TÍTULO DEL PROYECTO
Proteínas de Shock Térmico (HSP70) en saliva de pacientes con aparatología ortodóncica fija.

SIGLAS
BIOHSP

TIPO DE PROYECTO
Básica

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN
Salud pública estomatológica
Escuela Profesional: ESTO

ÁREA DEL CONOCIMIENTO
Biología

DURACIÓN ESTIMADA
13.17 meses

Fecha de inicio: 01/06/2019

Fecha de término: 30/06/2020

FINANCIACIÓN

N°	Convocatoria	Financiación	Monto Financianciado(S/.)	Monto Proyecto(S/.)
1	FONDO DE APOYO A LA INVESTIGACIÓN (FAIN) 2019	Financiación de FAIN	20000	13617.70

INSTITUCIÓN(ES) DONDE SE EJECUTARA EL PROYECTOS

Empresa y Área	Contacto	Correo	Teléfono
UNIVERSIDAD PRIVADA ANTENOR ORREGO. Biología Molecular, Departamento de Ciencias	EDINSON REYNALDO LARCO LEON	elarcol@hotmail.com	965068517

PARTICIPANTES

Código	Nombres	Tipo de Integrante
000168897	GUZMAN CARRANZA CLAUDIA ALEJANDRA	ESTUDIANTE
000000156	CHUNA MOGOLLON PABLO	DOCENTE
000000199	LARCO LEON EDINSON REYNALDO	COORDINADOR (INV. PRINCIPAL)

I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

¿En qué medida los aparatos de ortodoncia fijos elaboradas con aleaciones metálicas inducen la síntesis de proteínas de shock térmico extracelular (HSP70)?

II. ANTECEDENTES DEL PROBLEMA

El empleo de varias combinaciones de aleaciones en la fabricación de aparatos de ortodoncia fijos, que con mucha frecuencia son usados durante prolongados periodos de tiempo en el tratamiento de problemas ortodónticos dentales comunes, guarda especial consideración respecto a su biocompatibilidad (16). Uno de los factores que afecta esta característica es la corrosión pues las aleaciones liberan elementos o iones libres (16), cuya exposición intrabucal, representa un peligro potencial para estos pacientes dado a su toxicidad sistémica, local y carcinogenicidad (11, 16, 25).

El uso de estos artefactos ortodónticos, se garantiza porque poseen una capa anticorrosiva a base de óxido de cromo (2); sin embargo, las propiedades térmicas, microbiológicas y acuosas del ambiente oral pueden romper esta capa protectora (17). Otros factores como la masticación, cepillado, flujo salival, productos de la actividad enzimática de la flora microbiana bucal, cargas oclusales, bebidas ácidas, enjuagues bucales, etc. (3); así como también, el proceso de fabricación, tipo de aleación y característica de la superficie de las piezas (22) contribuyen aún más la corrosión dando lugar a la liberación de iones metálicos desde estos aparatos a los tejidos orales y los fluidos biológicos (17) representando un peligro potencial para estos pacientes sometidos a tratamiento de ortodoncia fijo (11, 16, 17).

Se ha medido el peligro potencial que representan estos materiales evaluando sus efectos genotóxicos (16). Al respecto, Natarajan et al. 2001, Hafez, et al. 2011 y Angelieri et al. 2011, teniendo en cuenta que los iones metálicos como el níquel y el cromo son considerados como carcinógenos químicos (18), y trabajando individualmente con sus respectivos colaboradores, midieron dicho efecto determinando la viabilidad y el contenido de metales en células epiteliales de la mucosa oral (16, 15), presencia de células micronucleadas (4, 25); así como también, evaluando anormalidades nucleares como células binucleadas, cariolisis, picnosis, yemas nucleares., etc. (10) en pacientes ortodóncicos con terapia corta y prolongada, aunque con resultados contradictorios a pesar que Amini, 2016, demostró que los niveles de níquel y cromo en fluido gingival crevicular aumentaron considerablemente entre el primer y sexto mes de iniciado el tratamiento.

También se medido la citotoxicidad de los materiales utilizados en ortodoncia en cultivos celulares, evaluando el cambio celular en cuanto a su morfología, respiración mitocondrial, actividad metabólica y enzimática de las células, liberación de sus componentes (5), y determinando la inducción de síntesis de proteínas, que bajo condiciones normales no se expresan (5, 8, 13, 24, 33).

III. FUNDAMENTACIÓN DE LAS ACTIVIDADES NO LECTIVAS

NO APLICA

III. JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO (IMPORTANCIA, BENEFICIARIOS, RESULTADOS ESPERADOS)

En las últimas décadas las exigencias de los pacientes ortodóncicos han contribuido a la mejora de las técnicas odontológicas que aborde dentro del tratamiento restaurador, no solo la salud oral sino también la estética periodontal (1, 15). Estas técnicas han incluido el uso de aparatos de ortodoncia como braquets, bandas, arcos de alambre, etc. elaborados de aleaciones metálicas a base de cromo, níquel, cobalto entre otros (4, 10, 22, 25), siendo el cromo el que se encuentra en mayor proporción (22).

En estos últimos años, diversos estudios han demostrado que, como consecuencia de la corrosión, se produce descarga de iones metálicos desde estos artefactos en los fluidos biológicos como saliva, sangre, orina, etc. Sin embargo, en relación a la concentración de estos metales en el flujo salival, como producto de este proceso químico, han encontrado resultados controversiales. Al respecto, Flores et al. 2019 y Natarajan et al. 2001 reportaron que los niveles de níquel y cromo no alcanzaron concentraciones tóxicas (10, 25); en cambio, Amini, 2016, demostró que los niveles de estos metales en fluido gingival crevicular aumentaron considerablemente. Para el cromo, reportó un incremento entre 150% a 510 % entre el primer y sexto mes con respecto al basal (antes del tratamiento) y para el cromo, entre 200% y 700%.

Se debe tener en consideración que aún en concentraciones no tóxicas pueden ser suficiente para producir cambios biológicos en los tejidos circundantes (25) sobre todo cuando el grado de hipersensibilidad causado en tejidos orales en contacto con los metales por largos periodos de tiempo se está poniendo en duda (10) y que además bajo estas condiciones, la exposición intrabucal representa un peligro potencial para estos pacientes dado a su toxicidad sistémica, local y carcinogenicidad (11, 16, 25).

Teniendo en cuenta la corrosión que sufren los aparatos de ortodoncia fijos cuando son usados por periodos prolongados de tiempo, que iones metálicos como el níquel y el cromo son considerados como carcinógenos químicos (18) y que además diferentes tipos de aparatos de ortodoncia están disponibles en el mercado mundial y los pacientes que recurren a dichas terapias, no solo por cuestiones de salud sino también por estética, se está incrementado considerablemente (4), el presente trabajo tiene como objetivo determinar si los aparatos de ortodoncia fijos elaboradas con aleaciones metálicas inducen síntesis proteínas de shock térmico (HSP70) en células de tejidos periodontales como mecanismo de reacción homeostática al aumento de metales como el cromo y níquel en el fluido salival.

IV. OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Determinar el tiempo mínimo de la expresión de HSP70 después de iniciado el tratamiento con aparatos de ortodoncia fijos.
- Comparar la expresión de HSP70 en relación a la edad de los pacientes con dicho tratamiento.

- Demostrar que la presencia de HSP70 en saliva de pacientes tratados con aparatos de ortodoncia fijo puede ser considerados como biomarcador de daño celular.

IV. OBJETIVO GENERAL

Determinar si los aparatos de ortodoncia fijos elaboradas con aleaciones metálicas inducen síntesis proteínas de shock térmico en células de tejidos periodontales como mecanismo de reacción homeostática.

V. MARCO TEÓRICO

Existe un grupo de proteínas que constituyen un mecanismo de defensa celular que son sintetizadas por las células cuando se encuentran frente a agentes estresores. Estas proteínas denominadas proteínas de estrés o de choque térmico (HSP), son una familia de proteínas esencialmente intracelulares encontradas en todas las células procariotas y eucariotas (20) e identificadas por sus pesos moleculares, por ejemplo, HSP90 y HSP 20-30 (19), los mismos que varían ligeramente entre diferentes organismos (27) y se expresan en las células bajo condiciones normales (HSPc) o bajo situaciones de estrés especialmente aquellas altamente inducibles como las HSP70 y HSP72 (8, 13, 20, 24).

Aunque inicialmente referidas como proteínas de choque térmico, porque se observó que su expresión se incrementaba con el aumento de la temperatura (33), se ha demostrado que otros factores también activan al factor de transcripción de sus genes (HSF) y por tanto su expresión como por ejemplo los análogos de aminoácidos y metales pesados (7, 33), inhibidores del metabolismo energético o quimioterápicos (13), fiebre e inflamación (7, 26), isquemia, cáncer (7, 29, 31, 32), estrés oxidativo (13), especies reactivas del oxígeno (ROS) e hipoxia (24); aunque también han sido reportados factores como los agentes quelantes de cobre, privación de glucosa y exposición al frio, y algunos parásitos (12).

Bajo condiciones fisiológicas, algunas de estas proteínas funcionan como proteasas o chaperonas moleculares intracelulares (23, 26, 33). Las primeras, como el proteosoma dependiente de ubiquitina, interviene en la degradación de proteínas dañadas o mal plegadas (26); mientras que las chaperonas moleculares interactúan con proteínas nativas facilitando su plegamiento e interviniendo en el tráfico vesicular y; con las desnaturalizadas, para evitar su agregación o simplemente replegándolas para adoptar su conformación nativa y por tanto su función (20, 23, 33). Además de estas funciones, el mantenimiento de proteínas estructurales, la translocación de proteínas a través de la membrana y a varios compartimentos celulares garantizan la función citoprotectora de las HSPs (19, 29).

Aunque estas funciones resaltan la importancia intracelular de estas proteínas en el mantenimiento de la homeostasis y por tanto, la supervivencia celular en respuesta a condiciones estresantes para la célula, ahora es conocido que estas proteínas cumplen también funciones extracelulares. Se ha demostrado que las HSP70 son secretadas por una variedad de tipos celulares en respuesta al estrés celular. Aunque carecen de la secuencia señal que le permita ingresar a la vía secretora y por tanto ser exportada (20, 27), Lancaster y Febbraio, 2005, demostraron un mecanismo para la exportación que explican la ubicación extracelular de las

HSPs descartando la vía secretora común, lisis celular y la exocitosis vía balsas lipídicas. Estos investigadores, demostraron, en células mononucledas de sangre periférica, que los exosomas, pequeñas vesículas membranosas que son secretadas por numerosos tipos celulares, intervienen en la liberación de HSPs en estado basal e inducida por el estrés cuando dichas células fueron sometidas a shock calórico a 40 y 43 °C.

Con estos hallazgos reportados por Lancaster y Febbraio, 2005, y las evidencias citadas por Fabián et al. (8) en el sentidos que las HSPS han sido encontradas en plasma sanguíneo, que la administración de HSP exógeno a células promonocíticas humanas previo al tratamiento con factor de necrosis tumoral disminuyen significativamente el número de células apoptóticas y necróticas (a través de la interacción con la superficie celular después de la internalización) y que además la administración exógena de HSP70 protege al músculo liso arterial de efectos tóxicos asociado con la superficie celular (sin la internalización), apuntan a la función de las HSP70 extracelular en la prevención de daño celular o en el replegamiento de proteínas dañadas fuera de la célula.

Todas estas observaciones indican las funciones extracelulares como han sido reportado por varios investigadores como, por ejemplo, que Las HSP70 tiene un papel de defensa de la mucosa oral reparando y manteniendo su integridad, así como también la de la mucosa del tracto gastro-intestinal superior (8); atrapan, aglutinan y opsonizan bacterias, e inhibe la adhesión patógena a la superficie de la mucosa bucal (24). También se les atribuye inducir tanto la respuesta inmune innata como la adaptativa (21, 26). Al respecto, Lancaster, 2005 reporta que las HSP70 estimula la producción de IL-1β, TNF-a, IL-6 e IL-12 y promueve la regulación hacia arriba de moléculas presentadoras de antígenos (MHCII) y coestimuladoras (CD86) en monocitos y células dendríticas.

Considerando que las proteínas de choque térmico constituyen un conjunto de proteínas citoprotectoras (19, 29) expresadas ya sea en forma constitutiva y otras inducidas (HSP70) que se sobreexpresan cuando las células se encuentran en condiciones adversas (7, 19, 20) y que cumplen también importantes funciones extracelulares (8, 9, 14), creemos que la presencia de las formas inducibles en fluidos corporales como la saliva debe ser considerada como biomarcador de la respuesta homeostática celular (19) ante la presencia, en el fluido gingival crevicular, de metales como el cromo y/o níquel que son los principales componentes de las aleaciones con las que son fabricados los aparatos de ortodoncia.

VI. HIPÓTESIS

Los aparatos de ortodoncia fijos elaborados con aleaciones metálicas inducen síntesis de proteínas de shock térmico en células de tejidos periodontales

VII. METODOLOGÍA

En el presente el estudio, se seleccionó una muestra por conveniencia de 50 individuos (25 de género masculino y 25 femenino) entre los pacientes que estaban en control médico-odontológico regular en Clínicas

privadas de la ciudad de Trujillo. A todas las personas que integraran la muestra de estudio, se les proporcionará el consentimiento por escrito el mismo que deberá firmar en señal de su aceptación.

A cada participante, se le realizará una anamnesis general, examen clínico extra e intraoral cuyos datos serán registrados en una Ficha Clínica confeccionada para el estudio.
Se excluirán del estudio a aquellos sujetos que presenten alguna patología oral o sistémica relacionada con alteraciones del flujo o composición salival, consumo de fármacos de cualquier tipo que alteren la secreción salival, consumidores de alcohol, fumadores o tratamiento de radioterapia y/o quimioterapia de cabeza y cuello.

Se les indicará a las personas incluidas en el presente estudio seguir con su higiene oral normal recomendándoles no usar pasta dental y/o enjuague bucal que contenga flúor o clorhexidina debido a que se ha reportado que dichos compuestos producen daños en DNA de las células epiteliales de la mucosa bucal (16).

El análisis de la muestra será evaluado antes del tratamiento (T0), después de 3 meses (T1), 6 meses (T2) y 9 meses (T3) después de haber colocado los aparatos de ortodoncia. Las muestras serán colectadas usando el método descrito por Schwartz et al. (32). Previo enjuague de la boca con agua destilada por 3 veces, se les hará masticar chicle de menta para estimular la salivación acumulando saliva en la boca durante dos a cinco minutos, la misma que será recogida en vasos estéril con tapa para su posterior procesamiento. Las muestras serán preaclaradas por centrifugación (20,000 x g. 4°C, 10 minutos) y filtrados usando papel de filtro (Millex-GV 0.22 mm). Los filtrados serán conservados, en viales de eppendorff de 2 ml, a temperatura de –40 °C hasta realizar el corrido electroforético.

La determinación de las HSPs en las muestras se realizará por corrido electroforético bidimensional en gel de policriamida (SDS-PAGE), descrita por Johnson & Alvares 1984 (29).

Para el análisis estadístico, se aplicará el Ji cuadrado. Las diferencias de la expresión de las HSPs inducibles entre las diferencias de las muestras, serán comparadas usando Análisis de varianza (14).

VIII. BIBLIOGRAFÍA

1. Alvarado Lorenzo, Alfonso, Mario Alvarado Lorenzo, Daniel Pellicer Castillo, Enrique Jiménez Crespo, Julio Rojo Soria. Estética en ortodoncia: un enfoque periodontal (I). JADA. 2012; 7 (4): 183-184.
2. Amini F, Borzabadi Farahani A, Jafari A, Rabbani M. In vivo study of metal content of oral mucosa cells in patients with and without fixed orthodontic appliances. Orthod Craniofac Res 2008; 11:51-6.
3. Amini, Fariborz, Mahsa Shariati, Farhad Sobouti, and Vahid Rakhshand. Effects of fixed orthodontic treatment on nickel and chromium levels in gingival crevicular fluid as a novel systemic biomarker of trace elements: A longitudinal study. Am J Orthod Dentofacial Orthop 2016; 149:666-72.

4. Angelieri, Fernanda; Viviane Carlin, Renato A. Martins, and Daniel A. Ribeiro. Biomonitoring of mutagenicity and cytotoxicity in patients undergoing fixed orthodontic therapy. Am J Orthod Dentofacial Orthop 2011;139: e399-e404.
5. Buenahora Tobar, María Rosa y Humberto José Guzman Báez. Biocompatibilidad y Citotoxicidad. Odontos. 2007.
6. Chen, Taoyong and Xuetao Cao. Stress for maintaining memory: HSP as a mobile messenger for innate and adaptative immunity. Eur J Immunol, 2010; 40: 1541-1544
7. Coronato, Silvia, Wanda di Girolamo, Margarita Salas, Osvaldo Spinelli, Graciela Laguens. Biología de las Proteínas de Shock Térmico. Medicina 1999; 59: 477-486.
8. Fábián, Tibor K., Judit Gáspár, László Fejérdy, Borbála Kaán, Mária Bálint, Péter Csermely, Pál Fejérdy. Hsp70 is present in human saliva. Med Sci Monit, 2003; 9(1): BR62-65
9. Fiorentino, S., A. Barreto y A. Asea. Proteínas de choque Térmico, Muerte Celular y Respuesta Anticelular. Universitas Scientarum. Revista de la Facultad de Ciencias. Pontificia Universidad Javeriana. 2007; 12(2): 5-22.
10. Flores Bracho, María Gabriela, Catarina Satie Takahashi, Willian Orlando Castillo, Maria Conceição Pereira Saraiva, Erika Calvano Küchler, Mírian Aiko Nakane Matsumoto, José Tarcísio Lima Ferreira, Paulo Nelson-Filho and Fabio Lourenço Romano. Genotoxic effects in oral mucosal cells caused by the use of orthodontic fixed appliances in patients after short and long periods of treatment. Clin Oral Invest 2019.
11. Giraldo R. Olga Lucía. Metales y aleaciones en odontología. Rev Fac Odont Univ Ant, 2004;15 (2):53-63.
12. Gitau, G., P. Mandal, G. Blatch, J. Przyborski and A. Shonhai. Characterisation of the Plasmodium falciparum Hsp70-Hsp90 organising protein (PfHop). Cell Stress and Chaperones. 2012; 17: 191- 202
13. Guisasola, M. R. Ramos, L. Fernandez-Quero, A. Suarez y P. García-Barreno. Proteínas de choque térmico en el estrés quirúrgico: toracotomía frente a herniorrafia. Cir Esp, 2004; 75(6):350-355.
14. Gupta, S. and A. Knowlton. HSP60 trafficking in adult cardiac myocytes: role of the exosomal pathway. Am J Physiol Heart Circ Physiol 2007; 292: H3052-H3056.
15. Gutierrez-Rojo Juan Carlos y José Félix Robles-Villaseñor. La estética en Odontología. Rev Tamé. 2012; 1(1): 24-28.
16. Hafez, Hend S., Essam Mohamed Nassef Selim, Faten Hussein Kamel Eid, Wael Attia Tawfik, Emad A. Al-Ashkar, and Yehya Ahmed Mostafa. Cytotoxicity, genotoxicity, and metal release in patients with fixed orthodontic appliances: A longitudinal in-vivo study. Am J Orthod Dentofacial Orthop 2011; 140:298-308.
17. Heravi, Farzin, Mohammad Reza Abbaszadegan, Mohsen Merati, Nadia Hasanzadeh, Ezzat Dadkhah, Farzaneh Ahrari. DNA Damage in Oral Mucosa Cells of Patients with Fixed Orthodontics Appliances
18. International Agency for Research on Cancer. IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Lyon; 1990.

19. Kregel, Kevin. Heat shock proteins: modifying factors in physiological stress response and acquired thermotolerance. J Appl Physiol. 2002; 92: 2177-2186.
20. Lancaster, G, and M. Febraio. Exosome-dependent trafficking of HSP70: A novel secretory pathway for cellular stress protein. The Journal of Biological Chemistry. 2005; 280(24):23349-23355
21. Mansilla López, Mª José. Estudio de la Función de la Heat Shok Protein 70Kda en la Patogenia de la Esclerosis Múltiple. Tesis para optar al título de doctora en Inmunología de la Universidad Autónoma de Barcelona. Barcelona, 2014.
22. Matos de Souza R, Macedo de Menezes L. Nickel, chromium and iron levels in the saliva of patients with simulated fixed orthodontic appliances. Angle Orthod 2008; 78:345-50.
23. Mayer, M. and B. Bukau. Hsp70 chaperones: Cellular functions and molecular mechanism. CMLS, Cell. Mol. Life Sci. 2005; 62: 670-684.
24. Murase, Yosukem, Kazuhiro Shimizu, Yuko Tanimura, Yukichi Hanaoka, Koichi Watanabe, Ichiro Kono and Shumpei Miyakawa. Salivary extracellular heat shock protein 70 (eHSP70) levels increase after 59 min of intense exercise and correlate with resting salivary secretory immunoglobulin A (SIgA) levels at rest. Cell Stress and Chaperones (2016) 21:261–269.
25. Natarajan, M., Sridevi Padmanabhan, Arun Chitharanjan, and Malathi Narasimhand. Evaluation of the genotoxic effects of fixed appliances on oral mucosal cells and the relationship to nickel and chromium concentrations: An in-vivo study. Am J Orthod Dentofacial Orthop 2011; 140:383-8.
26. Pockley, A. Graham. Heat shock proteins as regulators of the immune response. The Lancet; 2003; 362 (9): 469-476.
27. Sandana Mala, John Geraldine and Satoru Takeuchi. Heat Shock Proteins in Cardiovascular Stress. Clinical Medicine: Cardiology 2008:2 245–256.
28. Schlesinger, Milton. Heat Schock Protein: The Search for Functions. The Journal of Cell Biology. 1986; 103: 321 - 325
29. Schmitt, E., M. Gehrmann, M. Brunet, G. Multhoff and C. Garrido. Intracellular and extracellular functions of heat shock proteins: repercussions in cancer therapy. Journal of Leukocyte Biology. 2007; 81:15-27
30. Schwartz, S.S., W. X. Zhu, W.X. and L. M. Sreebny. Sodium Dodecyl Sulphate-Polyacrylamide Gel Electrophoresis of Human Whole Saliva. *Archs oral Biol. 1995;* 40:949-958,
31. Shu, Chih-Wen and Chung-Ming Huang. HSP70s: From Tumor Transformation to Cancer Therapy. Clinical Medicine: Oncology. 2008; 2:335-345
32. Vallespi, M. e Isbel García. Las proteínas de estrés térmico en la Inflamación y el cáncer. Biotecnología Aplicada. 2008; 25: 199-207
33. Welch, W. Mammalian Stress Response: Cell physiology Structure/Function of Stress Proteins, and Implications for Medicine and Disease. Physiological Review. 1992; 72(4): 1063-1079

CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

ACTIVIDAD	INICIO	TERMINO	JUN	JUL	AGO	SEP	OCT	NOV	DIC	ENE	FEB	MAR	ABR	MAY	JUN
1.- Preparación de instrumentos de recolección de datos y elaboración de fichas clínicas	01/06/2019	31/07/2019			--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
2.- Recolección de datos y muestras biológicas	01/07/2019	30/04/2020	--											--	--
3.- Procesamiento de Muestras	22/07/2019	15/05/2020	--											--	
4.- INFORME PARC. DEL PROYECTO	05/01/2020	31/01/2020	--	--	--	--	--	--	--		--	--	--	--	--
5.- Informe Parcial del Proyecto	05/01/2020	31/01/2020	--	--	--	--	--	--	--		--	--	--	--	--
6.- INFORME FINAL DEL PROYECTO	01/06/2020	30/06/2020	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	
7.- Informe Final del Proyecto	01/06/2020	30/06/2020	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	

PRESUPUESTO

N°	DESCRIPCIÓN	CANTIDAD	PRECIO UNIT.	SUBTOTAL(S/.)
1	VIATICOS			
1.1	ALIMENTACION - ALMUERZO	40 UNI	8	320
2	Servicios			
2.1	Fotocopiado y/o Impresiones - Reportes, informes parciales y finales	500 UNI	0.20	100
3	RECURSOS HUMANOS			
3.1	APOYO - Personal para la obtención de muestras y apoyo en el laboratorio.	4 UNI	700	2800
3.2	CONSULTOR - Asesoramiento estadístico	1 UNI	350	350
4	MATERIALES E INSUMOS			
4.1	REACTIVOS E INSUMOS - Procesamiento de muestras	1 UNI	8144.20	8144.20
4.2	REACTIVOS E INSUMOS - Toma y conservación de muestras	1 UNI	1551.50	1551.50
5	Transporte			
5.1	TRANSPORTE LOCAL - Transporte del personal a las clínica para la recolección de las muestras.	32 UNI	6	192
6	MATERIALES DE ESCRITORIO			

6.1	**Marcadores - plumón indeleble punta fina**	6 UNI	5	30
6.2	**PAPEL BOND - Fichas clínicas, toma de datos, etc.**	1 UNI	30	30
6.3	**FOTOCOPIAS - Reportes, Informes parciales y finales**	1000 UNI	0.10	100
TOTAL				**13617.7**

DOCUMENTOS SOPORTE

N°	Documento	Fecha
1	Cotización de reactivos	01/05/2019
2	Carta de Compromiso	01/05/2019

DECLARACION JURADA DE COMPROMISO Y AUTENTICIDAD DEL PROYECTO

Trujillo 30 de Abril del 2,019

Señor Doctor
Luis Cerna Bazán
Vicerrector de Investigación
Presente.-

De mi consideración:

El suscrito, EDINSON REYNALDO LARCO LEÓN docente del Departamento de Ciencias, identificado con DNI N° 17994556 y domiciliado en Plutón Mz. T. Lt 16, casa 1, Urb. San Isidro - Trujillo DECLARO BAJO JURAMENTO mi compromiso de participar como Investigador Principal y **responsable** del proyecto de investigación titulado: "***Proteínas de Shock Térmico (HSP70) en saliva de pacientes con aparatología ortodóncica fija***"; el cual es ORIGINAL Y AUTENTICO y está enmarcado en las áreas académicas y líneas de investigación priorizadas por la Universidad Privada Antenor Orrego (UPAO).

Sin otro particular, quedo de usted.

Atentamente,

EDINSON R. LARCO LEON
INVESTIGADOR PRINCIPAL
000000199

COTIZACION DE REACTIVOS/MATERIALES A UTILIZAR EN EL PROYECTO

SIGMA-ALDRICH (https: www.sigmaaldrich.com)

CODIGO	DESCRIPCIÓN	CANTIDAD	PRECIO UNIT.		SUBTOTAL		COSTO ADIC. POR IMPORTACION (45%)	SUBTOTAL	
			(S/.)	USD*	(S/.)	(USD)		(USD)	(S/.)
	MATERIALES								
	Vasos c/tapa estéril	70	2.00		140.00				140.00
	Tubos eppendorf c/tapa	1 bolsa x 500	70.00		70.00				70.00
SLGV0045L	Dispositvos filtros Millex-GV 0.22 um	1 caja x 100		277.00		277.00	124.65	401.65	1345.53
								TOTAL 1	1555.53
	REACTIVOS E INSUMOS								
H7283	HSP70 (PROTEINA ESTÁNDAR)	50 UG		445.00		445.00	200.25	645.25	2161.59
G5516	GLICEROL	1 L		118.00		118.00	53.10	171.10	573.19
L3771	SULFATO DE DODECILO (POLVO)	500 G		254.00		254.00	114.30	368.30	1233.81
M3148	2-MERCAPTOETANOL	500 ML		141.00		141.00	63.45	204.45	684.91
B8026	AZUL DE BROMOFENOL	25 G		186.00		186.00	83.70	269.70	903.50
S8887	ACRILAMIDA	1 KG		115.00		115.00	51.75	166.75	558.61
M7279	N,N'-METILBISACRILAMIDA	250 G		238.00		238.00	107.10	345.10	1156.09
B8647	AZUL BRILLANTE DE COMASSIE	1 EA		60.40		60.40	27.18	87.58	293.39
PHR1748	ACIDO ACETICO GLACIAL	1.5 ML		86.20		86.29	38.83	125.12	419.15
	KIT PROTEINAS TOTALES	1 Kit	160.00		160.00				160.00
								TOTAL 2	8144.22
								TOTAL (1+2)	**9699.75**

(*) Los reactivos cotizados en dólares americanos (USD) han sido obtenidos de SIGMA-ALDRICH (https://www.sigmaaldrich.com) actualizados hasta Abril 2019.