

## **INDICE**

<b>1. RESUMEN</b> .....	1
<b>1.1 Palabras clave:</b> .....	1
<b>2. ABSTRACT</b> .....	2
<b>2.1 Keywords</b> .....	¡Error! Marcador no definido.
<b>3. INTRODUCCIÓN</b> .....	2
<b>4. OBJETIVOS</b> .....	5
<b>4.1 Objetivo general</b> .....	5
<b>4.2 Objetivos específicos</b> .....	5
<b>5. METODOLOGÍA</b> .....	6
<b>5.1. Diseño general</b> .....	6
<b>5.2. Determinación de las condiciones óptimas de almacenamiento de la saliva (Estudio de estabilidad).</b> .....	6
<b>5.2.1. Variaciones de pH en intervalos de tiempo reducido.</b> .....	7
Inhibidor de proteasas. ....	7
Temperatura y tiempos de almacenamiento.....	7
<b>5.2.2. Variaciones de pH en tiempos extendidos</b> .....	7
Temperatura y tiempo de almacenamiento. ....	8
<b>5.3. Análisis de ritmo circadiano (Estudio principal)</b> .....	9
Sujetos .....	9
Estandarización de la dieta y la higiene oral, para controlar su efecto sobre el ritmo circadiano.....	9
Obtención de la saliva en los tiempos establecidos del ritmo circadiano .....	10
Procesamiento de las muestras de saliva.....	10
<b>5.3.1 Determinación de los valores de pH de las muestras de saliva no estimulada.</b> .....	12

<b>5.3.2 Concentración de proteínas:</b>	12
<b>5.3.3 Electroforesis</b>	12
<b>5.4 Análisis estadístico y descriptivo de los datos</b>	12
<b>6. RESULTADOS</b>	14
<b>6.1 Variabilidad de pH en cortos periodos de tiempo según variables en estudio</b>	14
<b>6.1.1 Medición de la variación de pH salival influenciada por Inhibidor de proteasas</b>	14
<b>6.1.2 Medición de la variaciond de pH salival influenciada por temperatura y tiempo</b>	14
<b>6.2 Variabilidad de pH salival a largo plazo de acuerdo a temperatura de almacenamiento</b>	15
<b>6.2 Influencia del Ritmo Circadiano en las características proteicas cualitativas y cuantitativas en la muestra de saliva total.</b>	16
<b>Medición de la variabilidad ejercida por el ritmo circadiano frente al pH salival:</b>	16
<b>Medición de la influencia del ritmo circadiano en la Concentración de proteínas en saliva total</b>	17
<b>Valoración del efecto del ritmo circadiano en Patrón electroforetico</b>	19
<b>8. DISCUSIÓN</b>	21
<b>9. REFERENCIAS</b>	21
<b>10. Anexos</b>	30
<b>Anexo N°1: Consentimiento informado para voluntarios de estudio.</b>	30
<b>Anexo N°2: Protocolo de toma de muestra de flujo salival no estimulado</b>	38
<b>Anexo N°3: Protocolo de dieta</b>	40
<b>Anexo N°4: Precipitación de proteínas con Ácido tricloroacético (TCA)</b>	44
<b>Anexo N°5: Preparación de geles para Electroforesis</b>	46