

Variaciones Diurnas de las Concentraciones de Cortisol Salival en Adultos Jóvenes Sanos

Diurnal Variations of Salivary Cortisol Concentrations in Healthy Young Adults

Rolando Pablo Juárez¹ & Armando César Celía²

JUÁREZ, R. P. & CELÍA, A. C. Variaciones diurnas de las concentraciones de cortisol salival en adultos jóvenes sanos. *Int. J. Odontostomatol.*, 16(2):189-194, 2022.

RESUMEN: Determinar las variaciones diurnas de las concentraciones de cortisol salival (CORTs) en adultos jóvenes sanos. Estudio descriptivo de corte transversal. Un total de 50 estudiantes universitarios, sin antecedentes de trastornos físicos o psiquiátricos, recogieron muestras de saliva completa no estimulada en sus hogares, por la mañana (6:30-7:30 AM) y la tarde (4:00-6:00 PM). El CORTs se analizó utilizando inmunoensayo por quimioluminiscencia. El análisis estadístico de los resultados se realizó mediante la prueba t de Student y coeficiente de correlación de Pearson. El valor medio de CORTs de la mañana ($0,29 \pm 0,11$ mg/dl) es significativamente más alto ($t = 15,43$, $p < 0,0001$) en comparación con la tarde ($0,06 \pm 0,03$ mg/dl), con un coeficiente de variabilidad muy alto. La asimetría (As) y kurtosis (K) vespertinas (As=3,10; K=8,69) fueron mayores que las matutinas (As= 0,45; K= -1,07). Resultaron significativos los coeficientes entre CORTs-AM y CORTs-PM ($r = 0,36$, $p = 0,0106$), pero no entre CORTs edad, IMC y género. La variabilidad diaria, intra e interindividual, fue alta para todos los resultados de CORTs. Estos resultados facilitarán la interpretación de la variabilidad biológica del CORTS en salud y enfermedad.

PALABRAS CLAVE: cortisol, saliva, adulto joven, ritmo circadiano.

INTRODUCCIÓN

Tras la estimulación del eje hipotalámico-pituitario-adrenal (HPA), se libera una cascada de neurohormonas, que finaliza con la liberación de cortisol de la corteza suprarrenal, el glucocorticoide humano más potente (Engert *et al.*, 2011). Esa activación del eje HPA es un mecanismo adaptativo que permite al cuerpo humano mantener la estabilidad fisiológica en respuesta a las señales generales de estrés (McEwen, 2007).

En los últimos años, los componentes de la saliva se utilizan como indicadores de los cambios corporales fisiológicos y/o patológicos (Kaczor-Urbanowicz *et al.*, 2017; Chojnowska *et al.*, 2018). Entre otros, los marcadores neuroendocrinos sirven para establecer las respuestas humanas a eventos estresantes (van Stegeren *et al.*, 2008). Concretamente, el cortisol salival (CORTs) se utiliza con frecuencia

como sustituto del cortisol sérico libre, como indicador biológico de estrés y para evaluar el efecto restaurador de entornos naturales (Kobayashi *et al.*, 2017). Representa un método confiable para investigar el eje HPA, proporciona un medio para evitar el evento estresante de la venopunción y ofrece la posibilidad de autocolecta por sujetos (Cozma *et al.*, 2017).

La secreción de las sustancias endógenas se caracteriza por presentar fluctuaciones diarias, reguladas por un marcapasos circadiano ubicado en el núcleo supraquiasmático del hipotálamo. Se establecen patrones específicos de liberación de sustancias endógenas durante el ciclo sueño-vigilia, por la influencia de diversos temporizadores, como la exposición a la luz, el cambio de husos horarios y el trabajo por turnos. Otros factores que influyen sobre los ritmos biológicos son la edad, el sexo, las emociones y el

¹ Doctor en Odontología, Universidad Nacional del Nordeste, Facultad de Odontología, Corrientes, Argentina.

² Magíster en Investigación en Ciencias de la Salud, Universidad Nacional del Nordeste, Facultad de Odontología, Corrientes, Argentina.

Fuente de financiamiento: subvención No 1244/20, Secretaría General de Ciencia y Técnica, Universidad Nacional del Nordeste, Argentina.

estrés (Nater *et al.*, 2007). De este modo, el CORTs presenta variación diurna, sus concentraciones aumentan por la mañana y disminuye gradualmente a lo largo del día (Almeida *et al.*, 2009; Kobayashi *et al.*, 2017). Dentro de este ciclo, la respuesta de despertar del cortisol (CAR), representa la producción máxima que se produce aproximadamente a los 30 a 60 minutos después de despertarse por la mañana (Cozma *et al.*, 2017).

Por consiguiente, para realizar investigaciones con marcadores biológicos, es necesario determinar el curso temporal de la liberación natural de esas sustancias y eliminar los factores que pueden alterar este curso. Esta información, obtenida en condiciones fisiológicas, permitirá establecer estrategias de muestreo adecuadas en los estudios que investigan las condiciones fisiopatológicas o psicosociales crónicas (Nater *et al.*, 2007). Por tanto, el presente estudio tuvo como objetivo determinar las variaciones diurnas de las concentraciones de CORTs en adultos jóvenes sanos para proporcionar información sobre las variaciones diurnas medias e individuales del biomarcador salival.

MATERIAL Y MÉTODO

El estudio actual, realizado en condiciones de vida libre (Sørensen *et al.*, 2021), es descriptivo de corte transversal (código identificación proyecto investigación: 18J001, Secretaría General de Ciencia y Técnica, Universidad Nacional del Nordeste).

Un total de 50 estudiantes universitarios, sin antecedentes de trastornos físicos o psiquiátricos participaron en el presente estudio, seleccionados mediante un muestreo aleatorio del mismo año de cursada y con actividades diarias generales comparables. Fueron excluidos los fumadores o los que tomaban medicamentos que pueden influir en la actividad del eje HPA. El estudio se llevó a cabo bajo las regulaciones del Comité de Bioética de la Investigación de la Facultad de Odontología de la UNNE (número de dictamen: 121-2018). Todos los participantes firmaron un formulario de consentimiento informado.

Los participantes recibieron instrucciones para recoger muestras de saliva completa no estimulada en sus hogares, mediante salivación pasiva (Bhattarai *et al.*, 2018), en recipiente plástico descartable con cierre hermético sin conservantes. En el periodo de

septiembre a noviembre, la autocolecta fue matutina (6:30-7:30 AM, aproximadamente una hora después de despertar) y vespertina (4:00-6:00 PM). Al menos 1 hora antes de la recolección, se pidió a los participantes que se abstuvieran de comer, cepillarse los dientes y hacer ejercicio. Se advirtió no beber bebidas alcohólicas 18 h antes de las muestras matutinas. Durante el día de estudio, se aconsejó evitar el consumo de cafeína y mateína, las situaciones estresantes y las emociones. Los días de recolección y medición fueron entre semana con horarios de clases normales, se evitaron los días de exámenes o con exigencias académicas no habituales.

El mismo día de la recolección, se refrigeraron las muestras hasta su transporte al laboratorio de investigaciones científicas (análisis clínicos) de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional del Nordeste. Antes de las determinaciones, las muestras de saliva se centrifugaron a 3000 rpm durante 10 m. Luego una alícuota de saliva de 0,5 ml, se almacenó a -20°C hasta su estudio. El CORTs se analizó utilizando inmunoensayo por quimioluminiscencia (Cobas® e 801, Roche Diagnóstico) y fue expresado en mg/dl.

Para analizar el comportamiento de la información, se realizó un análisis exploratorio de los datos. Los valores se expresaron como media \pm desviación estándar. Se empleó, además, coeficiente de correlación de Pearson, estadístico Chi-Cuadrado, pruebas de t para muestras pareadas, con un nivel de significancia $\alpha = 0,05$. Los análisis estadísticos fueron realizados mediante el Software InfoStat 2018 (Universidad Nacional de Córdoba, Argentina).

RESULTADOS

Las características demográficas de todos los sujetos se muestran en la Tabla I. Todos eran alumnos del área de formación básica de la carrera universitaria de odontología. El género se dividió aproximadamente en partes iguales (prueba de concordancia, $X^2 = 1,28$, $p = 0,2579$), con mujeres que componen el 58 % de la muestra.

En la Tabla II, se presentan las estadísticas descriptivas para las variables cuantitativas bioquímicas estudiadas. El CORTs presenta contenidos matutinos más altos que los vespertinos ($t = 15,43$, $p < 0,0001$), con un porcentaje de disminución del 79 % y con variabilidad entre personas muy alta.

Tabla I. Parámetros demográficos de los participantes (n = 50).

Variable	Edad (años)	IMC* (kg/m ²)
Media	21,10	23,85
DE**	2,99	3,30
Max	34,00	35,80
Min	19,00	18,00

* IMC: índice de masa corporal, ** DE: desviación estándar.

El Me de CORTs-AM de los participantes fue de 0,29, con una DE de 0,11, una Var de 0,01 y un CV de 38,34 lo que indica una variabilidad muy alta. El coeficiente de As fue de 0,45 lo que indica una curva casi simétrica y el de K de -1,07 señala que la curva es aplanada y ancha. El Me de CORTs-PM de los participantes fue de 0,06, con una DE de 0,03, una Var de 0,001 y un CV de 51,15 lo que indica una variabilidad muy alta. El coeficiente de As fue de 3,10 lo que indica una curva con fuerte asimetría positiva y el de K de 8,69 señala que la curva es muy aplanada y ancha. Resultaron significativos los coeficientes entre CORTs-AM y CORTs-PM ($r = 0,36, p = 0,0106$).

Los gráficos Q-Qplot indican, para CORTs-AM (Fig. 1), que los cuantiles de la distribución muestral no se alejan de los esperados en una distribución normal, en el caso del CORTs-PM (Fig. 2) la distribución muy asimétrica de esta variable con alta concentración en valores bajos, parece alejarse de la normalidad. No obstante, en ambas variables se confirma la normalidad con los valores de los coeficientes de correlación, para CORTs-AM ($r = 0,968, p < 0,0001$) y CORTs-PM ($r = 0,667, p = 0,0001$).

La distribución de CORTs por género sigue el mismo patrón que la general, los contenidos matutinos son más altos que los vespertinos en ambos géneros, pero las diferencias entre horarios son mayores que las diferencias entre géneros (CORTs-AM $p = 0,485$, CORTs-PM $p = 1,000$). Tampoco resultaron significativos los coeficientes entre edad y CORTs-AM ($r = -0,15, p = 0,2900$) y CORTs-PM ($r = -0,05, p = 0,7415$).

El 66 % de los participantes presentaron peso normal (IMC ≤ 25 kg/m²), 28 % sobrepeso (IMC 25-

29,9 kg/m²), 4 % bajo peso (IMC $< 18,5$ kg/m²) y 2 % obesidad grado II (IMC 35-39,9 kg/m²). No se observaron diferencias en la distribución del IMC entre ambos géneros. La distribución de CORTs por categoría de IMC sigue el mismo patrón que la general, los contenidos matutinos son diferentes de los vespertinos en todas las categorías de IMC, notándose un leve incremento en los valores de CORTs con el incremento del IMC, pero no fueron significativos (AM, $r = 0,13, p = 0,3685$) y (PM, $r = 0,06, p = 0,6618$).

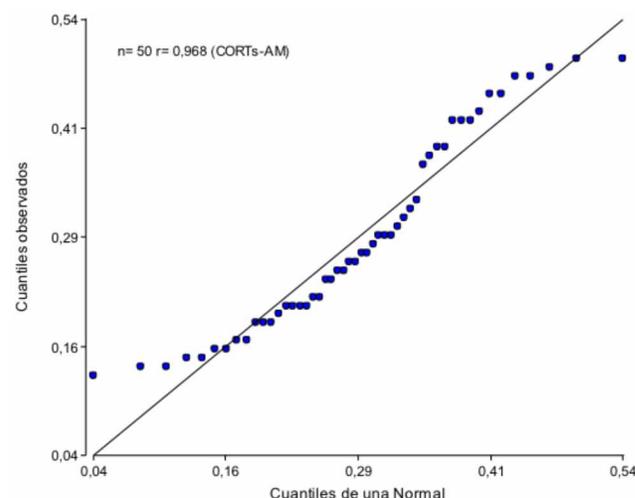


Fig. 1. Q-Qplot de cuantiles de CORTs-AM en la muestra respecto de los cuantiles de una normal.

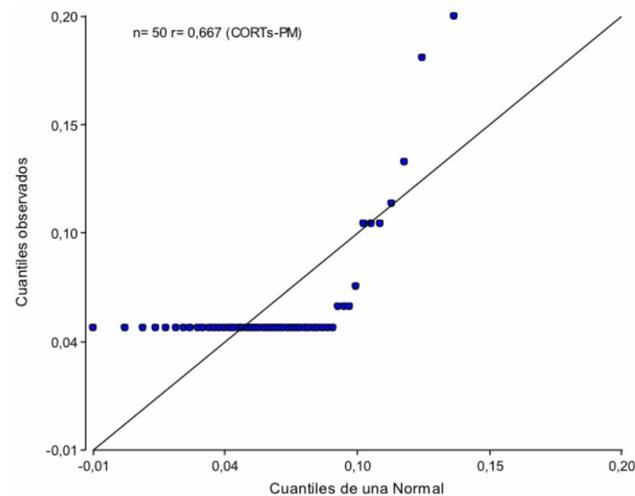


Fig. 2. Q-Qplot de cuantiles de CORTs-PM en la muestra respecto de los cuantiles de una normal.

Tabla II. Estadísticas descriptivas para CORTs (AM-PM).

Variable	Me	DE	Var	CV	Mín	Máx	Ran	Md	Q1	Q3	RIQ	As	K
CORTs-AM	0,29	0,11	0,01	38,34	0,13	0,49	0,36	0,27	0,20	0,39	0,19	0,45	-1,07
CORTs-PM	0,06	0,03	0,00	51,15	0,05	0,20	0,15	0,05	0,05	0,05	0,00	3,10	8,69

Me: promedio aritmético, DE: desviación estándar, Var: variancia, CV coeficiente de variación, Mín: mínimo, Máx: máximo, Ran: rango, Md: mediana, Q1: cuartil 1, Q3: cuartil 3, RIQ: rango intercuartilico, AS: asimetría, K: curtosis.

DISCUSIÓN

La investigación actual documentó tanto las diferencias de patrones diurnos como la variabilidad intra e interindividual de CORTs. Los resultados revelaron una variación significativa en las fluctuaciones diurnas de los contenidos de CORTs, así como la variabilidad entre personas. No se observó una interacción significativa entre edad, género e IMC, tanto para la magnitud como para la variabilidad de los niveles de CORTs.

Para que el análisis de los componentes bioquímicos de la saliva sea factible en la práctica clínica ambulatoria, se debe utilizar saliva entera y no estimulada, que es la forma predominante durante la mayor parte del día y durante el sueño. Esto hace que el CORTs sea un buen biomarcador, ya que no se ve afectado por el flujo salival (Abrao *et al.*, 2014). Por lo tanto, en nuestro estudio se utilizó saliva completa no estimulada. Asimismo, es importante destacar que este estudio se basó en datos recopilados en contextos de la vida real, estimaciones que según Nater *et al.* (2013) mejoran la validez ecológica.

En el presente estudio, encontramos que la concentración media de CORTs por la tarde era más baja que por la mañana, con el mismo patrón de secreción circadiano del cortisol medido en suero y saliva, relatado por otros autores (Aardal & Holm, 1995; Putignano *et al.*, 2001). Asimismo, las concentraciones de CORTs fueron menores a las informadas en otros estudios, con intervalos de referencia muy variables entre sí (Kirschbaum & Hellhammer, 1989; Kobayashi *et al.* 2017; Tammayan *et al.*, 2021). En este estudio, las muestras de saliva se colectaron una hora después de despertar para evitar el CAR, circunstancia que podría explicar los valores bajos de la mañana.

Además, las discrepancias en los resultados se pueden atribuir a diferencias en la metodología, la población y/o el tiempo de muestreo. Kirschbaum *et al.* (1989) sostienen que usar diferentes radioinmunoensayos puede dar lugar a diferencias de concentración del 220 %. Por su parte, Calvi *et al.* (2017) mencionan que las fuentes de variabilidad de medición de CORTs son diferencias relacionadas con la muestra en sí (90 %), entre laboratorios (8 %) y ensayos duplicados de la misma muestra dentro de los laboratorios (2 %).

Asimismo, se ha observado variación estacional en los niveles de cortisol plasmático (Walker *et al.*,

1997) y CORTs (King *et al.*, 2000), con niveles significativamente más altos en invierno y otoño, en comparación con primavera y verano, lo que podría explicar los valores bajos de CORTs observados en nuestro trabajo realizado en primavera.

La influencia de la edad sobre la trayectoria diurna de CORTs es contradictoria. Ahn *et al.* (2007) demostraron en voluntarios sanos (21-69 años) que los niveles de CORTs tendían a disminuir, pero no de manera significativa hasta los 60 años. Por su parte, Nater *et al.* (2013) observaron niveles más altos de CORTs en personas mayores, mental y físicamente sanas (20-81 años). Sugieren una correspondencia con los aumentos en la actividad del eje HPA relacionados con la edad. Nuestros hallazgos no permitieron confirmar las diferencias con la edad en las concentraciones del biomarcador, dado que nuestra muestra fue selectiva al examinar solamente adultos jóvenes.

La interrelación entre los niveles de cortisol sérico y salival en hombres y mujeres no embarazadas parece ser la misma. Sin embargo, las mujeres en el tercer trimestre del embarazo y las que toman anticonceptivos orales presentan niveles de cortisol sérico marcadamente aumentados, pero CORTs casi normal (Vining & McGinley, 1987). Este trabajo, no encontró alteraciones consistentes en los niveles de CORTs relacionados con el género. Coincidimos con King *et al.* (2000), en la posibilidad de que pueda haber diferencias de género y edad en la reactividad al estrés agudo en esta misma población, pero nuestras mediciones se realizaron con un eje HPA en reposo.

Los estudios previos que indicaron sobre la alta variabilidad diaria de CORTs, se basaron en las variaciones de las concentraciones medias, pero con limitada información en las variaciones individuales (Kobayashi *et al.*, 2015; Bakusic *et al.*, 2019). En este estudio, la asimetría y la curtosis de las concentraciones de CORTs en las muestras de la tarde fueron significativamente más altas que las de las muestras de la mañana, coincidiendo con trabajos previos con un enfoque en el cambio de características de distribución de las concentraciones (Kobayashi & Miyazaki, 2015; Kobayashi *et al.*, 2017), quienes atribuyen esa mayor asimetría a un efecto de piso, que impide los valores negativos de cortisol, lo que da como resultado una distribución distorsionada. Los mismos autores sostienen que la diferencia en la asimetría podría atribuirse a la hora de medición del día, en lugar de diferencias en edad, sexo o etnia. Asimismo, Zhang *et al.* (2020) observaron el curso temporal del CORTs,

que muestra cambios significativos con concentraciones máximas al despertar, luego declina lentamente y se transforma en una meseta entre las 15:00 y las 21:00 h. Este fenómeno puede explicar la diferencia en la asimetría de las distribuciones de datos obtenidas con las muestras de la tarde y la mañana, donde el nivel de CORTs reducido por la tarde no presenta necesariamente una distribución simétrica en nuestro estudio. Parece haber un grado de disminución del CORTs más allá del cual no se producirán nuevas disminuciones (meseta).

Conviene señalar las limitaciones de esta investigación. El tamaño de la muestra era demasiado pequeño para ser representativo de la población general de adultos jóvenes. Además, el muestreo de saliva se realizó solo en dos tiempos, a pesar de la sugerencia de recolectar muestras de saliva en varios puntos diarios de tiempo y en varios días (Sørensen *et al.*, 2021). Sin embargo, en algunos sujetos, la necesidad de obtener muestras de saliva en varias ocasiones, puede interrumpir su rutina y contribuir al estrés, lo que resulta en una mayor concentración de CORTs (Choo *et al.*, 2020).

En conclusión, nuestros hallazgos sugieren que los niveles de CORTs están asociados con el ritmo circadiano, en adultos jóvenes con el eje HPA en reposo. La variabilidad diaria, intra e interindividual, fue bastante alta para todos los resultados de CORTs. Entendemos que estos resultados pueden ser de utilidad, dada la asociación entre niveles de CORTs con diferentes problemas de salud.

JUÁREZ, R. P. & CELÍA, A. C. Diurnal Variations of Salivary Cortisol Concentrations in Healthy Young Adults. *Int. J. Odontostomatol.*, 16(2):189-194, 2022.

ABSTRACT: To determine the diurnal variations of salivary cortisol (sCORT) concentrations in healthy young adults. Descriptive cross-sectional research design. A total of 50 university students, with no history of physical or psychiatric disorders, collected samples of unstimulated whole saliva at home, in the morning (6:30-7:30 AM) and in the afternoon (4:00-6:00 PM). The CORTs were analyzed using chemiluminescence immunoassay. Statistical analysis was performed using Student's t test and Pearson's correlation coefficient. The mean CORTs value in the morning ($0,29 \pm 0,11$ mg/dl) is significantly higher ($t = 15,43$, $p < 0,0001$) compared to the afternoon ($0,06 \pm 0,03$ mg/dl), with a very high coefficient of variability. The asymmetry (As) and kurtosis (K) in the evening (As = 3,10; K = 8,69) were greater than in the morning (As = 0,45; K = -1,07). The coefficients between CORTs-AM and CORTs-PM were significant ($r = 0,36$, $p =$

0,0106), but not between CORTs with age, BMI and gender. Intra- and inter-individual daily variability was high for all CORTs results. These results will facilitate the interpretation of the biological variability of CORTs in health and disease.

KEY WORDS: cortisol, saliva, young adult, circadian rhythm.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aardal, E. & Holm, A. C. Cortisol in saliva-reference ranges and relation to cortisol in serum. *Eur. J. Clin. Chem. Clin. Biochem.*, 33(12):927-32, 1995.
- Abrao, A. L.; Leal, S. C. & Falcao, D. P. Salivary and serum cortisol levels, salivary alpha-amylase and unstimulated whole saliva flow rate in pregnant and non-pregnant. *Rev. Bras. Ginecol. Obstet.*, 36(2):72-8, 2014.
- Ahn, R. S.; Lee, Y. J.; Choi, J. Y.; Kwon, H. B. & Chun, S. I. Salivary cortisol and DHEA levels in the Korean population: age-related differences, diurnal rhythm, and correlations with serum levels. *Yonsei Med. J.*, 48(3):379-88, 2007.
- Almeida, D. M.; Piazza, J. R. & Stawski, R. S. Interindividual differences and intraindividual variability in the cortisol awakening response: an examination of age and gender. *Psychol. Aging*, 24(4):819-27, 2009.
- Bakusic, J.; De Nys, S.; Creta, M.; Godderis, L. & Duca, R. C. Study of temporal variability of salivary cortisol and cortisone by LC-MS/MS using a new atmospheric pressure ionization source. *Sci. Rep.*, 9(1):19313, 2019.
- Bhattarai, K. R.; Kim, H. R. & Chae, H. J. Compliance with saliva collection protocol in healthy volunteers: strategies for managing risk and errors. *Int. J. Med. Sci.*, 15(8):823-31, 2018.
- Calvi, J. L.; Chen, F. R.; Benson, V. B.; Brindle, E.; Bristow, M.; De, A.; Entringer, S.; Findlay, H.; Heim, C.; Hodges, E. A.; *et al.* Measurement of cortisol in saliva: a comparison of measurement error within and between international academic-research laboratories. *BMC Res. Notes*, 10(1):479, 2017.
- Chojnowska, S.; Baran, T.; Wilin'ska, I.; Sienicka, P.; Cabaj-Wiater, I. & Knas', M. Human saliva as a diagnostic material. *Adv. Med. Sci.*, 63(1):185-91, 2018.
- Choo, J. E.; Samsudin, I. N.; Mat Salleh M. J.; Zahari Sham, S. Y. & Thambiah, S. C. Determination of salivary cortisol reference interval in a selected Malaysian population. *Malays. J. Pathol.*, 42(3):433-7, 2020.
- Cozma, S.; Dima-Cozma, L. C.; Ghiciuc, C. M.; Pasquali, V.; Saponaro, A. & Patacchioli, F. R. Salivary cortisol and alpha-amylase: subclinical indicators of stress as cardiometabolic risk. *Braz. J. Med. Biol. Res.*, 50(2):e5577, 2017.
- Engert, V.; Vogel, S.; Efanov, S. I.; Duchesne, A.; Corbo, V.; Ali, N. & Pruessner, J. C. Investigation into the cross-correlation of salivary cortisol and alpha-amylase responses to psychological stress. *Psychoneuroendocrinology*, 36(9):1294-302, 2011.
- Kaczor-Urbanowicz, K. E.; Martin Carreras-Presas, C.; Aro, K.; Tu, M.; Garcia-Godoy, F. & Wong, D. T. Saliva diagnostics - Current views and directions. *Exp. Biol. Med. (Maywood)*, 242(5):459-72, 2017.
- King, J. A.; Rosal, M. C.; Ma, Y.; Reed, G.; Kelly, T. A.; Stanek 3rd, E. J. & Ockene, I. S. Sequence and seasonal effects of salivary cortisol. *Behav. Med.*, 26(2):67-73, 2000.
- Kirschbaum, C. & Hellhammer, D. H. Salivary cortisol in psychobiological research: an overview. *Neuropsychobiology*, 22(3):150-69, 1989.

- Kirschbaum, C.; Strasburger, C. J.; Jammers, W. & Hellhammer, D. H. Cortisol and behavior: 1. Adaptation of a radioimmunoassay kit for reliable and inexpensive salivary cortisol determination. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 34(4):747-51, 1989.
- Kobayashi, H. & Miyazaki, Y. Distribution characteristics of salivary cortisol measurements in a healthy young male population. *J. Physiol. Anthropol.*, 34(1):30, 2015.
- Kobayashi, H.; Song, C.; Ikei, H.; Kagawa, T. & Miyazaki, Y. Analysis of Individual Variations in Autonomic Responses to Urban and Forest Environments. *Evid. Based Complement. Alternat. Med.*, 2015:671094, 2015.
- Kobayashi, H.; Song, C.; Ikei, H.; Park, B. J.; Kagawa, T. & Miyazaki, Y. Diurnal changes in distribution characteristics of salivary cortisol and immunoglobulin a concentrations. *Int. J. Environ. Res. Public Health.*, 14(9):987, 2017.
- McEwen, B. S. Physiology and neurobiology of stress and adaptation: central role of the brain. *Physiol. Rev.*, 87(3):873-904, 2007.
- Nater, U. M.; Hoppmann, C. A. & Scott, S. B. Diurnal profiles of salivary cortisol and alpha-amylase change across the adult lifespan: evidence from repeated daily life assessments. *Psychoneuroendocrinology*, 38(12):3167-71, 2013.
- Nater, U. M.; Rohleder, N.; Schlotz, W.; Ehlert, U. & Kirschbaum, C. Determinants of the diurnal course of salivary alpha-amylase. *Psychoneuroendocrinology*, 32(4):392-401, 2007.
- Putignano, P.; Dubini, A.; Toja, P.; Invitti, C.; Bonfanti, S.; Redaelli, G.; Zappulli, D. & Cavagnini, F. Salivary cortisol measurement in normal-weight; obese and anorexic women: comparison with plasma cortisol. *Eur. J. Endocrinol.*, 145(2):165-71, 2001.
- Sørensen, S. O.; Pedersen, J.; Rasmussen, M. G.; Kristensen, P. L. & Grøntved, A. Feasibility of home-based sampling of salivary cortisol and cortisone in healthy adults. *BMC Res. Notes*, 14(1):406, 2021.
- Tammayan, M.; Jantaratnotai, N. & Pachimsawat, P. Differential responses of salivary cortisol; amylase; and chromogranin A to academic stress. *PLoS One*, 16(8):e0256172, 2021.
- van Stegeren, A. H.; Wolf, O. T. & Kindt M. Salivary alpha amylase and cortisol responses to different stress tasks: impact of sex. *Int. J. Psychophysiol.* 69(1):33-40, 2008.
- Vining, R. F. & McGinley, R. A. The measurement of hormones in saliva: possibilities and pitfalls. *J. Steroid. Biochem.*, 27(1-3):81-94, 1987.
- Walker, B. R.; Best, R.; Noon, J. P.; Watt, G. C. & Webb, D. J. Seasonal variation in glucocorticoid activity in healthy men. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 82(12):4015-9, 1997.
- Zhang, Y.; Liu, J.; Liu, Y.; Lu, W. & Hou, A. Salivary cortisol concentrations in police officers - a cross-sectional study in Beijing, China. *Biosci. Rep.*, 40(4):BSR20193406, 2020.

Dirección para Correspondencia:
Rolando Pablo Alejandro Juárez
Universidad Nacional del Nordeste
Facultad de Odontología
FOUNNE
Av. Libertad 5470, W3402
Corrientes
ARGENTINA

E-mail: ropablojuarez@odn.unne.edu.ar

Rolando Pablo Alejandro Juárez: 0000-0001-8950-3373
Armando César Celía : 0000-0002-3052-6885