

ÍNDICE DE CONTENIDOS

CAPITULO I	1
INTRODUCCIÓN.....	1
HIPÓTESIS.....	3
CAPITULO II	4
OBJETIVOS.....	4
2.1 Objetivo General:.....	4
2.2 Objetivos Específicos:	4
CAPITULO III	5
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	5
3.1 ENFERMEDAD PERIODONTAL:	5
3.2 ETIOPATOGENIA DE LA ENFERMEDAD PERIODONTAL:	6
3.3. ESTRÉS CRÓNICO Y NIVELES DE CORTISOL.....	10
CAPITULO IV	14
MATERIALES Y MÉTODOS.....	14
4.1 DISEÑO DE INVESTIGACIÓN.....	14
4.2 MUESTRA.....	15
4.2.1 CÁLCULO DEL TAMAÑO DE MUESTRA.....	15
4.3 CRITERIOS DE ELEGIBILIDAD.....	16
4.4 PROCEDIMIENTOS.....	17
4.4.1 EVALUACIÓN CLÍNICA.....	17

4.4.2 CUANTIFICACIÓN	18
4.4.2.1 Toma de Muestra Microbiológica.....	18
4.4.2.2 Transporte y almacenamiento de muestra.....	19
4.4.2.3 Obtención del control positivo y estándar de cuantificación.....	19
4.4.2.3.1 Preparación del stock de partidores y solución de trabajo.....	20
4.4.2.3.2 Transformación del plásmido que contiene el fragmento del gen 16 S de <i>P.gingivalis</i>	21
4.4.2.3.3 Preparación de reacciones de PCR convencional.....	23
4.4.2.4 PCR Cuantitativo en tiempo real.....	25
4.4.2.4.1 Curva estándar de cuantificación de <i>P. gingivalis</i>	25
4.4.2.4.2 Preparación de reacciones para qPCR.....	26
4.4.2.5 Procesamiento de las muestras microbiológicas.....	28
4.4.2.5.1 Purificación del ADN bacteriano.....	28
4.4.3 CUANTIFICACIÓN DE CORTISOL.....	32
4.4.3.1 Toma de muestra.....	32
4.4.3.2 Transporte y almacenamiento de la muestra.....	33
4.4.3.3 Obtención de estándar de cuantificación.....	34
4.4.3.4 Procesamiento de las muestras.....	35
4.4.3.5 Cálculo de concentración de cortisol.....	37
4.4.4 ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	38
CAPITULO V.....	40
RESULTADOS.....	40

5.1	DESCRIPCIÓN BIODEMOGRÁFICA DE LA MUESTRA.....	40
5.2	DIAGNÓSTICO PERIODONTAL DE LOS PACIENTES SOMETIDOS AL ESTUDIO.....	41
5.3	NIVELES DE CORTISOL.....	42
5.4	CUANTIFICACIÓN DE <i>P. GINGIVALIS</i>	43
5.5	COMPARACIÓN ENTRE CUANTIFICACIÓN DE <i>P. GINGIVALIS</i> Y SITIO DE RECOLECCIÓN DE LA MUESTRA.	45
5.6	COMPARACIÓN ENTRE DIAGNÓSTICO PERIODONTAL Y CUANTIFICACIÓN DE <i>P. GINGIVALIS</i>	46
5.7	COMPARACIÓN ENTRE NIVELES DE CORTISOL Y DIAGNÓSTICO PERIODONTAL.....	48
5.8	CORRELACIÓN ENTRE NIVELES DE CORTISOL Y CUANTIFICACIÓN DE <i>P. GINGIVALIS</i>	49
5.9	COMPARACIÓN ENTRE DIAGNÓSTICO PERIODONTAL, NIVELES DE CORTISOL Y CUANTIFICACIÓN DE <i>P. GINGIVALIS</i>	49
	CAPITULO VI	50
	DISCUSIÓN.....	50
	CAPITULO VII	54
	CONCLUSIÓN.....	54
	CAPITULO VIII	55
	RESUMEN.....	55
	CAPITULO IX	57
	BIBLIOGRAFÍA.....	57
	CAPITULO X	67
	APÉNDICES	67

APÉNDICE 1: CONCENTRACION DE PLÁSMIDOS DE COLONIAS DE P. GINGIVALIS.....	67
APÉNDICE 2: ECUACIÓN DE LA RECTA DETERMINADA A PARTIR DE CURVA ESTÁNDAR PARA CUANTIFICAR P. GINGIVALIS.....	68
CAPITULO XI	69
ANEXOS.....	69
ANEXO 1: ACTA DE APROBACIÓN DEL COMITÉ DE BIOÉTICA.....	69
ANEXO 2: CONSENTIMIENTO INFORMADO.....	71
ANEXO 3: FICHA CLÍNICA UTILIZADA EN EL ESTUDIO.....	74

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1: OBTENCIÓN DE SOLUCIÓN DE TRABAJO DE PARTIDORES.....	20
FIGURA 2: PROCESO DE QUIMIOTRANSFORMACIÓN.....	21
FIGURA 3: PROCESO DE RECUPERACIÓN CELULAR.....	22
FIGURA 4: PCR CONVENCIONAL DE P. GINGIVALIS:	24
FIGURA 5: MEDICIÓN DE CONCENTRACIÓN DE PLÁSMIDO EN NANODROP ..	24
FIGURA 6: DILUCIÓN DEL TEMPLADO.....	25
FIGURA 7: PCR EN TIEMPO REAL DE CURVA ESTÁNDAR.....	27
FIGURA 8: EBULLICIÓN DE LA MUESTRA MICROBIOLÓGICA.....	28
FIGURA 9: PROCEDIMIENTO DE PURIFICACIÓN DE ADN.	29
FIGURA 10: DISTRIBUCIÓN PLACA PCR.....	30
FIGURA 11: ALMACENAMIENTO DE LA MUESTRA	33
FIGURA 12: GRÁFICO DE CURVA ESTÁNDAR DEL CORTISOL.....	34
FIGURA 13: PROCEDIMIENTO PARA CUANTIFICACIÓN DE CORTISOL	35
FIGURA 14: PROCEDIMIENTO DE LAVADO	36
FIGURA 15: PROCEDIMIENTO PARA CUANTIFICACIÓN DE CORTISOL.....	36
FIGURA 16: LECTURA DE ABSORBANCIAS.....	37
FIGURA 17: GRÁFICO DE PUNTOS ENTRE CUANTIFICACIÓN BACTERIANA Y DIAGNÓSTICO PERIODONTAL.....	47
FIGURA 18: GRÁFICO DE PUNTOS ENTRE NIVELES DE CORTISOL Y DIAGNÓSTICO PERIODONTAL.	48
FIGURA 19: GRÁFICO DE ECUACIÓN DE LA RECTA PARA DETERMINAR EL NÚMERO DE P. GINGIVALIS EN CADA SITIO.....	68

ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO 1: TABLA DE PARTIDORES UTILIZADOS EN EL ESTUDIO	20
CUADRO 2: TABLA CURVA ESTÁNDAR CORTISOL	34
CUADRO 3: TABLA DE VARIABLES EN ESTUDIO.	38
CUADRO 4: TABLA DE DESCRIPCIÓN BIODEMOGRÁFICA DE LA MUESTRA, EXPRESADO EN FRECUENCIA Y PORCENTAJE.	40
CUADRO 5: TABLA DE DESCRIPCIÓN DEL DIAGNÓSTICO PERIODONTAL DE LA MUESTRA, CLASIFICADO EN EDAD Y SEXO, EXPRESADO EN FRECUENCIA Y PORCENTAJE.	41
CUADRO 6: TABLA DE MEDIAS DE CORTISOL EN SALIVA (μ GR/DL)	42
CUADRO 7: TABLA DE MEDIAS DE CUANTIFICACIÓN DE P. GINGIVALIS	44
CUADRO 8: TABLA DE CUANTIFICACIÓN DE P. GINGIVALIS SEGÚN SITIO DE RECOLECCIÓN, EXPRESADO EN MEDIANA Y COMPARACIONES POSTERIORES.	45
CUADRO 9: TABLA DE CUANTIFICACIÓN DE P. GINGIVALIS SEGÚN DIAGNÓSTICO, REPRESENTADO EN MEDIANAS TOTALES PARA CADA UNO.	46
CUADRO 10: TABLA DE MEDIANAS DE CONCENTRACIÓN DE CORTISOL POR DIAGNÓSTICO PERIODONTAL.	48
CUADRO 11: TABLA DE CONCENTRACIÓN DE PLÁSMIDOS DE LAS COLONIAS.	67
CUADRO 12: TABLA PARA REALIZACIÓN DE ECUACIÓN DE LA RECTA DE CURVA ESTÁNDAR.	68