el día A: 29,53 ± 8,87 UI/mL, el día B: 21,12 ± 6,08 UI/mL y el día C: 20,82 ± 5,18 UI/mL. Estos valores no fueron estadísticamente diferentes entre sí. En el

2do. grupo de voluntarios se obtuvieron en el día A+: 35,80 ± 15,73 UI/mL, el día B: 26,21 ± 7,33 UI/mL y el día C: 36,72 ± 11,37 UI/mL. Estos valores tampoco fueron estadísticamente diferentes entre sí. El promedio de los valores obtenidos en los días B y C de ambos grupos de voluntarios fue 24,02 ± 4,80 µg/dL el día B y 29,90 ± 6,99 µg/dL el día C.

8vo. semestre. Día A: 35,31 ± 7,53 UI/mL, día B: 34,13 ± 7,89 UI/mL y día C: 26,88 ± 5,56 UI/mL. Estos valores no fueron estadísticamente diferentes entre sí. La comparación de los valores obtenidos en los días B y C con el 4to. semestre, no arrojó diferencias significativas (Figura 3). La prueba de Pearson no arrojó resultados significativos en cuanto a la correlación entre cortisol y amilasa en los semestres 4to. y 8vo. para los días evaluados.

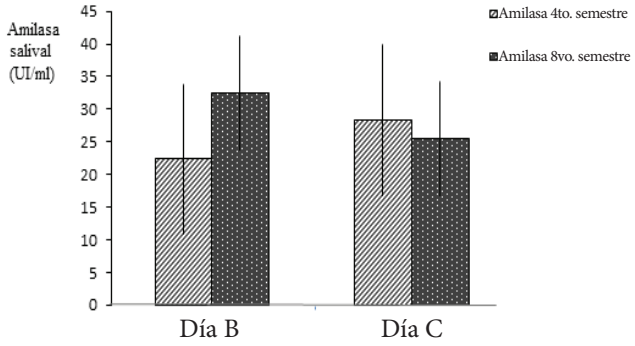


FIGURA 3. Comparación de la actividad de la α-amilasa salival correspondiente a los días B y C en estudiantes de 4to. y 8vo. semestre de Bioanálisis. Los valores se presentan como media ± error estándar de la media. 4to. semestre: n=14. 8vo. semestre: n=22.

Discusión

La participación femenina fue predominante en este estudio, lo cual se asocia a la mayor proporción de estudiantes de sexo femenino que constituyen la población estudiantil de la Escuela de Bioanálisis de la UCV y que concuerda con lo observado en otras Escuelas de Bioanálisis del país (23) y del extranjero (24). Las edades promedio coinciden con otros trabajos realizados en estudiantes universitarios de 4to. y 8vo. semestres (2do. y 4to año. respectivamente) (23-25).

El estrés académico global obtenido en este estudio se ubicó dentro del rango de estrés moderado en los dos semestres evaluados, resultando similar a lo reportado por Labrador (23) en estudiantes de Bioanálisis de la Universidad de Los Andes en Mérida, Venezuela, quien al aplicar este cuestionario obtuvo un valor promedio de 4,98 ± 1,17. Blanco y col (25) encontraron niveles moderados de estrés académico en estudiantes de 1ero. a 4to. año de Terapia Ocupacional de la UCV al aplicar el mismo instrumento.

No obstante, aunque los estudiantes de ambos semestres percibieron los estresores evaluados con similar intensidad, los estudiantes del 8vo semestre estuvieron expuestos a los mismos con una mayor frecuencia que los estudiantes del 4to. semestre.

En el 4to. semestre, las concentraciones de cortisol sérico fueron iguales entre los días A (o A+), B y C. En la literatura consultada se encontraron algunos trabajos con resultados similares en relación a los valores de cortisol antes y después de exámenes en estudiantes universitarios. Vedhara y col (26) estudiaron una población de 60 estudiantes (36 hombres, 24 mujeres, edad promedio de 22 años) y encontraron un aumento en los niveles percibidos de estrés al presentar un examen parcial en comparación con un período en donde no se presentó, sin diferencias significativas en los niveles de cortisol salival entre ambas situaciones. Siachoque y col (27) determinaron cortisol sérico, prolactina y títulos de anticuerpos IgG anti Herpes simple tipo I, 15 días antes, durante y 15 días después de los exámenes trimestrales, en 26 estudiantes de Medicina. Los valores promedio de cortisol de los 3 días evaluados no mostraron diferencias significativas entre sí, aunque si hubo aumentos significativos de prolactina y títulos de Acs después de los exámenes. Takatsuji y col (28) determinaron cortisol salival inmediatamente antes de un examen parcial e inmediatamente y dos horas después de finalizado en 15 mujeres estudiantes de enfermería, de 21 a 26 años de edad, pero no encontraron diferencias significativas entre el cortisol promedio de estos 3 momentos. Singh y col (15) evaluaron la concentración de cortisol salival en estudiantes de primer año de Medicina (21 hombres, 14 mujeres, edad promedio 20,4 ± 1,59 años) dos semanas antes y el día de un examen oral, observándose un incremento significativo en el cortisol el día del examen en los hombres, mas no en las mujeres.

El comportamiento del cortisol en los estudiantes del 4to. semestre, podría atribuirse a una inapropiada adaptación al estrés que representaron los exámenes parciales o la respuesta a otros estresores académicos a los que estuvieron expuestos durante ese período, ya que la intensidad de la respuesta al estrés debería disminuir cuando los individuos se enfrentan de manera reiterada a un estresor, de manera que la valoración del mismo va cambiando a medida que estos adquieren recursos de afrontamiento y disminuye la percepción de amenaza que el evento estresor representa para ellos (29). Este comportamiento podría estar asociado a diferentes

factores, algunos exclusivamente académicos (Ej: exceso de materias inscritas, sobrecarga académica, falta de tiempo para estudiar) y a otros de diferente índole, como circunstancias personales, familiares, económicas, sociales, etc. Otra variable importante a considerar es el tiempo, ya que cabe la posibilidad de que el cortisol de estos estudiantes disminuya inmediatamente después del parcial y su valor elevado a los 4 días del parcial se deba a estresores diferentes del examen. Por lo tanto, al realizar las tomas de muestras a varios tiempos después del parcial, unas inmediatas (minutos a pocas horas después) y otras mas tardías (1, 2 y 3 días después), se podría estudiar mejor esta dinámica para el caso de investigaciones futuras. De persistir este tipo de respuesta en esta población, sería necesario brindarle herramientas en forma oportuna que le permitan mejorar el manejo del estrés, evitando así que la deficiente adaptación al mismo, sea causa de agotamiento, frustración, desmotivación, bajo rendimiento o problemas de salud en general.

Los estudiantes del 8vo semestre exhibieron concentraciones de cortisol sérico similares en los días A y B. Sin embargo, la disminución del cortisol sérico observada en el día C, concuerda con otros autores que reportan la disminución del cortisol luego de un examen en estudiantes del área de la salud. Elizabeth y col (30) observaron una disminución significativa del cortisol sérico dos días después de un examen parcial en 34 estudiantes de primer año de medicina con edad promedio de 18,74 años. Rachit y col (31) encontraron una disminución significativa de los valores de cortisol sérico matutino dos días después de un examen en 55 estudiantes de medicina, sexo masculino. Onyenekwe y col (32) obtuvieron una disminución significativa del cortisol sérico inmediatamente después de un parcial en estudiantes universitarios de ambos sexos y con edad promedio de 24 años. Martín Carreras-Presas (33) observaron niveles elevados de cortisol salival inmediatamente antes de un examen parcial y su disminución significativa minutos después del mismo en 33 estudiantes de 4to año de Odontología con edad promedio de 22 años. Estos resultados indican que ante un estresor académico de este tipo, generalmente se produce una respuesta de estrés que involucra la activación del eje Hipotálamo Hipófisis Suprarrenales con el consecuente aumento del cortisol y que éste disminuye una vez que cesa el estímulo. Sin embargo, la respuesta al estrés puede ser muy diferente de una persona a otra y ante situaciones nuevas o a las que los individuos no están adaptados, la respuesta puede ser prolongada, tardando mas en alcanzar sus niveles basales. Así se ha observado en estudiantes de Doctorado en los que se ha estudiado la activación de múltiples genes antes, durante y después de una prueba de elevada exigencia académica como es el examen calificador (29). Al relacionar los resultados del cortisol con los obtenidos a partir del CEEA, se podría inferir que los estudiantes del 8vo semestre, a pesar de tener una intensidad de estrés académico autopercibido similar a los del 4to, poseen una mejor capacidad de adaptación al estrés durante la época de exámenes, lo cual podría deberse a su alta frecuencia de exposición al mismo y a su mayor prosecusión académica dentro de la carrera. Lo cual pudo haberse traducido en un menor tiempo requerido para alcanzar los niveles basales con la disminución concomitante del cortisol 4 días después del parcial, en contraste con lo observado en los alumnos del 4to semestre, tomando en cuenta que los estudiantes de ambos semestres están sometidos a un régimen de evaluación contínua con quices, interrogatorios y prácticas de laboratorio de martes a viernes.

La actividad de la α-amilasa salival es un parámetro que aún se encuentra en investigación como marcador de estrés. Su incremento en respuesta al estrés se asocia a una mayor actividad del sistema nervioso simpático, el cual inerva las glándulas salivales, estimulando una mayor secreción de proteínas hacia la saliva, entre ellas la amilasa.

Existe evidencia de que esta enzima salival tiene un patrón de secreción diurno. Nater y col, (34) cuya investigación llevada a cabo en 76 sujetos tuvo como objetivo describir dicho patrón, revelaron que ésta disminuye marcadamente 60 minutos después de despertar y va aumentando de manera constante a lo largo del día. Adam y col (35) al realizar un estudio en adolescentes, demostraron valores de amilasa salival más bajos en la mañana que se fueron incrementando en el transcurso del día.

Los valores obtenidos en el presente trabajo se aproximan a los reportados en estudiantes de psicología por Schoofs y col (8) en días sin exámenes (23.75 ± 4.04 UI/ml) y a los valores encontrados en adolescentes al levantarse por Adam y col (35) (34,34 UI/ml). Sin embargo, son mayores a los observados por Arhakis y col (36) en jóvenes recién graduados de Odontología de 25 ± 5,06 años antes de masticar chicle sin azúcar (13,01 UI/ml), pero mucho menores a los reportados por Martín Carreras-Presas y col (33) en estudiantes de Odontología (141,84 UI/ml). Es posible que la heterogeneidad en los valores encontrados en la literatura sea producto de condiciones diferentes en cuanto a la hora y la toma de la muestra.

En los trabajos consultados se observó además, gran diversidad en cuanto a los paradigmas de estrés asociados con la actividad de alfa-amilasa salival, como estresores

físicos (37, 38) o de tipo psicosocial (39, 40), pero pocos referentes a estrés académico. Schoofs y col (8) estudiaron el efecto de un examen oral sobre la actividad de amilasa salival en estudiantes de psicología. Estos encontraron elevaciones significativas de la enzima inmediatamente después del examen respecto al valor observado al inicio del mismo o en los días controles (7 días antes o 7 días después). Martín Carreras-Presas y col (33), midieron actividad de amilasa salival inmediatamente antes de un examen parcial a las 8:15 a.m. e inmediatamente después del mismo, a las 10:15 a.m. en estudiantes de Odontología, sin encontrar diferencias entre ambos valores. Otros investigadores han evaluado el efecto de pruebas estandarizadas de estrés sobre este parámetro. Thoma y col (40), aplicaron el Trier Social Stress Test (TSST) a 66 individuos de edad promedio de 24,3 años y tomaron muestras de saliva inmediatamente antes de la prueba y 1, 20 y 45 minutos posteriores a la misma para determinación de amilasa. Un minuto después de la prueba hubo una elevación significativa de la enzima, con un descenso a los 20 y 45 minutos, concluyendo que existe una clara asociación entre la respuesta al estrés agudo y la liberación de α-amilasa salival.

Estudios recientes han reportado que la actividad de α-amilasa salival no sólo aumenta en respuesta al estrés agudo (16, 41), sino también en situaciones de estrés crónico. Vineetha y col (42) encontraron valores significativamente mayores de amilasa salival en pacientes con altos niveles de estrés crónico y ansiedad (159 UI/ml) respecto a pacientes controles (98 UI/mL), cuando las muestras fueron tomadas entre las 2 y 3 pm.

Según Bosch y col (19) la actividad de la amilasa salival es la suma de un gran número de factores que contribuyen a su secreción, en la cual, la estimulación simpática de la glándula es sólo uno de ellos. Por tal motivo, consideran demasiado simplista asumir que la secreción de la enzima sea un buen marcador de respuesta al estrés, si se toma en cuenta que las glándulas salivales son un sofisticado y heterogéneo grupo de órganos capaz de responder con un alto nivel de especificidad a estímulos relacionados con la digestión, el habla y la función inmune.

En vista de todo lo anterior, es evidente que aún falta mucho por investigar sobre el valor de la α-amilasa salival como biomarcador de estrés, puesto que, a diferencia del cortisol, aún no existe un criterio unificado en referencia a la hora de toma de las muestras o a los métodos de recolección de las mismas.

Con respecto a los resultados obtenidos en el presente trabajo, sería conveniente investigar a futuro, si la valoración de actividad de amilasa salival al principio del semestre, antes de iniciar cualquier tipo de evaluación, sería un mejor reflejo de la condición basal de los estudiantes (para este biomarcador) que 4 días antes o 4 días después del examen parcial, en vista de la posibilidad de que sea alterada por estrés crónico.

Conclusiones

Aunque la intensidad del estrés académico autopercibido fue similar entre los dos semestres, los estudiantes del 8vo mostraron una aparente mejor adaptación al mismo durante la época de exámenes, evidenciada por la disminución del cortisol sérico en el día C, lo cual podría deberse a la alta frecuencia de exposición a los estresores académicos y a su mayor prosecusión y experiencia dentro de la carrera con respecto a los estudiantes del 4to. semestre. La ausencia de cambios en la actividad de la α-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 amilasa salival podría indicar que ambos marcadores tienen comportamientos diferentes en respuesta a los estímulos estresantes como ha sido propuesto recientemente por otros investigadores.

Agradecimientos

A la Prof. María Fátima Garcés, a la Lic. Maribel Zambrano y a Científica Industrial de Venezuela por su apoyo con la dotación de reactivos para el desarrollo del presente trabajo. Al Lic. Fariel Casadiegos y a la Lic. Marlene Briceño por su amable colaboración con la determinación de cortisol en el equipo TOSOH ubicado en el Ambulatorio del Hospital Clínico Universitario de la UCV. A la Prof. Claudia Mark y a la Cátedra de Estadística de la Escuela de Bioanálisis por la asesoría en materia estadística. Al personal Docente de las Cátedras de Fisiología y Bioquímica "A" y "C" de la Escuela de Bioanálisis por su valioso apoyo en el desarrollo del presente trabajo.

Financiamiento

Este trabajo fue financiado parcialmente por el CDCH, Proyecto Individual 09-8776-2013/1.

Referencias

1. McEwen BS. Central effects of stress hormones in health and disease: understanding the protective and damaging effects of stress and stress mediators. Eur J Pharmacol 2008;583:174-185.
2. Sood P, Priyadarshini S, Aich P. Estimation of psychological

stress in humans: a combination of theory and practice. PLoS One 2013; 8(5): [serie en Internet]. [citado 1 junio 2014] Disponible en: http://www.plosone.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0063044

3. Rao U. Comorbidity between depressive and addictive disorders in adolescents: role of stress and HPA activity. U.S. Psyc 2010;1:39-43.
4. Lanas F, Avezum A, Bautista LE, Díaz R, Luna M, Islam S, Yusuf S. Risk factors for acute myocarial infarction in Latin America. Circulation 2007;115:1067-1074.
5. Dhabar FS. Enhancing versus suppressive effects of stress on immune function: implications for immunoprotection and immunopathology. Neuroimmunomodulation 2009;16:300-317.
6. Bhatia V, Tandon RK. Stress and the gastrointestinal tract. J Gastroenterol Hepatol 2005;20(3):332-339.
7. Reiche EM, Morimoto HK, Nunes SM. Stress and depression-induced immune dysfunction: implications for the development and progression of cancer. Int Rev Psychiatry 2005;17:515-527.
8. Schoofs D, Hartmann R, Wolf O. Neuroendocrine stress responses to an oral academic examination: No strong influence of sex, repeated participation and personality traits. Stress 2008;11(1):52-61.
9. Segerstrom SC, Miller GE. Psychological stress and the human immune system: a meta-analytic study of 30 years of inquiry. Psychol Bull 2004;130(4):601-630.
10. Cohen S. A global measure of perceived stress. J Health Soc Behav 1983;24:385-396.
11. Morita K, Saito T, Ohta M, Ohmori T, Kawai K, Teshima-Kondo S, Rokutan K. Expression analysis of psychological stress-associated genes in peripheral blood leukocytes. Neurosci Lett 2005;381(1-2):57-62.
12. Barraza A. Un modelo conceptual para el estudio del estrés académico. Revista Electrónica de Psicología Iztacala 2006;26(2):270-289. [serie en Internet]. [citado 4 junio 2014] Disponible en: http://www.redalyc.org/pdf/799/79926212.pdf
13. Joshi RM, Sanghavi S, Upadhyaya DP, Chauhan A, Halvadia S. Effect of examination stress on the plasma cortisol level. Natl J Med Res 2012;2(4):435-438.
14. 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.
15. Singh R, Goyal M, Tiwari S, Ghildiyal A, Nattu S, Das S. Effect of examination stress on mood, performance and cortisol levels in medical students. Indian J Physiol Pharmacol 2012;56(1):48-55.
16. 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.
17. Nater UM, LaMarca R, Florin L, Moses A, Langhans W, Koller MM y col. Stress-induced changes in human salivary alpha amylase activity-associations with adrenergic activity. Psychoneuroendocrinology 2006;31:49-58.
18. Nater UM, Rohleder N. Salivary alpha-amylase as a non-invasive biomarker for the sympathetic nervous system: Current state of research. Psychoneuroendocrinology 2009;34:486-496.
19. Bosch JA, Veerman ECI, de Geus EJ, Proctor GB. α-Amylase as a reliable and convenient measure of sympathetic activity: don`t start salivating just yet! Psychoneuroendocrinology 2011; 36:449-453.
20. De Pablo J, Baillés E, Pérez J, Valdés M. Construcción de una Escala de Estrés Académico para Estudiantes Universitarios. Educación Médica 2004;5(1):40-46.
21. Feldman L, Goncalves L, Chacón G, Zaragoza J, Bagés N, De Pablo J. Relaciones entre estrés académico, apoyo social, salud mental y rendimiento académico en estudiantes universitarios venezolanos. Universitas Psychologica 2008;7:739-749.
22. Rohleder N, Wolf JM, Maldonado EF, Kirschbaum C. The psychosocial stress-induced increase in salivary alpha-amylase is independent of saliva flow rate. Psychophysiology 2006;43(6):645-52.
23. Labrador C. Estrés académico en estudiantes de la facultad de Farmacia y Bioanálisis. Tesis Doctoral. Mérida-Venezuela, Universidad de los Andes. 2012;76-121.
24. Hernández C, González S, González J, Pérez J, Roque I. Variación de la cuenta de linfocitos en estudiantes de la facultad de Bioanálisis bajo estrés. Rev Med UV 2011;Julio-Diciembre:14-17.
25. Blanco G, Angulo Y, Contreras J, Pacheco Y, Vargas V. Estrés y desempeño ocupacional en estudiantes de terapia ocupacional. Rev Chil Terap Ocupac 2012;12(1):1-16.
26. Vedhara K, Hyde J, Gilchrist D, Tytherleigh M, Plummer S. Acute stress, memory, attention and cortisol. Psychoneuroendocrinology 2000;25(1):535–549.
27. Siachoque H, Ibáñez M, Barbosa E, Salamanca A, Moreno C. Efecto del estrés ocasionado por las pruebas académicas sobre los niveles de cortisol y prolactina en un grupo de estudiantes de Medicina. Rev Cienc Salud 2006;4(1):18-30.
28. Takatsuji K, Sugimoto Y, Ishizaki S,Ozaki Y, Matsuyama E, Yamaguchi Y. The effects of examinations stress of salivary cortisol, inmunoglobulin A and chromogranin A in nursing students. Biomed Res 2008;29(4):221-224.
29. Rokutan K, Morita K,Masuda K,Tominaga K,Shikishima M,Teshima-Kondo S,Omori T,Sekiyama A. Gene expression profiling in peripheral blood leukocytes as a

new approach for assessment of human stress response. J Med Invest 2005;54(3-4):44-137.

30. Elizabeth J, Dayananda G, Kusumadevi M, Sunil K, Sujayasri S, Suhas S. The Response of Serum Cortisol and Leptin Levels to Academic Stress. J Health Allied Scs 2009;8(3):1-3. [serie en Internet]. [citado 12 junio 2014] Disponible en: http://www.ojhas.org/issue31/2009-3-7.htm
31. Rachit J, Saurin S, Devanshi U, Ashutosh C, Shital H. Effect of examination stress on the plasma cortisol level. Natl J Med Res 2012;2(4):2249-4995.
32. Onyenekwe CC, Ezeani MC, Udeogu N, Anyiam D, Meludu S, Nnadozie O. Effect of Pre and Post Academic Examination Stress on Serum Level of Cortisol and Progesterone Circulation amongst Students of Nnamdi Azikiwe University Nnewi Campus Anambra State, Nigeria. International Journal of Tropical Disease & Health 2014;4(1):62-69. [serie en Internet]. [citado 10 septiembre 2014] Disponible en: http://www.sciencedomain.org/issue.php?iid=278&id=19
33. Martín Carreras-Presas C, Somacarrera M, Díaz L, Rodríguez M. Nivel de estrés autopercibido, alteración de marcadores salivales y respuesta cardiovascular ante la realización de una prueba académica. Jornadas Internacionales de Innovación Científica 2011;1(1):1-8.
34. Nater UM,Rohleder N,Schlotz W,Ehlert U,Kirschbaum C. Determinants of the diurnal course of salivary alpha-amylase. Psychoneuroendocrinology 2007;32(4):392-401.
35. Adam EK, Till Hoyt L, Granger DA. Diurnal alpha amylase patterns in adolescents: associations with puberty and momentary mood states. Biol Psychol 2011;88(2-3):170-173.
36. Arhakis A, Karagiannis V, Kalfas S. Salivary Alpha-Amylase Activity and Salivary Flow Rate in Young Adults. Open Dent J 2013;7(1):7-15.
37. Van Stegeren A, Wolf O, Kindt M. Salivary alpha amylase and cortisol responses to different stress tasks: Impact of sex. Int J Psychophysiol 2008;66:33-40.
38. O´Donnell K, Kammerer M, O´Reilly R, Taylor A, Glover V. Salivary α-amylase stability, diurnal profile and lack of response to the cold hand test in young women. Stress. 2009;12(6):549-554.
39. Rohleder N, Nater M, Jutta M, Wolf M, Ehlert U, Kirschbaum C. Psychosocial Stress- Induced Activation of Salivary Alpha- Amylase An Indicator of Sympathetic Activity?. Ann N Y Acad Sci 2004;1032:258-263.
40. 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.
41. 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.
42. Vineetha R, Pai KM, Vengal M, Gopalakrishna K, Narayanakurup D (2014). 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.