REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

Universidad Católica de Santa María

Facultad de Odontología

Escuela Profesional de Odontología

Análisis de la expresión proteica de los factores de virulencia en sobrenadante de cultivos de *Candida albicans* aisladas de bolsas periodontales

Tesis presentada por la Bachiller:

Rodriguez Carrasco, Michelle Angela

ORCID: 0009-0007-4898-8627

para optar el Título Profesional de Cirujano Dentista

Asesor (a):

Dr. Ponce Soto, Luis Alberto

ORCID: 0000-0001-5976-2913

Arequipa - Perú

2025

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

UCSM-ERP

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

ODONTOLOGIA

TITULACIÓN CON TESIS

DICTAMEN APROBACIÓN DE BORRADOR

Arequipa, 28 de Abril del 2025

Dictamen: 013894-C-EPO-2025

Visto el borrador del expediente 013894, presentado por:

2019802362 - RODRIGUEZ CARRASCO MICHELLE ANGELA

Titulado:

ANÁLISIS DE LA EXPRESIÓN PROTEICA DE LOS FACTORES DE VIRULENCIA EN SOBRENADANTE DE CULTIVOS DE CANDIDA ALBICANS AISLADAS DE BOLSAS PERIODONTALES

Nuestro dictamen es:

APROBADO

Titulo Profesional/Titulo de Segunda Especialidad/Grado Académico a optar:

CIRUJANO DENTISTA

29716878 - PORTILLA MIRANDA SEREY DORIS
DICTAMINADOR

29238358 - SALAS ROJAS MONICA HILDA CLEOFE
DICTAMINADOR

40022316 - OBANDO PEREDA GUSTAVO ALBERTO
DICTAMINADOR

Análisis de la expresión proteica de los factores de virulencia en sobrenadante de cultivos de Candida albicans aisladas de bolsas periodontales

INFORME DE ORIGINALIDAD

21%	17%	3%	10%
INDICE DE SIMILITUD	FUENTES DE INTERNET	PUBLICACIONES	TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	Submitted to Universidad Católica de Santa María Trabajo del estudiante	6%
2	hdl.handle.net Fuente de Internet	2%
3	tesis.ucsm.edu.pe Fuente de Internet	2%
4	mafiadoc.com Fuente de Internet	1%
5	Submitted to Universidad Cesar Vallejo Trabajo del estudiante	1%
6	repositorio.usmp.edu.pe Fuente de Internet	<1%
7	eprints.ucm.es Fuente de Internet	<1%
8	dokumen.pub Fuente de Internet	<1%

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

DEDICATORIA

A Mango, por enseñarme que el amor no muere. A Cleo, por recordármelo cada día.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por estar siempre presente en mi vida, incluso en los momentos en los que no lo digo en voz alta. A mi padre, Miguel Ángel, al hombro más firme y al corazón más blando que conozco, mi mejor amigo, el que siempre sabe cómo hacerme reír. A mi madre, Rita, por ser el alma de todo, por su amor incondicional. Y a mi hermana Angela, mi mejor amiga, quien sin necesidad de palabras siempre está ahí, entendiendo cada parte de mí y dándome la fuerza que no sabía que tenía.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

EPÍGRAFE

"El que cree que lo sabe todo es incapaz de aprender"

Epitecto

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

RESUMEN

Esta investigación se centra en el análisis de la expresión proteica de los factores de virulencia de *Candida albicans* aisladas de bolsas periodontales profundas. *C. albicans* es un microorganismo comensal del microbioma bucal, conocido por su capacidad de convertirse en un patógeno oportunista, involucrándose en infecciones odontogénicas y en la patogénesis de enfermedades periodontales. Aunque típicamente se asocia con condiciones aeróbicas, investigaciones recientes sugieren que puede sobrevivir en ambientes de aerobiosis facultativa, lo que podría representar un nuevo mecanismo de virulencia.

El objetivo de este estudio fue determinar las diferencias en la expresión proteica de *C. albicans* cultivadas en condiciones de aerobiosis pura y facultativa (10% CO_2). Se utilizaron cepas de *C. albican*s ATCC 21234 y aislados de bolsas periodontales (B1, B2, B3 y B4), cultivadas en caldo Sabouraud a 37°C durante cinco días. Posteriormente, se procesó el sobrenadante mediante electroforesis bidimensional (2D) y espectrometría de masas, identificando las proteínas expresadas en ambos grupos.

Los resultados revelaron diferencias significativas en la expresión de proteínas asociadas a la virulencia entre las cepas estándar y las aisladas de bolsas periodontales. Además, las condiciones de aerobiosis facultativa promovieron una mayor expresión de ciertas proteínas implicadas en la patogenicidad. Estos hallazgos sugieren que el ambiente periodontal influye en la modulación de los factores de virulencia de *C. albicans*, lo cual podría tener implicancias importantes para el diagnóstico y tratamiento de infecciones orales.

Palabras clave: Expresión proteica, virulencia, bolsas periodontales

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

ABSTRACT

This research focuses on the analysis of protein expression of virulence factors in *Candida albicans* isolated from deep periodontal pockets. *C. albicans* is a commensal microorganism of the oral microbiome, known for its ability to become an opportunistic pathogen, contributing to odontogenic infections and the pathogenesis of periodontal diseases. Although typically associated with aerobic conditions, recent studies suggest that it can survive in facultative aerobic environments, potentially representing a new virulence mechanism.

The aim of this study was to determine the differences in protein expression of *C. albicans* cultured under pure aerobic and facultative aerobic (10% CO_2) conditions. Strains of *C. albicans* ATCC 21234 and isolates from periodontal pockets (B1, B2, B3, and B4) were cultivated in Sabouraud broth at 37°C for five days. The supernatant was then processed using two-dimensional electrophoresis (2D) and mass spectrometry to identify the proteins expressed in both groups.

The results showed significant differences in the expression of virulence-associated proteins between the standard strain and the periodontal isolates. Furthermore, facultative aerobic conditions enhanced the expression of certain pathogenic proteins. These findings suggest that the periodontal environment influences the modulation of virulence factors in *C. albicans*, offering valuable insights for the diagnosis and treatment of oral fungal infections.

Key words: Protein expression, virulence, periodontal pockets.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

ÍNDICE

DEDICATORIA

AGRADECIMIENTOS

EPÍGRAFE

RESUMEN

ABSTRACT

INTRODUCCIÓN **1**

CAPITULO I: PLANTEAMIENTO TEÓRICO **3**

1. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN 4
   - 1.1. Determinación del problema 4
   - 1.2. Enunciado del problema 4
   - 1.3. Descripción del problema 4
   - 1.4. Justificación 6
2. OBJETIVOS 8
3. MARCO TEÓRICO 9
   - 3.1. Marco conceptual 9
     - a. *Candida albicans* 9
     - b. Periodontitis 12
     - c. Clasificación 13
     - d. Bolsa periodontal 13
     - e. Características clínicas 14
     - f. Patogénesis 15
     - g. Cromatografía líquida 16
     - h. Gel bidimensional 16
     - i. Espectrometría de masas 17
     - j. Sobredante de cultivo 18
     - k. Péptidos 18
     - l. Proteínas 19
     - m. Aerobiosis Pura 19
     - n. Aerobiosis facultativa 19

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

o. Bolsas periodontales de laboratorio 19

3.2. Análisis de antecedentes investigativos 21

CAPITULO II: PLANTEAMIENTO OPERACIONAL 26

1. TÉCNICAS, INSTRUMENTOS Y MATERIALES DE VERIFICACIÓN 27

1.1. Técnica 27

1.2. Instrumentos 29

1.3. Materiales de verificación 30

2. CAMPO DE VERIFICACIÓN 30

2.1. Ubicación espacial 30

2.2. Ubicación temporal 30

2.3. Unidades de estudio 30

3. ESTRATEGIA DE RECOLECCIÓN DE DATOS 31

3.1. Organización 31

3.2. Recursos 31

4. ESTRATEGIA PARA MANEJAR LOS RESULTADOS 31

4.1. Plan de procesamiento de los datos 31

4.2. Plan de análisis de datos 32

CAPITULO III: RESULTADOS 33

1. RESULTADOS 34

2. DISCUSIÓN 44

CONCLUSIONES 47

RECOMENDACIONES 48

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS 49

ANEXOS 57

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA Nº 1: 34

TABLA Nº 2: 35

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA Nº 1: 36

FIGURA Nº 2: 37

FIGURA Nº 3: 38

FIGURA Nº 4: 39

FIGURA Nº 5: 40

FIGURA Nº 6: 40

FIGURA Nº 7: 40

FIGURA Nº 8: 41

FIGURA Nº 9: 41

FIGURA Nº 10: 41

FIGURA Nº 11: 42

FIGURA Nº 12: 42

FIGURA Nº 13: 43

FIGURA Nº 14: 43

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO Nº 1: Autorización del coordinador principal del Laboratorio de Química y Proteínas de la UCSM 58

ANEXO Nº 2: Declaración jurada de autorizacion 59

ANEXO Nº 3: Evidencia fotográfica 60

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

INTRODUCCIÓN

Candida albicans es un hongo dimórfico que se encuentra de manera habitual en el microbioma bucal humano, desempeñando un papel dual como comensal y patógeno oportunista. Este microorganismo se asocia comúnmente con diversas infecciones, incluyendo aquellas que afectan las mucosas orales y periodontales. En particular, se ha evidenciado su implicación en la patogénesis de caries y enfermedades periodontales, especialmente en los casos de bolsas periodontales profundas, donde puede contribuir a la destrucción del tejido periodontal (1).

Un aspecto interesante de *C. albicans* es su capacidad para adaptarse a diferentes microambientes, incluyendo condiciones anaeróbicas que predominan en las bolsas periodontales, donde bacterias anaerobias estrictas son responsables de la periodontitis. Aunque *C. albicans* es considerado un hongo aeróbico por excelencia, estudios recientes han demostrado su capacidad para sobrevivir y proliferar en condiciones de aerobiosis facultativa, lo que sugiere que este fenómeno podría ser un nuevo factor de virulencia que le permite colonizar entornos hostiles (2).

El presente trabajo de tesis se propone analizar la expresión proteica de los factores de virulencia de *C. albicans* aisladas de bolsas periodontales en condiciones de aerobiosis facultativa (10% CO2). A través de un enfoque metodológico que incluye cultivos de cepas de *C. albicans* ATCC 21234 y aislados de bolsas periodontales, se buscará identificar y comparar las diferencias en la expresión de proteínas entre cultivos realizados en aerobiosis pura y aerobiosis facultativa. Esta investigación no solo aportará información valiosa sobre la adaptabilidad de *C. albicans* en entornos periodontales, sino que también podría proporcionar nuevas perspectivas sobre su papel en la patogénesis de las enfermedades periodontales.

La *Candida albicans* es un hongo dimórfico que forma parte del microbioma normal de la cavidad bucal, pero también se clasifica como un patógeno oportunista con un papel crucial en diversas infecciones humanas. Este microorganismo no solo está implicado en la generación de infecciones en las mucosas, sino que también contribuye a la patología asociada con caries y enfermedades periodontales, en particular, en aquellas lesiones que se manifiestan en las bolsas periodontales profundas. La morfología de *Candida albicans*, predominante en forma de hifa, es un factor que potencia su capacidad para invadir tejidos y evadir la respuesta inmune del hospedador.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

Las bolsas periodontales profundas crean un entorno que favorece a bacterias anaerobias, típicamente responsables de la periodontitis. Sin embargo, un rasgo distintivo de *Candida albicans* es su capacidad de adaptación a condiciones de anaerobiosis facultativa. Aunque este hongo se clasifica como un microorganismo aeróbico, investigaciones recientes sugieren que puede sobrevivir y proliferar en entornos donde la disponibilidad de oxígeno es limitada, lo que implica una posible plasticidad metabólica que podría conferirle ventajas competitivas en el ecosistema oral (2). Esta adaptación podría ser interpretada como un nuevo factor de virulencia, ampliando la comprensión de su papel en la patogénesis de enfermedades periodontales.

La expresión proteica de los factores de virulencia de *Candida albicans* en condiciones específicas, como las que se encuentran en bolsas periodontales profundas, es crucial para entender su comportamiento como patógeno. El estudio de estas diferencias en la expresión proteica puede revelar cómo este hongo se adapta a microambientes adversos y puede contribuir a la progresión de enfermedades orales. En este contexto, el objetivo de este trabajo es analizar las diferencias en la expresión proteica de cepas de *Candida albicans* aisladas de bolsas periodontales, cultivadas en condiciones de aerobiosis facultativa, específicamente en presencia de un 10% de CO_2 (3).

Para llevar a cabo este análisis, se empleará una metodología que incluye el cultivo de cepas de *Candida albicans* ATCC 21234 y cepas aisladas (B1, B2, B3 y B4) en caldo Sabouraud a 37°C, bajo condiciones de aerobiosis pura y aerobiosis facultativa. Tras cinco días de incubación, se procederá a la obtención y procesamiento del sobrenadante, que será sometido a *Candida albicans* a mastografía líquida y análisis mediante gel bidimensional. Finalmente, se utilizará espectrometría de masas para identificar y cuantificar las proteínas expresadas en ambas condiciones, permitiendo así una confrontación exhaustiva de la expresión proteica entre los grupos analizados.

Este enfoque no solo proporcionará información sobre la expresión de proteínas relacionadas con la virulencia de *Candida albicans*, sino que también contribuirá a una mejor comprensión de la dinámica del microbioma oral y su impacto en la salud periodontal. A medida que el interés en la relación entre microorganismos orales y enfermedades sistémicas aumenta, este estudio puede ofrecer nuevas perspectivas para el desarrollo de estrategias diagnósticas y terapéuticas que aborden las infecciones orales y sus complicaciones asociadas.

Se espera asimismo que los resultados de esta investigación constituyan aportes diferenciados para las cátedras investigativa en concreto y para el proceso científico de la Facultad de Odontología.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

CAPITULO I:

PLANTEAMIENTO TEÓRICO

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

1. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1. Determinación del problema

El presente trabajo de investigación tiene como objetivo analizar la influencia de la aerobiosis facultativa en la expresión de factores de virulencia de *Candida albicans* aisladas de bolsas periodontales. Este análisis es relevante, ya que *Candida albicans* es un patógeno oportunista que, además de causar infecciones en mucosas, está implicado en la patogénesis de enfermedades periodontales asociadas a la presencia de bolsas periodontales profundas. A pesar de que estas condiciones suelen ser anaerobias, se ha observado que *Candida albicans* puede adaptarse a ambientes de aerobiosis facultativa, lo que podría proporcionar una ventaja en su capacidad para persistir y contribuir a la progresión de estas enfermedades. La evaluación de la expresión proteica en condiciones de aerobiosis pura y facultativa permitirá comprender mejor los mecanismos que este hongo utiliza para sobrevivir y ejercer su virulencia en el entorno bucal.

1.2. Enunciado del problema

Análisis de la expresión proteica de los factores de virulencia en sobrenadante de cultivos de *Candida albicans* aisladas de bolsas periodontales.

1.3. Descripción del problema

1.3.1. Área del conocimiento

- Área General : Ciencias de la salud
- Área Específica : Odontología
- Especialidad : Periodoncia
- Línea o tópico : Microbiología

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

1.3.2. Operacionalización de la variable

VARIABLES	INDICADORES	SUB INDICADORES	INSTRUMENTO
Expresión proteica en *Candida albicans*	Diferencias en la expresión de proteínas según las condiciones de incubación	1) Proteínas expresadas en aerobiosis 2) Proteínas expresadas en anaerobiosis facultativa	- Análisis proteómico por espectrometría de masas

1.3.3. Interrogantes Básicas

- ¿Qué proteínas de *Candida albicans* se expresan en condiciones de aerobiosis pura en cultivos de *Candida albicans* ATCC y aisladas de bolsas periodontales?
- ¿Qué proteínas de *Candida albicans* se expresan en condiciones de aerobiosis facultativa (10% CO_2) en cultivos de *Candida albicans* ATCC y aisladas de bolsas periodontales?
- ¿Existen diferencias significativas en la expresión de proteínas de virulencia entre *Candida albicans* cultivada en aerobiosis pura y facultativa (10% CO_2)?

1.3.4. Taxonomía de la Investigación

ABORDAJE	TIPO DE ESTUDIO					DISEÑO	NIVEL
	1. Por la técnica de recolección	2. Por el tipo de dato que se planifica recoger	3. Por el número de mediciones de la variable	4. Por el número de muestras o población	5. Por el ámbito de recolección		
Cuantitativo	Experimental de laboratorio	Prospectivo	Longitudinal	Comparativo	Laboratorial	Experimental	Experimental

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

1.4. Justificación

a. Importancia

Este estudio representa una aportación significativa al campo de la microbiología oral al investigar la expresión de factores de virulencia de *Candida albicans* en condiciones de aerobiosis pura y facultativa. A diferencia de investigaciones anteriores que se han enfocado principalmente en la detección del hongo en bolsas periodontales, este trabajo examina cómo las condiciones ambientales afectan su capacidad de supervivencia y virulencia. Esta perspectiva innovadora puede generar nuevos enfoques en la prevención y tratamiento de infecciones orales, contribuyendo a una comprensión más integral de la patogénesis periodontal.

b. Relevancia científica

La investigación se centra en un área crítica de la salud bucal: la interacción entre *Candida albicans* y el entorno periodontal. Al analizar sistemáticamente cómo la variación en las condiciones de cultivo afecta la expresión de factores de virulencia, el estudio tiene el potencial de descubrir mecanismos subyacentes que facilitan la persistencia del hongo en el microbioma oral. Estos hallazgos podrían ser fundamentales para el desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas y preventivas, ofreciendo un enfoque más dirigido en el tratamiento de infecciones relacionadas con *Candida albicans*.

c. Relevancia actual

Con el 90% de la población mundial afectada por enfermedades periodontales, la necesidad de comprender mejor sus causas es apremiante. Este estudio no solo proporciona información valiosa sobre la virulencia de *Candida albicans*, sino que también busca contribuir a un enfoque más proactivo en la promoción de la salud bucal. Al identificar factores que influyen en la virulencia del hongo, se podrán diseñar intervenciones más efectivas que no solo reduzcan la incidencia de estas enfermedades, sino que también mejoren la calidad de vida de los pacientes.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

d. Factibilidad

La viabilidad de este proyecto se apoya en la disponibilidad de recursos adecuados en los laboratorios de la UCSM y el acceso a cepas de *Candida albicans* para realizar los experimentos necesarios. Además, se cuenta con un equipo de investigación multidisciplinario que proporciona el apoyo técnico y académico necesario para llevar a cabo el estudio de manera eficiente. La adecuada planificación temporal y financiera asegura que se puedan cumplir los objetivos propuestos sin contratiempos.

e. Interés personal

Mi interés en la odontología va más allá de la práctica clínica; estoy comprometida con la investigación que contribuya al avance del conocimiento en este campo. Este trabajo no solo me permitirá profundizar en la microbiología oral y sus implicaciones clínicas, sino que también representa una oportunidad para contribuir al desarrollo de soluciones innovadoras para problemas comunes en la salud bucal. Mi objetivo es utilizar los hallazgos de esta investigación para informar mejores prácticas en la odontología y ayudar a mejorar la salud de los pacientes.

f. Impacto social

La investigación también tiene un componente social significativo, ya que contribuirá a la educación y concienciación sobre la salud bucal. A medida que se compartan los hallazgos, se podrán diseñar programas de prevención que informen al público sobre la importancia del manejo de infecciones orales y su relación con la salud general. Esto podría facilitar un cambio en el enfoque de atención dental, promoviendo la salud bucal como parte integral del bienestar general de la población.

g. Contribución a la odontología moderna

Finalmente, el estudio tiene el potencial de influir en la práctica de la odontología moderna al proporcionar nuevos datos que pueden ser utilizados por profesionales para abordar de manera más eficaz las infecciones orales. Al explorar los factores de virulencia de *Candida albicans* en contextos específicos, se espera que esta

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

investigación alimente el debate académico y clínico sobre la importancia de personalizar el tratamiento de infecciones fúngicas en la práctica diaria.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo General

Analizar la expresión proteica de los factores de virulencia en sobrenadante de cultivos de *Candida albicans* aisladas de bolsas periodontales en condiciones de aerobiosis pura y aerobiosis facultativa.

2.2. Objetivo Especifico

- Identificar las proteínas expresadas en cultivos de *Candida albicans* ATCC y aisladas de bolsas periodontales bajo condiciones de aerobiosis pura.
- Identificar las proteínas expresadas en cultivos de *Candida albicans* ATCC y aisladas de bolsas periodontales bajo condiciones de aerobiosis facultativa (10% de CO_2).
- Comparar los perfiles de expresión proteica de *Candida albicans* en ambas condiciones (aerobiosis pura vs. aerobiosis facultativa) para determinar posibles diferencias en los factores de virulencia.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

3. MARCO TEÓRICO

3.1. Marco conceptual

a. *Candida albicans*

Candida albicans es un hongo dimórfico, comensal del microbioma humano, que se caracteriza por su capacidad de transformarse entre formas de levadura e hifas (Las **levaduras** son hongos unicelulares que se multiplican por gemación, las **hifas** son filamentos multicelulares que forman el cuerpo del hongo y ayudan a absorber nutrientes), lo que le confiere un perfil polimórfico. Su reproducción asexual ocurre por gemación y puede colonizar diversas áreas del cuerpo humano, incluyendo la cavidad oral, el tracto gastrointestinal y el sistema genitourinario. Aunque es un componente habitual de la microbiota, bajo condiciones favorables, como un sistema inmunológico comprometido o cambios en el ambiente local, *Candida albicans* puede convertirse en un patógeno oportunista, desencadenando infecciones que van desde candidiasis oral hasta infecciones sistémicas (1,2).

En la cavidad oral, *Candida albicans* tiene una fuerte afinidad por la lengua, la mucosa oral y las bolsas periodontales, donde puede contribuir a procesos inflamatorios. Su capacidad para secretar exoenzimas le permite degradar tejidos, lo que agrava la enfermedad periodontal. Este hongo puede proliferar en condiciones de anaerobiosis facultativa, lo que plantea interrogantes sobre su virulencia y su rol en el mantenimiento de enfermedades periodontales (2).

a.1. Morfología

Tradicionalmente, *Candida albicans* se presenta en forma de levaduras, mostrando células redondeadas u ovoides de 4-6 µm por 6-10 µm. Cuando se desarrolla en su forma filamentosa, produce hifas verdaderas y pseudohifas, lo que aumenta su capacidad de invasión y virulencia (3). En medios como el agar Sabouraud, se observan colonias cremosas y lisas con bordes regulares, lo que permite una identificación clínica y de laboratorio eficiente (4).

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

a.2. Factores de virulencia

Los factores de virulencia son esenciales para la capacidad de *Candida albicans* de establecer infecciones. Entre estos se incluyen la adherencia a las células del hospedador, la secreción de enzimas degradativas y el cambio morfológico que favorece su colonización en la mucosa oral y las bolsas periodontales (5,6).

Además de estos, otros factores como la capacidad de Candida albicans para alterar el equilibrio del sistema inmune del huésped juegan un papel crucial en su patogenicidad. Este hongo puede inducir una respuesta inflamatoria crónica, liberando mediadores proinflamatorios como citoquinas y prostaglandinas, lo que contribuye a la exacerbación de las infecciones periodontales y al daño progresivo del tejido gingival (21).

Por otro lado, su habilidad para secretar una serie de enzimas degradativas, como las aspartil proteinasas, permite que *Candida albicans* invada los tejidos del huésped, descomponiendo componentes esenciales como la laminina y el colágeno, lo que facilita su penetración y persistencia en las bolsas periodontales (22).

Estas enzimas también juegan un papel importante en la evasión de la respuesta inmune del huésped, lo que permite a *Candida albicans* escapar de los mecanismos de defensa, como fagocitosis.

El cambio morfológico entre la forma de levadura y de la hifa es otro factor de virulencia crucial. Este cambio, inducido por condiciones locales como la concentración de CO2 y el pH, le permite a *Candida albicans* adaptarse mejor a las condiciones del ambiente periodontal, facilitando su invasión en los tejidos subgingivales y su capacidad para desencadenar procesos inflamatorios que agravan las infecciones periodontales (23).

a.2.1. Adherencia

La adhesión a las células del hospedador es crucial para la colonización. Este proceso involucra mecanismos físico-químicos y específicos, donde la hidrofobicidad y las adhesinas juegan roles fundamentales en el establecimiento de relaciones comensales (5,6).

Además, las adhesinas, *Candida albicans* expresa en su superficie receptores de proteínas específicas como integrinas, fibronectina y laminina, que facilitan su anclaje a las células epiteliales y componentes de la matriz extracelular. Este proceso no solo favorece la

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

colonización inicial, sino también la formación de biopelículas resistentes al ataque del sistema inmune y a los tratamientos antifúngicos (15).

La variabilidad genética entre cepas de *Candida albicans* puede influir en la expresión de adhesinas, determinando la intensidad y eficacia de la adherencia en distintos sitios anatómicos, como la mucosa oral o las bolsas periodontales (16).

a.2.2. Enzimas degradativas secretadas

Las enzimas degradativas, como las aspartil proteinasas y fosfolipasas, son vitales para la virulencia de *Candida albicans*. Estas enzimas le permiten invadir el tejido del hospedador, degradando componentes esenciales como colágeno y laminina, lo que facilita su acceso a nutrientes y ayuda a evadir la respuesta inmune (5).

Entre las familias de enzimas degradativas, las selected aspartyl proteinasa (SAPs) representan un grupo altamente estudiado; son capaces de hidrolizar proteínas estructurales del huésped, inmunoglobulinas y componentes de complemento, debilitado las defensas locales. Estas proteinasas son codificadas por una familia de al menos 10 genes, y su expresión varia dependiendo del sitio anatómico y la fase de desinfección (17).

Las fotolipasas, por su parte, participan en la degradación de membranas celulares, favoreciendo la diseminación de la levadura hacia tejidos mas profundos y aumentando la respuesta inflamatoria, lo que contribuye a la progresión de la periodontitis asociada a *Candida albicans* (18).

a.2.3. Cambio de morfología

La capacidad de *Candida albicans* de cambiar de forma de levadura a hifa aumenta su virulencia. Este cambio es inducido por condiciones ambientales y permite a la levadura evadir el sistema inmunológico y anular respuestas inflamatorias (7). Las hifas son responsables de la invasión celular y su formación se ve favorecida por la presencia de suero, pH neutro y concentraciones adecuadas de CO_2 (7).

El cambio morfológico de la levadura a hifa no solo facilita la penetración en tejidos, sino que también induce la expresión de genes específicos de virulencia, como HWP1 y ECE1, que codifican proteínas esenciales para la adherencia y daño al tejido del hospedador. Esta

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

transición es considerada un marcador critico de patogenicidad, ya que las células hifales son más resistentes a la fagocitosis (19).

Adicionalmente, las hifas pueden formar verdaderas redes que permiten a la colonia de *Candida albicans* invadir más fácilmente capas profundas del epitelio, contribuyendo a infecciones persistentes y a la formación de biofilm en la cavidad oral y bolsas periodontales (20).

b. Periodontitis

La periodontitis es una enfermedad periodontal multifactorial caracterizada por inflamación crónica y destrucción del tejido de soporte de los dientes, asociado a biopelículas de microorganismos patógenos, incluyendo *Candida albicans*. Esta enfermedad se manifiesta a través de la formación de bolsas periodontales profundas, donde se desarrollan microorganismos anaerobios que contribuyen a la liberación de mediadores inflamatorios, como citocinas y prostaglandinas, agravando la destrucción del tejido periodontal (2,3).

Además, la periodontitis no solo afecta la encía y el hueso, sino que también puede llevar a la perdida de dientes si no se controla a tiempo, lo que resalta la importancia de identificar y tratar los patógenos involucrados, incluidos aquellos como *Candida albicans,* que a menudo se encuentran en estas infecciones crónicas (24).

En la periodontitis, la acumulación de placa bacteriana en los dientes y la formación de una biopelícula microbiana en las bolsas periodontales representan factores clave para la progresión de la enfermedad. Estos factores propician un entorno favorable para la proliferación de organismos como la *Candida albicans*, que contribuyen tanto a la inflamación crónica como degradación de los tejidos periodontales. La presencia de *Candida albicans* en las bolsas periodontales puede no solo exacerbar la condición, sino también interactuar sinérgicamente con otros microorganismos patógenos, aumentando la virulencia de la infección periodontal y dificultando el tratamiento (25).

Asimismo, se ha observado que la inflamación inducida por la periodontitis favorece el cambio morfológico de *Candida albicans*, promoviendo su transición de levadura a hifa, lo cual incrementa su capacidad de invadir tejidos y evadir el sistema inmunológico. Esta invasión es facilitada por las enzimas degradativas que secreta el hongo, las cuales contribuyen al daño tisular y a la destrucción de estructuras como el colágeno y la laminina

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

de encías y el hueso alveolar (26). En consecuencia, las infecciones periodontales pueden generar una respuesta inflamatoria mas agresiva, que perpetua la destrucción de los tejidos periodontales y aumenta la gravedad de la enfermedad.

c. Clasificación

La clasificación precisa de la periodontitis es crucial para el manejo clínico y se basa en la extensión, gravedad y progresión de la enfermedad. La clasificación más aceptada incluye periodontitis crónica, agresiva y como manifestación de enfermedades sistémicas, cada una con características específicas (4).

d. Bolsa periodontal

La bolsa periodontal es una profundización patológica del surco gingival y representa una de las características clínicas más relevantes de la periodontitis. Esta profundización puede resultar de un desplazamiento coronal del margen gingival o del apical de la unión gingival. La presencia de bolsas periodontales permite la acumulación de microorganismos, incluidos *Candida albicans*, favoreciendo la inflamación y el daño tisular (6).

Además, las bolsas periodontales proporcionan un nicho protegido donde los microorganismos pueden proliferar sin ser fácilmente eliminados por el sistema inmunológico o por los mecanismos de defensa del huésped, contribuyendo al mantenimiento de la infección crónica (27).

La formación y la profundidad de las bolsas periodontales están estrechamente relacionadas con la gravedad de periodontitis. A medida que las bolsas se profundizan, aumenta la dificultad para el acceso y la eliminación de los patógenos presentes en estas estructuras. *Candida albicans* puede colonizar las paredes de las bolsas periodontales y formar biopelículas, lo que dificulta aún más su erradicación (28).

Estos biofilms protegen al hongo de las defensas protegen al hongo de las defensas inmunológicas del huésped y de los tratamientos antimicrobianos convencionales, favoreciendo su persistencia y contribuyendo a la cronicidad de la enfermedad periodontal (29).

Por otro lado, la presencia de *Candida albicans* en las bolsas periodontales también esta relacionada con un aumento de la respuesta inflamatoria local, lo que puede inducir una

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

mayor liberación de citocinas y mediadores inflamatorios. Esto acelera la destrucción del tejido periodontal y el hueso alveolar circundante. El hongo, al adherirse a las superficies dentales y mucosas, no solo agrava la inflamación, sino que también facilita la invasión de microrganismos patógenos, potenciando la virulencia de la infección periodontal (30).

El tratamiento adecuado de las bolsas periodontales, que incluya medidas para reducir carga microbiana, es crucial para controlar la progresión de la periodontitis y prevenir la perdida dental.

e. Características clínicas

Las características clínicas de las bolsas periodontales incluyen encías engrosadas, hemorragia gingival, supuración y movilidad dental, todos signos que indican la presencia de un proceso inflamatorio activo (6,7).

Estos síntomas son manifestaciones visibles de la infección periodontal, que se desarrolla como resultado de la acumulación de microorganismos patógenos en bolsas. En el caso de *Candida albicans*, su presencia en las bolsas periodontales puede incrementar la severidad de estos signos clínicos. La formación de biopelículas en la superficie de las bolsas favorece la persistencia del hongo, contribuyendo a una inflamación mas grave y a una mayor liberación de mediadores inflamatorios (31).

Además, las encías pueden aparecer eritematosas y con mayor tendencia a sangrar, incluso con la mínima manipulación. La supuración es otro signo clave, especialmente cuando las bolsas periodontales se infectan por *Candida albicans* junto con otras bacterias patógenas. La interacción entre los patógenos puede resultar en la formación de exudados purulentos, lo que contribuye a la progresión de la enfermedad (32). En casos mas avanzados, la movilidad dental puede ser indicativo de que la destrucción del tejido de soporte esta comprometida por la actividad infecciosa crónica.

La presencia de *Candida albicans* en las bolsas también puede estar asociada con una sensación de mal sabor en la boca o un aliento desagradable (halitosis), ya que el hongo y sus productos metabólicos pueden afectar el microbiota oral, alterando la calidad de la mucosa bucal. Los pacientes con infecciones orales relacionadas con *Candida albicans* y enfermedad periodontal pueden experimentar dolor al masticar o al tocar las encías, lo que afecta su calidad de vida (33).

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

Es fundamental identificar estos síntomas tempranamente, ya que la intervención oportuna puede prevenir la progresión hacia una periodontitis mas severa y la posible pérdida de piezas dentales.

f. Patogénesis

La formación de la bolsa periodontal inicia con la inflamación del tejido conectivo del surco gingival, seguida por la acumulación de células inflamatorias y el líquido inflamatorio. Esto provoca la destrucción de fibras gingivales y la migración apical del epitelio de unión (8,5).

Este proceso inflamatorio originado por la respuesta inmunitaria frente a la presencia de patógenos, se ve exacerbado en presencia de *Candida albicans*. El hongo, al colonizar las bolsas periodontales, pude inducir una inflamación crónica que favorece la destrucción de los tejidos de soporte dental. En este contexto, las hifas de *Candida albicans* no solo invaden el epitelio de la mucosa periodontal, sino que también desencadenan una cascada inflamatoria, promoviendo la liberación de mediadores proinflamatorios como interleucinas y prostaglandinas, que incrementan la severidad de la periodontitis (34).

La patogénesis de la periodontitis asociada a *Candida albicans* también se ve influenciada por la capacidad del hongo para modificar su morfología, transformándose de levadura a hifa en ambientes anaeróbicos o con niveles bajos de oxígeno. Esta transición es crucial para la invasión de los tejidos profundos de la encía, lo que permite que *Candida albicans* se adhiera a la superficie del tejido gingival y de las bolsas periodontales, promoviendo la perpetuación de la infección. La capacidad de *Candida albicans* para formar biopelículas en las superficies dentales y de las bolsas periodontales protege al hongo de la acción del sistema inmune y de los tratamientos antimicrobianos, lo que contribuye a la cronicidad de la enfermedad (35).

El cambio morfológico de *Candida albicans*, de una forma unicelular a una forma filamentosa, también facilita la invasión de las estructuras periodontales mas profundas y la persistencia del hongo en el ambiente oral. Además, la interacción entre *Candida albicans* y otras bacterias periodontopatógenas en la biopelícula sinérgicamente potencia la patogénesis de la periodontitis, acelerando la progresión de la enfermedad y la destrucción del hueso alveolar. La respuesta inmunitaria del huésped, aunque inicialmente intenta controlar la infección, puede verse sobrepasada debido a la capacidad de *Candida albicans* para evadir la vigilancia inmune mediante cambios morfológicos y la formación del biofilm (36).

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

g. Cromatografía líquida

La cromatografía liquida es una técnica de separación utilizada para analizar y purificar compuestos químicos en una mezcla. Esta técnica, una muestra liquida se introduce en una columna, donde se separa debido a la interacción diferencial de sus componentes con una fase estacionaria (el material que recubre la columna) y una fase móvil (el líquido que fluye a través de la columna). Los compuestos presentes en la muestra se separan en función de sus diferentes afinidades con la fase estacionaria y la fase móvil, lo que permite la identificación y cuantificación de los componentes de la mezcla (37).

En el contexto de mi tesis, la cromatografía liquida es esencial para el análisis de las proteínas de *Candida albicans* aisladas de las bolsas periodontales. Esta técnica permite separar las proteínas presentes en el sobredante de los cultivos de *Candida albicans*, lo que facilita el estudio detallado de proteínas expresadas por este hongo en condiciones de aerobiosis facultativa y aerobiosis pura. Dado que mi investigación se enfoca en el análisis de la expresión proteica de *Candida albicans* en diferentes condiciones de cultivo, la cromatografía liquida resulta cultivo, la cromatografía liquida resulta ser una herramienta fundamental para separar, identificar y estudiar las proteínas virulentas que podrían estar involucradas en la patogénesis de las infecciones periodontales (38).

Al emplear cromatografía liquida, puedo obtener perfiles detallados de las proteínas secretadas por *Candida albicans*, lo que ayudara a identificar los factores de virulencia presentes en el sobredante del cultivo. Esto es clave para comprender como el hongo interactúa con el ambiente de las bolsas periodontales y como sus proteínas afectan la salud periodontal. Además, la cromatografía liquida proporciona una separación eficiente y precisa de las proteínas, permitiendo una mayor resolución y sensibilidad en la identificación de proteínas que podrían tener roles importantes en la virulencia de *Candida albicans* en la cavidad oral, especialmente en el contexto de las infecciones periodontales (37,38).

h. Gel bidimensional

El gel bidimensional (2D) es una técnica avanzada utilizada en proteómica para separar proteínas complejas en dos dimensiones: La primera basada en su carga y la segunda en su peso molecular. En la primera dimensión, las proteínas se separan según su punto isoeléctrico (pI) mediante un proceso conocido como electroforesis en gel.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

Posteriormente, en la segunda dimensión, las proteínas separadas en la primera dimensión se separan aún más en función de su peso molecular a través de una segunda electroforesis en gel (39).

Esta técnica extremadamente útil en estudios proteómicos porque permite la separación de miles de proteínas de una muestra compleja de manera eficaz y con alta resolución. Además, el gel bidimensional facilita la visualización de las diferencias en la expresión proteica bajo diversas condiciones experimentales, como las utilizadas en mi tesis, en la que se comparan las proteínas expresadas por *Candida albicans* aisladas de bolsas periodontales bajo condiciones de aerobiosis pura y aerobiosis facultativa.

El gel bidimensional permite identificar las proteínas que podrían estar involucradas en la virulencia de *Candida albicans* y su contribución a la patogénesis de la periodontitis (40).

i. Espectrometría de masas

La espectrometría de masas (MS) es una técnica analítica utilizada para identificar la composición molecular de sustancias mediante la medición de la relación masa/carga (m/z) de los iones generados. Este proceso comienza con la ionización de las moléculas en una muestra, seguida de sus análisis en un espectrómetro de masas, donde los fragmentos iónicos resultantes se separan según su m/z. Los datos obtenidos se interpretan para identificar la composición exacta y la estructura de las moléculas presentes.

La espectrometría de masas es ampliamente utilizada en la identificación de proteínas, ya que permite la fragmentación de las moléculas en sus componentes mas pequeños, que luego son identificados para obtener información detallada sobre estructura (41). Además, esta técnica permite obtener información cuantitativa sobre las proteínas presentes en una muestra (42).

En relación con el estudio la espectrometría de masas desempeña un papel crucial al permitir identificar y caracterizar las proteínas expresadas por *Candida albicans* aisladas de bolsas periodontales. Después de realizar la separación de proteínas por cromatografía liquida y gel bidimensional, la espectrometría de masas es utilizada para analizar los sobredantes de los cultivos de *Candida albicans*. A través de la fragmentación de las proteínas en péptidos mas pequeños, se genera un espectro de masas que se puede utilizar para identificar y mapear con precisión las secuencias de aminoácidos de las proteínas presentes (41).

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

j. Sobredante de cultivo

El sobredante de cultivo es la fracción liquida que pueda después de separar las células de un cultivo microbiano mediante centrifugación o filtración. Este liquido contiene una mezcla compleja de componentes, como metabólicos, productos de secreción (enzimas, toxinas, proteínas), fragmentos de membranas celulares y señales químicas emitidas por los microorganismos (43). El sobredante permite estudiar lo que los organismos liberan al medio, proporcionando información sobre sus mecanismos de adaptación, comunicación y patogenicidad (44).

En el contexto de este estudio, el análisis del sobredante de cultivos de *Candida albicans* provenientes de bolsas periodontales permite identificar las proteínas secretadas bajo condiciones específicas de oxígeno. Estas proteínas son potenciales factores de virulencia esenciales en la degradación tisular y progresión de periodontitis. Comparar el sobredante entre condiciones de aerobiosis pura y facultativa permitirá observar cómo varia la expresión de estos factores en ambientes que simulan el microambiente periodontal inflamado (45).

k. Péptidos

Los péptidos son compuestos biológicos formados por la unión covalente de dos o más aminoácidos mediante enlaces peptídicos. Son unidades fundamentales en la biología molecular, ya que actúan como hormonas, neurotransmisores, antimicrobianos, y elementos reguladores de diversas rutas celulares (46). Además, los péptidos pueden derivarse de la degradación de proteínas mayores, y su análisis puede revelar actividad biológica especifica o cambios patológicos en el tejido (47).

En el presente estudio analizamos un péptido seleccionado de cada nueva proteína presente en el sobredante de *Candida albicans* cultivada en diferentes condiciones oxigénicas permitirá identificar fragmentos proteicos relevantes en la interacción patógeno-hospedador. Algunos péptidos podrían ser responsables de la disrupción de la matriz extracelular o de la activación de procesos inflamatorios asociados a la destrucción periodontal (48).

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

l. Proteínas

Las proteínas son macromoléculas esenciales compuestas por cadenas de aminoácidos, cuya función depende de su estructura tridimensional. Participan en prácticamente todos los procesos biológicos, actuando como enzimas, receptores, transportadores, señales, o componentes estructurales (49). La expresión proteica de un organismo refleja su estado fisiológico, adaptativo y patológico frente a cambios ambientales (50).

Dentro del marco de esta tesis, el estudio de las proteínas liberadas por *Candida albicans* en condiciones de aerobiosis pura y facultativa permitirá identificar posibles factores de virulencia. Estos factores podrían explicar mecanismos específicos de daño tisular en bolsas periodontales, contribuyendo así a entender la relación entre infecciones fúngicas y progresión de periodontitis (51).

m. Aerobiosis Pura

La aerobiosis pura se refiere al crecimiento y metabolismo de un organismo en un ambiente donde la concentración de oxigeno es alta y constante, como la del aire atmosférico (aproximadamente 21% de oxígeno). En estas condiciones, los microorganismos utilizan el oxigeno como el aceptor final de electrones en su cadena respiratoria permitiendo una producción eficiente de ATP a través de la fosforilación oxidativa (52). Los organismos estrictamente aerobios dependen completamente de esta vía para su supervivencia y proliferación.

n. Aerobiosis facultativa

La aerobiosis facultativa describe la capacidad de ciertos microorganismos para adaptarse tanto a ambientes con oxigeno abundante como condiciones donde el oxigeno limitado o ausente, Estos organismos, como *Candida albicans*, pueden cambiar su metabolismo de una respiración aeróbica eficiente a procesos fermentativos o anaeróbicos cuando las condiciones ambientales lo requieren (53). Esta plasticidad metabólica les confiere una ventaja adaptativa en diferentes nichos ecológico.

o. Bolsas periodontales de laboratorio

Las bolsas periodontales de laboratorio son modelos experimentales diseñados para replicar las características clínicas fisiológicas y patológicas de las bolsas periodontales naturales

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

en un entorno controlado. Estos modelos pueden incluir cultivos celulares, cultivos microbianos en condiciones específicas, o sistemas bioingenierizados que simulan el ambiente periodontal, incluyendo factores como el pH, la disponibilidad de oxígeno, la presencia de matriz extracelular y el gradiente de nutrientes (54). El objetivo de estos modelos es estudiar la interacción de patógenos, tejidos del hospedador y condiciones ambientales de forma reproducible.

Para desarrollar un modelo de bolsa periodontal en laboratorio, se utilizarán cultivos de *Candida albicans* o bacterias periodontopatógenas en medios líquidos o solidos que imitan la composición de fluido crevicular y tejido periodontal. A veces, se emplean matrices tridimensionales de colágeno o materiales sintéticos que permiten la formación de una biopelícula, y se ajustan variables como el oxígeno, el dióxido de carbono y los nutrientes para reflejar las condiciones hipóxicas y ricas en productos inflamatorios que se presentan en bolsas reales (56).

En esta tesis, el uso de cepas de *Candida albicans* aisladas de bolsas periodontales humanas, cultivadas en laboratorio bajo condiciones controladas (aerobiosis pura y facultativa), permite emular las condiciones clínicas del periodonto enfermo. Analizar sobredante de cultivos proporciona información valiosa sobre los factores de virulencia expresados por *Candida albicans* en respuesta a ambientes que imitan la bolsa periodontal, ayudando a entender su rol en la patogénesis periodontal (55).

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

3.2. Análisis de antecedentes investigativos

a. Satala, D, et al. ***El papel de los factores de virulencia de Candida albicans en la formación de biopelículas multiespecie con patógenos periodontales bacterianos. 2022***. La enfermedad periodontal depende de la presencia de diferentes microorganismos en la cavidad oral que, durante la colonización de los tejidos periodontales, forman una comunidad de biofilm multiespecie, lo que les permite sobrevivir en condiciones adversas o facilitar una mayor colonización de los tejidos del huésped. No solo numerosas especies bacterianas participan en el desarrollo de la estructura compleja del biofilm, sino también hongos, especialmente *Candida albicans*, que a menudo habita de forma comensal en la cavidad oral. *Candida albicans* emplea un amplio arsenal de diversos factores de virulencia que favorecen su coexistencia con bacterias, lo que da como resultado una colonización exitosa del huésped y la propagación de la infección. En este artículo, destacamos varios aspectos de los factores de virulencia fúngica individuales que pueden facilitar la colaboración con los representantes bacterianos asociados de los colonizadores tempranos de la cavidad oral, las especies puente y los colonizadores tardíos directamente involucrados en el desarrollo de la periodontitis, incluidas las especies del "complejo rojo". En particular, analizamos la participación de las proteínas de la superficie celular de la *Candida albicans* (adhesinas fúngicas típicas, así como proteínas "moonlighting" originalmente citosólicas que realizan una nueva función en la superficie celular y también están presentes dentro de las estructuras de la biopelícula). Otro grupo de factores de virulencia considerados incluye las proteasas aspárticas secretadas (Sap) y otras enzimas hidrolíticas secretadas. La estructura específica de la pared celular de la *Candida albicans*, que cambia dinámicamente durante las transiciones morfológicas del hongo que favorecen la formación de la biopelícula, es igualmente importante y se analiza. Los factores no proteicos que componen la biopelícula también muestran una variabilidad dinámica al entrar en contacto con las bacterias, y sus procesos de biosíntesis podrían estar involucrados en la estabilidad de las biopelículas mixtas. En esta revisión también se enfatizan los cambios asociados a la biopelícula en el sistema de comunicación de microbios utilizando diferentes moléculas de detección de quórum de células fúngicas y bacterianas. Todos los factores de virulencia analizados que intervienen en la formación de la biopelícula mixta plantean nuevos desafíos e influyen en el diseño

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

exitoso de nuevos métodos de diagnóstico y la aplicación de terapias apropiadas en las enfermedades periodontales (9).

b. Du, Q, et al. ***Interacción entre reinos entre Candida albicans y bacterias orales 2022***. *Candida albicans* es un hongo comensal que suele vivir en la cavidad bucal y afecta a personas con inmunidad debilitada. La interacción polimicrobiana entre *C. albicans* y las bacterias orales puede afectar la composición celular y bioquímica de las biopelículas, lo que lleva a cambios en los resultados clínicos relacionados con las enfermedades orales relacionadas con las biopelículas, como la patogénesis, la virulencia y la resistencia a los medicamentos. En particular, la relación simbiótica entre *C. albicans* y las bacterias orales está bien documentada en enfermedades dentales, mucositis oral, enfermedad periodontal, enfermedades relacionadas con implantes y cáncer oral. *C. albicans* interactúa con las bacterias huésped orales a través de fluidos, señales extracelulares y alimentación cruzada metabólica. Esta revisión examina las interacciones bacterianas y fúngicas entre *Candida albicans* y diversas bacterias bucales, centrándose en los mecanismos implicados y su importancia en el desarrollo y tratamiento clínico de las enfermedades bucales (10).

c. Jabri, B, et al. *Candida albicans* ***y*** *Candida dubliniensis* ***en la periodontitis en adolescentes y adultos jóvenes. 2022.*** Este estudio tuvo como objetivo investigar la asociación de *Candida albicans* y *Candida dubliniensis* con la periodontitis adolescente en 426 sujetos marroquíes. Consigue un plato. Las muestras se incubaron en medio de cloranfenicol Sabouraud durante 24 a 48 h a 37 ° C y se separaron mediante el sistema Vitek 2 YST. Los datos clínicos sobre la presencia de *Candida albicans* y *Candida dubliniensis* se analizaron utilizando Jamovi (versión 1.8): se encontró *Candida albicans* en 25 de 68 sujetos (37%) y en 60 de 358 pacientes sanos (17%). Se puede observar que, en condiciones normales de levadura, existe una diferencia significativa entre los dos grupos (P <0,001). *Candida dubliniensis* fue más común en periodontitis que en sujetos sanos (P = 0,026). En cuanto a los cambios clínicos, uno de los periodoncistas mostró diferencias significativas en el examen periodontal, pérdida de contacto médico, etc. Las pacientes con periodontitis tuvieron un mayor número de caries dentales que aquellas con menstruación temprana o leve. Los resultados mostraron que las dos especies de *Candida* no se vieron afectadas por el sexo, la edad (P>0,05) o la gravedad de la enfermedad periodontal en personas con periodontitis. El papel potencial de *C. albicans* en la patogénesis de la periodontitis

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

es complejo. Se justifica realizar más investigaciones sobre las biopelículas asociadas con diferentes tipos de periodontitis. También es importante evaluar la coexistencia de periodontitis con caries dental y biopelículas asociadas (11).

d. Vieira Colombo, A, et al. ***Biopelícula asociada a la enfermedad periodontal: un reservorio de patógenos de importancia médica.2015***. La diversidad del microambiente periodontal puede proporcionar condiciones adecuadas para la colonización de organismos que no se consideran miembros de la microbiota oral. En este estudio, queríamos determinar la prevalencia de bacterias médicamente relacionadas en la microbiota de personas con diferentes enfermedades periodontales. La periodontitis subgingival se obtuvo de pacientes con biopelícula de periodontitis (H, n = 81), gingivitis (G, n = 55), sistémicamente agresiva (AgP, n = 36) o periodontitis (CP, n = 98) y se analizaron 39 taxones microbianos utilizando Hibridación ADN-ADN. Las diferencias microbiológicas entre grupos y la asociación de parámetros clínicos y microbiológicos se investigaron mediante pruebas no paramétricas y univariadas. N*eisseria spp., Peptostreptococcus, Candida albicans, Enterobacteriaceae, Pseudomonas aeruginosa, Cryptobacterium, Clostridium difficile* y *Olsenella spp* son abundantes en la microbiota subgingival de la población estudiada. Las especies más involucradas en la inflamación periodontal y el daño tisular en las áreas y localizaciones de los pacientes son *Enterobacteriaceae, Candida albicans, Neisseria spp, Pseudomonas aeruginosa, O. uli, Hafnia pulmonalis, S. marcescens R. sp y Filifactor alocis*. 05. Por el contrario, *Fusobacterium necrophorum*, Lactobacillus *acidophilus, Staphylococcus aureus y Streptococcuspneumoniae* se asociaron con la salud periodontal ($p < 0,05$). En la microbiota periodontal se puede encontrar una gran cantidad y abundancia de bacterias clínicamente importantes. Ya sea que desempeñen un papel en la salud o la enfermedad periodontal, las biopelículas periodontales pueden ser una fuente de propagación de estos patógenos y el desarrollo de enfermedades sistémicas. virus de ADN (12).

e. Negrini, T., et al. ***Biopelículas de Candida y bacterias e interacciones entre el huésped y el microbio en enfermedades bucodentales. 2019.*** La cavidad bucal alberga una comunidad microbiana compleja y muy diversa. Las interacciones entre reinos entre *Candida* y las bacterias orales son importantes para la coexistencia, lo que puede influir en el curso y la gravedad de las infecciones asociadas a bacterias.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

Candida albicans se ha encontrado en biopelículas polimicrobianas asociadas con estomatitis dental, mucositis oral, caries, enfermedad periodontal, periimplantits y enfermedades del conducto radicular. Por lo tanto, es importante aclararlos mecanismos de interacción entre *Candida* y las bacterias y su impacto en la enfermedad y la gravedad de las enfermedades asociadas con el transreino de biopelículas. Aquí, mostramos el papel de las interacciones entre *Candida* y las bacterias en la patogénesis de las enfermedades bucales, especialmente las enfermedades de las mucosas y las enfermedades dentales. También se investigó el efecto de la biopelícula entre *Candida* y las bacterias sobre la respuesta inmune de la mucosa. Finalmente, consideramos algunas estrategias médicas y terapéuticas actuales para gestionar las interacciones de reacción cruzada y sus efectos adversos en las enfermedades bucales (13).

f. Slazhneva, E., et al. ***Detección de especies de Candida en pacientes con periodontitis crónica: una revisión sistemática y un metanálisis. 2022.*** Evaluar la prevalencia y composición de especies de *Candida* en bolsas periodontales en fase crónica (PC) a través de un metaanálisis: se realizó una búsqueda de artículos publicados entre el 1 de enero de 2010 y el 1 de octubre de 2020. en inglés y ruso, incluidas en las bases de datos electrónicas MEDLINE-PubMed, Google Scholar, Cochrane Library, Clinical Trials.gov, Research Gateway, eLIBRARY y Cyberleninka. Los oddsratios (OR), las diferencias de medias estandarizadas (DME) y los intervalos de confianza (IC) del 95 % se calcularon utilizando Analysis Manager 5.4.1 para comparar el riesgo de desarrollar PC cuando se detectó Candida spp. La cantidad de Candida en el surco gingival o bolsas periodontales. Se incluyeron 26 estudios en la revisión sistemática y 11 estudios en el metaanálisis. Los resultados mostraron que *Candida spp*. puede aumentar las probabilidades de desarrollar PC en 1,76 veces (OR = 1,76; IC 95% = 1,04-2,99; p = 0,04). Más *Candida spp*. La prevalencia fue mayor en pacientes con PC que en pacientes periodontalmente sanos (DME = 1,58; IC 95% = 0,15-3,02; p = 0,03). Encontramos que *C. albicans* aumenta el riesgo de PC no significativa, pero se necesita más investigación para confirmar la PC. El papel específico de *Candida spp*. En la enfermedad periodontal inflamatoria (1).

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

4. HIPÓTESIS

Dado que, la *Candida albicans* es un microorganismo del microbioma bucal que actúa como un patógeno oportunista:

Es probable que, la expresión proteica de los factores de virulencia en cepas aisladas de bolsas periodontales, cultivadas en condiciones de aerobiosis facultativa (10% CO_2), difiera significativamente de aquellas cultivadas en aerobiosis pura, lo que sugiere que las condiciones ambientales influyen en su capacidad de virulencia y morfología.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

CAPITULO II:

PLANTEAMIENTO OPERACIONAL

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

1. TÉCNICAS, INSTRUMENTOS Y MATERIALES DE VERIFICACIÓN

1.1. Técnica

1.1.1. Especificación

Se utilizó la técnica de cultivo microbiológico.

1.1.2. Esquematización

Variable	Técnica	Instrumento
Expresión proteica en *Candida albicans*	Observación y comparación	Electroforesis bidimensional (2-DE o 2D-PAGE)
		Análisis de secuencia por espectrometría de masas (ESI-QTOF)

1.1.3. Descripción de la técnica

En el presente estudio se trabajará con dos tipos de cepas de *Candida albicans*: la cepa de referencia ATCC 21234 y cuatro cepas clínicas aisladas específicamente de bolsas periodontales profundas, denominadas B1, B2, B3 y B4 (Placas diferentes). Esta selección permitirá comparar las diferencias entre una cepa estándar de laboratorio y cepas que han estado expuestas al microambiente periodontal, caracterizado por hipoxia, variaciones de pH y presión de CO_2 elevada (62).

Cada una de las cepas será cultivada en caldo Sabouraud, un medio de cultivo especializado para hongos que contiene peptona y glucosa, ingredientes que favorecen el crecimiento de *Candida* spp (63). Los cultivos se incubarán a una temperatura de 37 °C, que simula las condiciones fisiológicas humanas, durante un periodo de 5 días, permitiendo el desarrollo celular y la secreción de proteínas al medio.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

La incubación de las cepas se realizará bajo dos condiciones atmosféricas diferentes:

- Aerobiosis pura, es decir, en presencia de oxígeno ambiental normal.
- Aerobiosis facultativa con 10% de CO_2, condición que imita el ambiente subgingival profundo, donde las concentraciones de oxígeno son bajas y la presión parcial de dióxido de carbono es elevada (64).

Al cabo de los 5 días de incubación, se procederá a la recolección del sobrenadante de cada cultivo. El sobrenadante es la fracción líquida sobrenadante obtenida después de la centrifugación, que contiene proteínas secretadas al medio por las células fúngicas, representando una fuente directa de los factores de virulencia liberados en respuesta a estímulos ambientales (65).

Una vez obtenidos los sobrenadantes, se llevará a cabo la concentración y preparación de las proteínas contenidas en ellos para su posterior análisis. Para el estudio de los perfiles proteicos se aplicarán dos técnicas complementarias:

- **Cromatografía líquida**: técnica que permite la separación preliminar de los componentes proteicos en base a sus propiedades fisicoquímicas, mejorando la resolución y la identificación en análisis posteriores (66).
- **Gel bidimensional (2D-PAGE):** las proteínas serán separadas por su punto isoeléctrico y por su peso molecular en dos dimensiones consecutivas, obteniendo así un patrón complejo que refleja la diversidad proteica de la muestra (67).

Finalmente, los spots de interés serán excisados de los geles y analizados mediante espectrometría de masas, una técnica analítica que permite identificar proteínas específicas al determinar la masa de sus péptidos constituyentes (68). Esta identificación precisa facilitará la asociación de las proteínas encontradas con funciones biológicas relevantes como adhesión celular, formación de biopelículas, evasión del sistema inmune y morfogénesis hifal, todos factores

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

esenciales en la patogénesis de *Candida albicans* en el contexto de la enfermedad periodontal.

Esta metodología combinada —cultivo diferencial, separación proteica y análisis molecular— permitirá no solo identificar proteínas específicas de virulencia, sino también comparar el impacto de las condiciones ambientales sobre su expresión, proporcionando una visión más profunda de los mecanismos adaptativos de *Candida albicans* en ambientes periodontales.

1.1.4. Diseño investigativo

Tipo: Laboratorial

Básico de diseño: Experimental

1.2. Instrumentos

1.2.1. Instrumentos documentales

a. Especificación

Se empleó la cromatografía liquida, espectometría de masas (Peso seco del biofilm) y el análisis proteómico por espectometría de masas en función a las variables y sus indicadores.

b. Modelo de los instrumentos

1. Electroforesis bidimensional (2-DE o 2D-PAGE)
2. Análisis de secuencia por espectrometría de masas (ESI-QTOF).

1.2.2. Instrumentos mecánicos

- Autoclave
- Mechero
- Balanza
- Incubadora a 37ºC
- Sistema de cromatografía líquida
- Equipos para gel bidimensional
- Espectrómetro de masas

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

1.3. Materiales de verificación

- Placas Petri
- Caldo Sabouraud
- Cepas de *Candida albicans* ATCC 21234
- Cepas de *Candida albicans* aisladas de bolsas periodontales profundas (B1, B2, B3 y B4)
- Guantes descartables
- Barbijo
- Gorro
- Pinzas

2. CAMPO DE VERIFICACIÓN

2.1. Ubicación espacial

2.1.1. Ámbito general

Se llevó a cabo en la ciudad de Arequipa.

2.1.2. Ámbito Específico

Laboratorio de Química de Proteínas-VRI de la Universidad Católica de Santa María.

2.2. Ubicación temporal

La investigación fue realizada en el Semestre Par del año 2024.

2.3. Unidades de estudio

2.3.1. Alternativa

Grupos.

2.3.2. Identificación de los grupos

Grupo experimental 1: *Candida albicans* ATCC 21234

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

Grupo experimental 2: *Candida albicans* aisladas de bolsas periodontales (B1, B2, B3 y B4).

3. ESTRATEGIA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

3.1. Organización

- Preparación de las unidades de estudio

- Se trabajará con cepas de *Candida albicans* ATCC 21234 y cepas aisladas de bolsas periodontales. Las cepas se cultivarán en caldo Sabouraud a 37°C en condiciones de aerobiosis pura y aerobiosis facultativa (10% CO_2) durante 5 días.

3.2. Recursos

a. Recursos Humanos

a.1. Investigadora : Rodríguez Carrasco Michelle Angela
a.2. Asesor : Ponce Soto Luis Alberto

b. Recursos Físicos

Laboratorio de Química de Proteínas F- 401.

c. Recursos Económicos

Propios de la investigadora.

d. Recursos Institucionales

UCSM.

Biblioteca de la Universidad Católica de Santa María

4. ESTRATEGIA PARA MANEJAR LOS RESULTADOS

4.1. Plan de procesamiento de los datos

Análisis de datos, mediante comparaciones de ambas cepas, en la cepa que estuvo bajo aerobiosis facultativa, evaluar las proteínas encontradas mediante gráficos 3D y su relevancia en el estudio.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

4.2. Plan de análisis de datos

Se realizará un análisis comparativo para comparar la expresión proteica de las cepas de *Candida albicans* cultivadas en diferentes condiciones (aerobiosis pura vs. aerobiosis facultativa). Se establecerá un nivel de significancia. En caso de que se encuentren diferencias significativas y en que afectan estas nuevas moléculas que se encuentren en el cultivo con aerobiosis facultativa.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

CAPITULO III:
RESULTADOS

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM
UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

1. RESULTADOS

Péptidos encontrados por espectometria de masas ESI-QTOF MS/ MS en el sobredante de cultivos de *Candida albicans* ATCC21234 y analizados con el software DNAStar versión 6.0. Se muestran para cada spot (Ca_01-Ca_05) el número de acceso (Accession), la secuencia de aminoácidos deducida, la masa molecular aproximada (Mm) y el punto isoeléctrico (pI)

TABLA Nº 1:

N	SPOT	ACCESSION	Secuencia del Péptido	Mm	pI
1	Ca_01	P39012.1	…DVTQFGRIVDSTFRSVNNLLEKFHQSFFFYLMLSPK…	4311.95	8.76
2	Ca_02	G1UBC2.2	…VKPITSTDCTTPIQPTGTTTGYTKDVVESTSYTTDTAYTTTVITVTK…	4989.50	4.49
3	Ca_03	C4YHA6.1	…SSSTPLTTTTEHDTTVVTVTSCSNSVCTESEVTTGVIVITSK…	4303.71	4.28
4	Ca_04	Q59PF9.2	…HSTSKHSTHATTSKHSTTESTSGITSKHSTHATSSKYSTVESSSSFASTS…	5184.36	9.44
5	Ca_05	Q59PF9.2	… VKAEIVKGKCCLPSGFRIVTDFESNCPEFDAIKQFFGSSQIIYK…	4943.75	7.85

Proteínas identificadas procedente de cultivo de *Candida albicans*, identificando los péptidos por más spectrometry ESI-Q-TOF_MS/MS y Analizados por el Software DNA Star. Ver. 6.0 a través de BLAST

Identificación de los spots proteicos Ca_01-Ca_05 mediante espectrometría de masas ESI-QTOF MS/MS y análisis en la base de datos UniProtKB/Swiss-Prot (motor de búsqueda BLAST). Se indican para cada spot la molécula identificada, el organismo de procedencia y el número de acceso correspondiente

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

TABLA Nº 2:

	Spot	Molécula	Organismo	ACCESION
1	Ca_01	GPI transamidasa	Saccharomyces cerevisiae S288C	P39012.1
2	Ca_02	Cell wall adhesin EAP1	Candida albicans SC5314	G1UBC2.2
3	Ca_03	Hyphal wall protein 1	Candida albicans WO-1	C4YHA6.1
4	Ca_04	Hyphal wall protein 2	Candida albicans SC5314	Q59PF9.2
5	Ca_05	Cell wall protein RBT1	Candida albicans SC5314	Q59TP1.2

Proteínas identificadas procedente del cultivo de *Candida albicans* de los spots proteicos mediante espectrometría de masas ESI-QTOF MS/MS. En la base de datos UniProtKB/Swiss-Prot. A través de BLAST

Electroforesis bidimensional 2D del sobredante de cultivos de *C.albicans* ATCC 21234. Mapa de referencia (control).

El gel bidimensional (2D) de electroforesis en gel policrilamida (SDS-PAGE) mostrado en el Figura N1 corresponde al sobredante de cultivos de *Candida albicans* ATCC 21234, analizando mediante su punto isoeléctrico y masa molecular, con ayuda del software PD Quest Basic versión 8.0.1 (Bio Rad, CA, USA), y revelado mediante tinción.Los péptidos visualizados fueron posteriormente identificados mediante espectrometría de masas ESI-QTOF MS/MS. Esta figura representa el mapa de referencia correspondiente al control, bajo condiciones de aerobiosis pura. Se identificaron cinco “spots” principales, con un rango de masa molecular entre 10 y 80 kDa, y puntos isoeléctricos (pI) comprendidos entre 5.0 y 10.0

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM
UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

FIGURA Nº 1:

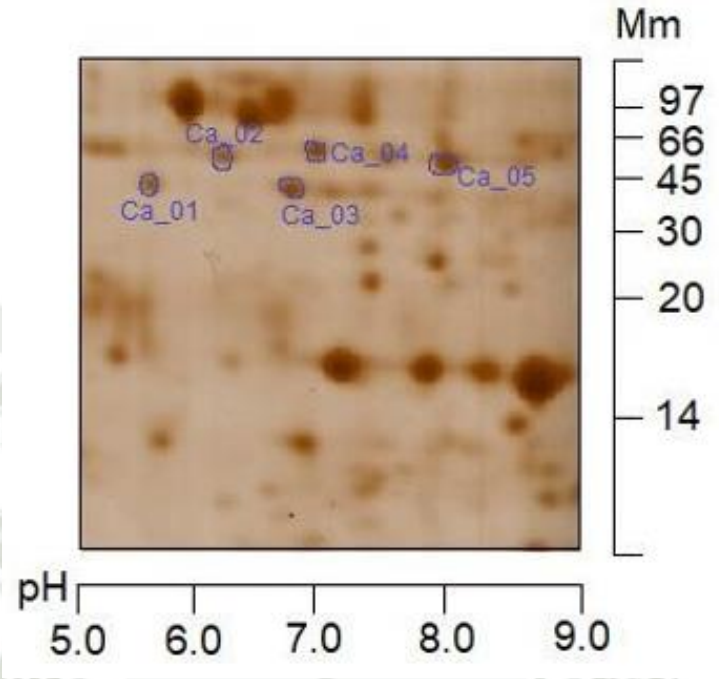


Imagen bidimensional 2D del gel de electroforesis de *Candida albicans* de la cepa ATCC 21234, Obtenido del software PD Quest Basic versión 8.0.1 (Bio Rad Ca. USA), encerrado con azul. Fueron identificadas como Ca_01, Ca_02, Ca_03, Ca_04 y Ca_05 respectivamente (Elaboración propia)

Electroforesis bidimensional 2D de *Candida albicans* cultivada hasta la formación de hifas (mapa experimental)

El gel bidimensional (2D) de electroforesis en gel de policrimalida (SDS-PAGE) mostrado en la figura 2 corresponde al sobredante de cultivos de *Candida albicans* ATCC 21234 sometidos a condiciones de aerobiosis facultativa (10% CO2) que inducen la transición a la fase hifal. La separación de proteínas por punto isoeléctrico y masa molecular se analizó en el software PD Quest Basic versión 8.0.1 (Bio-Rad, CA, USA) y la tinción permitió visualizar los “spots” proteicos

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM
UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

FIGURA Nº 2:

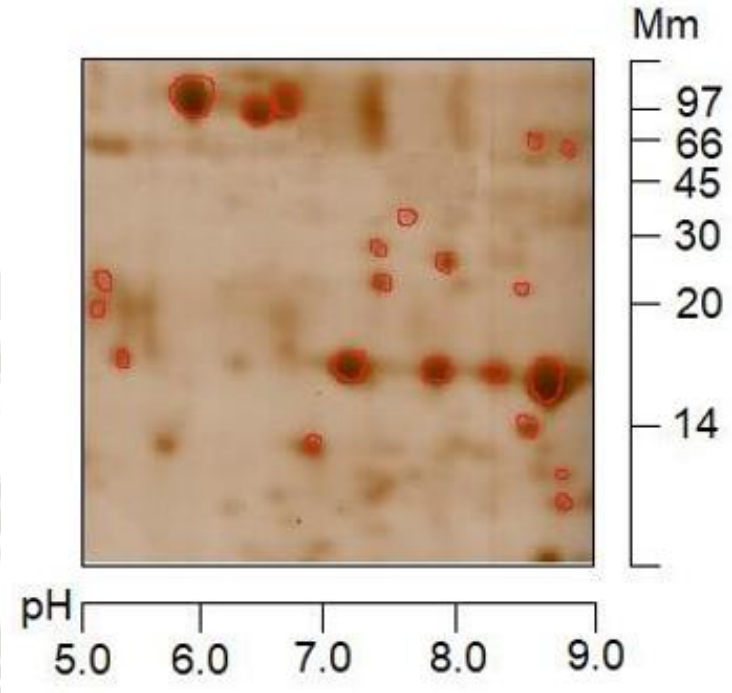


Imagen bidimensional de Electroforis bidimensional 2D de *Candida albicans* cultivadas hasta la aparición de hifas, Obtenido del software PD Quest Basic versión 8.0.1 (Bio Rad Ca. USA), encerrado con rojo. (Elaboración propia)

Electroforesis tridimensional (3D) del sobredante de *Candida albicans* ATCC 21234. Mapa de referencia (control)

El modelo tridimensional (3D) de la electroforesis bidimensional, obtenido a partir del mismo gel del grafico 1, muestra la topografía de cinco "spots" proteicos principales (Ca_01 a Ca_05) del sobredante de *Candida albicans ATCC* 21234 cultivada en aerobiosis pura .Este grafico 3D se generó con el software PD Quest Basic versión 8.0.1 (Bio-Rad, CA, USA), tras digitalizar la imagen y cuantificar el volumen de cada "spot". En este mapa de referencia, los picos proteicos se extienden en un rango de masa molecular de 10 a 80 kDa y pI entre 5.0 y 10.00. Los spots Ca_01 y Ca_05 presentan los volúmenes más altos, indicando que son las proteínas más abundantes en el control, mientras que Ca_03 muestra un volumen intermedio. La distribución uniforme de los picos sugiere la expresión estable de estas proteínas bajo condiciones estándar del cultivo.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM
UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

FIGURA Nº 3:

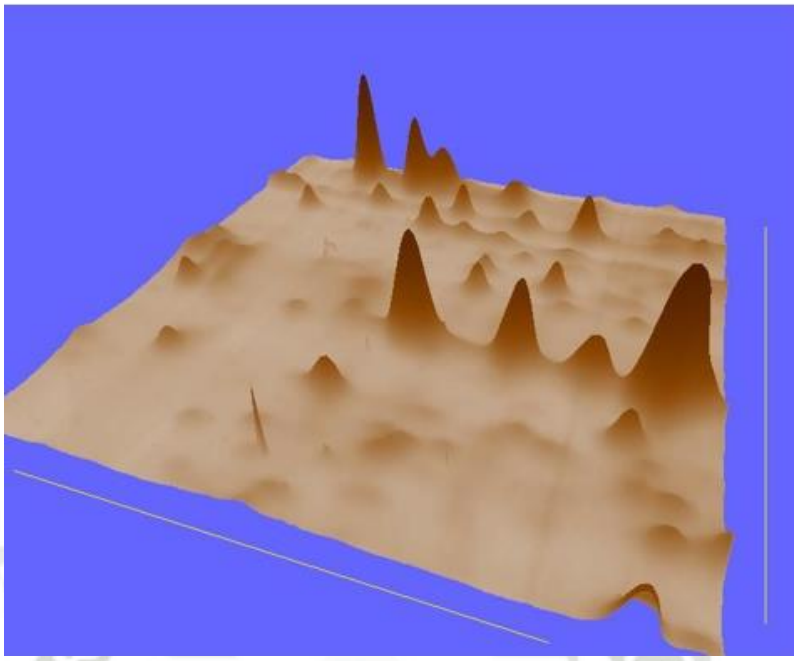


Imagen tridimensional del gel de electroforesis tridimensional 3D del extracto de proteínas expresadas de *Candida albicans* cepa ATCC 21234 aisladas en bolsas periodontales, Obtenido del software PD Quest Basic versión 8.0.1 (Bio Rad Ca. USA), (Elaboración propia)

Electroforesis tridimensional (3D) del sobredante de *Candida albicans* ATCC21234 inducida a formación de hifas (mapa experimental)

El grafico tridimensional (3D) de la electroforesis bidimensional correspondiente a la la figura 2 muestra la topografía de los cinco "spots" proteicos principales (Ca_01 a Ca_05) en el sobredante de *Candida albicans* ATCC21234 cultivada bajo condiciones de aerobiosis facultativa generado con el software PD Quest Basic versión 8.0.1 (Bio-Rad, CA, USA) a partir de la digitalización de la tinción de plata, cuantificado el volumen óptico de cada spot.

En este mapa experimental, los picos Ca_02 y Ca_03 presentan aumento notable en el volumen relativo en comparación con el control, lo que refleja una sobre expresión de proteínas adhesinas y hifales bajo la influencia de CO2. Los cinco picos abarcan masas moleculares entre 10 y 80kDa y puntos isoeléctricos (pI) de 5.0 a 10.0, evidenciando un reordenamiento del proteoma en respuesta al estímulo de formación de hifas.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

FIGURA Nº 4:

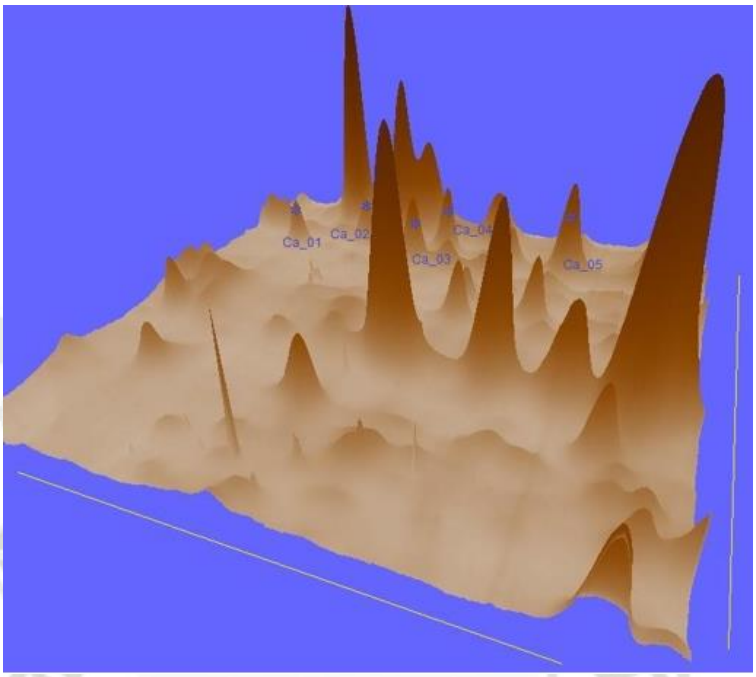


Imagen tridimensional del gel de electroforis tridimensional 3D de *Candida albicans* cultivadas hasta la aparición de hifas, Obtenido del software PD Quest Basic versión 8.0.1 (Bio Rad Ca. USA), encerrado con azul. Fueron identificadas como Ca_01, Ca_02, Ca_03 , Ca_04 y Ca_05 respectivamente.(Elaboración propia)

Electroforesis bidimensional (2D) en SDS-PAGE a partir del sobrenadante de cultivos de *Candida albicans* aisladas de bolsas periodontales profundas.

La electroforesis bidimensional (2D) permitió detectar componentes proteicos. La expresión proteica del sobrenadante de cultivos de *Candida albicans* fue analizada mediante electroforesis bidimensional (2D) en geles SDS-PAGE, revelando más de 40 spots proteicos diferenciados.

Estas proteínas fueron asignadas preliminarmente a diversas familias funcionales utilizando bases de datos como Swiss-Prot y NCBI, y codificadas con una letra y un número consecutivo desde el CA101 hasta el CA140. El spot CA135 fue seleccionado para digestión tríptica y posterior análisis mediante espectrometría de masas por electrospray (ESI-MS/MS), siendo identificado en la base MASCOT como una proteína relacionada con adhesinas de superficie, implicadas en la virulencia de *Candida albicans.*

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

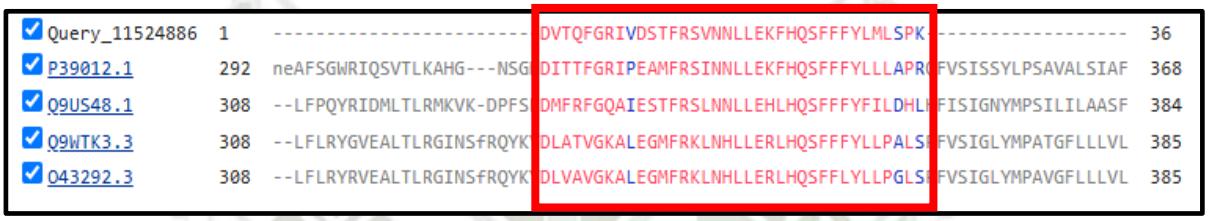
REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

Estudio de homología secuencial de los péptidos diferenciados, de las secuencias relacionadas a las proteínas encontradas.

Los estudios de Homología secuencial mostraron el más alto score de identidad (100%) y de acuerdo al porcentaje de secuencia consultada en el banco de datos de UniProtK/Swiss-Prot, los resultados de identidad se presentan en la figura, que corresponde a la secuencia encerrada en la caja.

FIGURA Nº 5:



Secuencia de GP1 transamidasa del organismo Saccharomyces cerevisiae S288C, comparada con otras secuencias de la base de datos NCBI (http://blast.ncbi.nlh.gov/Blast.cgi) de las bolsas periodontales donde se cultivo la *Candida albicans* en un entorno aerobitico facultativo

FIGURA Nº 6:

Secuencia de Cell Wall Adhesin EAP1 del organismo *Candida albicans* SC5314, comparada con otras secuencias de la base de datos NCBI (http://blast.ncbi.nlh.gov/Blast.cgi) de las bolsas periodontales donde se cultivó la *Candida albicans* en un entorno aerobitico facultativo

FIGURA Nº 7:

Secuencia de Hypal Wall Protein 1(HWP1) del organismo *Candida albicans* WO-1, comparada con otras secuencias de la base de datos NCBI (http://blast.ncbi.nlh.gov/Blast.cgi) de las bolsas periodontales donde se cultivo la *Candida albicans* en un entorno aerobitico facultativo

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM
UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

FIGURA Nº 8:

Secuencia de Hypal Wall Protein 2 (HWP2) del organismo *Candida albicans* SC5314, comparada con otras secuencias de la base de datos NCBI (http://blast.ncbi.nlh.gov/Blast.cgi) de las bolsas periodontales donde se cultivo la *Candida albicans* en un entorno aerobitico facultativo

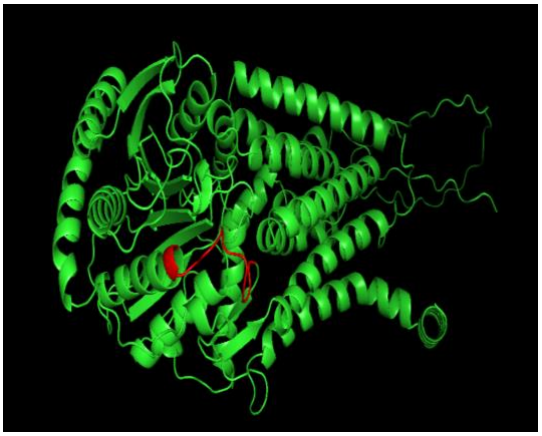
FIGURA Nº 9:

Secuencia de Cell Wall Protein RBT1 (RBT1) del *Candida albicans* SC5314, comparada con otras secuencias de la base de datos NCBI (http://blast.ncbi.nlh.gov/Blast.cgi) de las bolsas periodontales donde se cultivo la *Candida albicans* en un entorno aerobitico facultativo.

Proteínas encontradas en la cepa de *Candida Albicans* desarrollada en aerobiosis facultativa, resaltando el péptido encontrado mediante la espectometria de masas en 3D

FIGURA Nº 10:

Diseño 3D de la molécula GPI transamidasa señalando el péptido DVTQFGRIVDSTFRSVNNLLEKFHQSFFFYLMLSPK del organismo *Saccharomyces cerevisiae* S288C



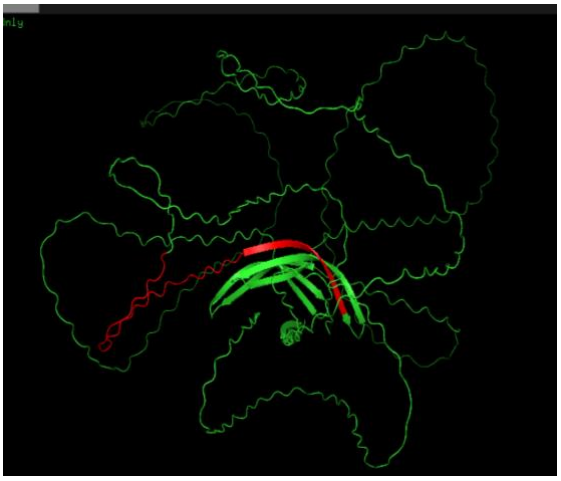
Complejo responsable de anclar proteínas a la membrana celular mediante el agregado del anclaje GPI-glicosilfosfatidilinositol. Participa en la remodelación de la pared fúngica y adhesión del huésped (Elaboración propia)

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM
UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

FIGURA Nº 11:

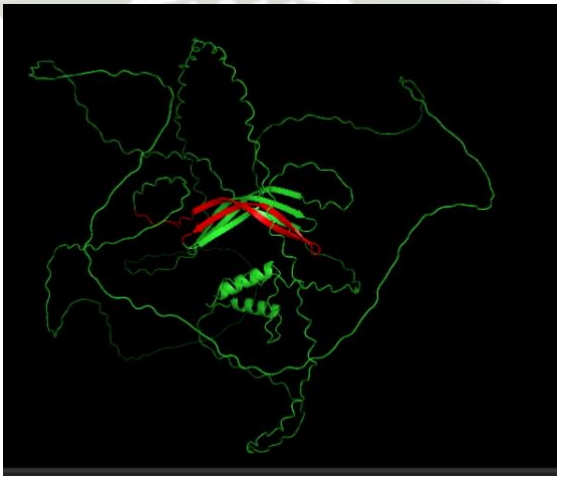
Diseño 3D de la molécula Cell wall adhesin EAP1 señalando el péptido VKPITSTDCTTPIQPTGTTTGYTKDVVESTSYTTDTAYTTTVITVTK en rojo, pertenece al organismo *Candida albicans* SC5314



Proteína de adhesión anclada a la pared celular que facilita la unión de *Candida albicans* a superficies epiteliales. Es clave en la formación de biopelículas. (Elaboración propia)

FIGURA Nº 12:

Diseño 3D de la molécula Hyphal wall protein 1 señalando el péptido SSSTPLTTTTEHDTTVVTVTSCSNSVCTESEVTTGVIVITSK en rojo, pertenece al organismo *Candida albicans* WO-1



Adhesina especifica en la fase hifal, esencial para la adhesion firme a células epiteliales humanas. Participa en la patogenicidad y en la transición de levadura a hifa. (Elaboración propia)

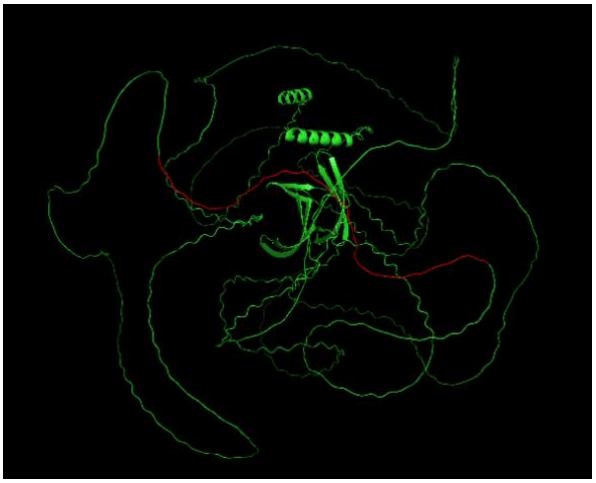
Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

FIGURA Nº 13:

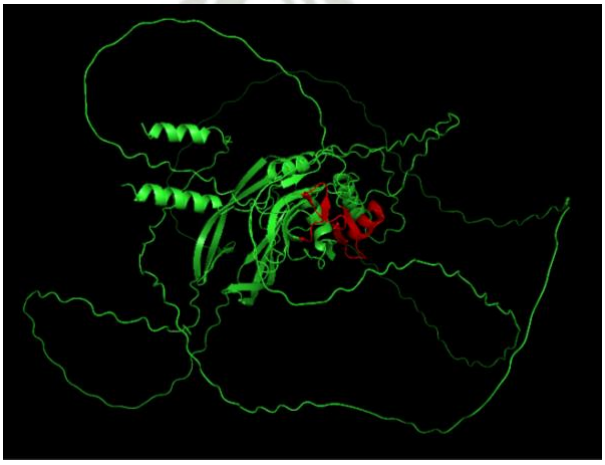
Diseño 3D de la molécula Hyphal wall protein 2 señalando el péptido HSTSKHSTHATTSKHSTTESTSGITSKHSTHATSSKYSTVESSSSFAST en rojo, pertenece al organismo *Candida albicans* SC5314



Proteína de superficie asociada a la fase filamentosa de *Candida albicans*, involucrada a la interacción con el sistema inmunológico del huésped y en crecimiento invasivo. (Elaboración propia)

FIGURA Nº 14:

Diseño 3D de la molécula l wall protein RBT1 señalando el péptido VKAEIVKGKCCLPSGFRIVTDFESNCPEFDAIKQFFGSSQIIYK en rojo, pertenece al organismo *Candida albicans* SC5314



Proteína de pared celular inducida por hifas, vinculada con la adhesión, la evasión del sistema inmune y la remodelación estructural durante la invasión tisular. (Elaboración propia)

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

2. DISCUSIÓN

El presente estudio tuvo como objetivo analizar la expresión de proteínas de *Candida albicans* aisladas de bolsas periodontales, cultivadas en condiciones de aerobiosis pura y aerobiosis facultativa con 10% de CO_2, a fin de identificar diferencias en los factores de virulencia involucrados en su patogenicidad. El análisis proteómico reveló la presencia de proteínas relacionadas directamente con la adhesión celular, formación de biopelículas, evasión del sistema inmune y el desarrollo de estructuras hifales, las cuales son fundamentales en la progresión de la enfermedad periodontal.

En condiciones de aerobiosis pura, se identificó la presencia de proteínas como GPI transamidasa, HWP1, EAP1 y RBT1. La GPI transamidasa, enzima esencial para anclar proteínas a la membrana celular mediante enlaces GPI, cumple una función crucial en la localización de adhesinas y otras proteínas de superficie. Esta enzima ha sido reconocida como un factor determinante en la biogénesis de proteínas que promueven la virulencia fúngica (57). Su identificación en el sobrenadante de cultivos bajo condiciones de aerobiosis sugiere que incluso en ambientes con oxígeno disponible, *C. albicans* prepara su maquinaria patogénica, permitiéndole interactuar con células huésped o superficies abióticas, como las raíces dentales expuestas.

En ese mismo ambiente, la detección de HWP1 es de particular importancia. Esta proteína, exclusiva de la fase hifal de *C. albicans,* está íntimamente relacionada con la adhesión firme a células epiteliales humanas y con la formación de biopelículas estables. Estudios previos han demostrado que mutaciones o deleciones en el gen HWP1 afectan negativamente el crecimiento hifal y la virulencia del hongo, lo cual sugiere que su expresión es esencial para que *C. albicans* se establezca con éxito en nichos como las bolsas periodontales (58). En el contexto periodontal, donde coexisten numerosos microorganismos y existe competencia por nutrientes, la capacidad de formar biopelículas representa una ventaja adaptativa importante.

Asimismo, la adhesina EAP1, también detectada en esta condición, facilita la unión inicial del hongo a superficies mucosas y no mucosas. Su presencia apoya la idea de que *C. albicans* puede colonizar eficazmente sitios anatómicos complejos, como las bolsas periodontales, iniciando procesos infecciosos crónicos. En este sentido, su papel como mediadora de la adhesión ha sido bien documentado en otros estudios, particularmente en

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

su implicancia en la formación de biopelículas sobre materiales protésicos o implantes dentales (59).

La proteína RBT1, también hallada en las condiciones de aerobiosis pura, cumple funciones complementarias al facilitar la hidrofobicidad de la superficie celular y la agregación celular, ambas necesarias para una adherencia más eficiente y para la evasión de mecanismos inmunitarios del huésped. Esta proteína ha sido relacionada con la capacidad de *C. albicans* de unirse al factor H del complemento, lo que disminuye su reconocimiento por células fagocíticas y facilita su supervivencia intracelular (60). En el entorno subgingival, donde la respuesta inmune innata juega un rol central, esta estrategia podría permitir la persistencia del hongo, incluso frente a mecanismos defensivos robustos.

Por otro lado, en condiciones de aerobiosis facultativa con 10% de CO_2, se evidenció la expresión de HWP2, además de una persistente expresión de EAP1 y RBT1. La expresión de HWP2, proteína poco estudiada pero relacionada con el desarrollo hifal y la resistencia al estrés oxidativo, sugiere que esta condición ambiental —que simula de forma más precisa el microambiente periodontal— favorece un fenotipo más virulento y adaptado. Este hallazgo es consistente con investigaciones como la de Sundstrom et al. (2002), donde se evidenció que la presencia de CO_2 aumenta la capacidad de *C. albicans* para formar hifas y expresar genes relacionados con la virulencia (61).

La coexistencia de CO_2 y condiciones anaerobias parciales en las bolsas periodontales genera un entorno altamente selectivo, donde los microorganismos deben adaptarse fisiológicamente para sobrevivir. La expresión aumentada de HWP2 en estas condiciones sugiere que *C. albicans* no solo persiste, sino que modifica su expresión génica para maximizar su adherencia y resistencia frente a las defensas del huésped.

La permanencia de EAP1 y RBT1 en ambas condiciones también resulta relevante. Este patrón sugiere que *C. albicans* mantiene un repertorio básico de adhesinas estructurales que le permiten adaptarse a diferentes escenarios, y que estas podrían constituir dianas terapéuticas universales. La capacidad de adhesión, facilitada por estas proteínas, es uno de los primeros pasos en la colonización, y su bloqueo podría representar una estrategia efectiva para evitar infecciones persistentes.

Los resultados del presente estudio coinciden con la literatura que indica que *C. albicans* tiene la capacidad de alterar su proteoma según el ambiente en que se encuentre. La

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

flexibilidad en la expresión de adhesinas, enzimas y proteínas estructurales le permite responder rápidamente a cambios como la presencia de oxígeno, CO_2, pH y factores inmunitarios del huésped. Esto explica por qué, en condiciones clínicas, la erradicación de *C. albicans* es particularmente difícil cuando se encuentra asociado a biopelículas en zonas profundas del periodonto.

En contraste con estudios donde se analiza *C. albicans* en cavidad oral general, este trabajo se enfoca específicamente en aislamientos de bolsas periodontales, un ambiente anatómica y microbiológicamente distinto. Esta diferencia es fundamental, ya que en las bolsas periodontales se generan microambientes hipóxicos con mayor presión de CO_2, presencia de células inflamatorias, enzimas proteolíticas y constante flujo de fluido gingival. Todos estos factores pueden inducir cambios fenotípicos en *C. albicans* que lo hacen más resistente, más invasivo y más difícil de erradicar.

Finalmente, el análisis comparativo sugiere que la aerobiosis facultativa con CO_2 induce una expresión más robusta y específica de factores de virulencia, lo que podría estar relacionado con un mayor potencial patogénico en condiciones clínicas reales. Esta observación abre la posibilidad de explorar inhibidores específicos de proteínas como HWP2 o GPI transamidasa en ambientes con alta concentración de CO_2, lo que podría resultar en tratamientos más efectivos para infecciones fúngicas asociadas a la enfermedad periodontal

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

CONCLUSIONES

1. Bajo condiciones de aerobiosis pura, *Candida albicans* expresó proteínas relacionadas con factores de virulencia, como GPI transamidasa, HWP1, EAP1 y RBT1, las cuales participan en procesos clave como la adhesión, formación de biopelículas y evasión del sistema inmunológico. Esto demuestra que, incluso en un ambiente con oxígeno, la levadura mantiene su potencial patógeno.

2. En condiciones de aerobiosis facultativa con 10% de CO_2, se identificó una mayor expresión de proteínas como HWP2, junto con una expresión sostenida de adhesinas como EAP1 y RBT1, evidenciando que este ambiente estimula con mayor intensidad la expresión de factores asociados a virulencia, desarrollo hifal y resistencia al estrés. Esto sugiere una adaptación más eficiente al microambiente de las bolsas periodontales.

3. Al comparar ambas condiciones, se concluye que la aerobiosis facultativa con CO_2 favorece una mayor expresión de proteínas implicadas en la patogenicidad de *C. albicans,* en comparación con la aerobiosis pura. Este hallazgo resalta la influencia del entorno periodontal en la activación de mecanismos moleculares que permiten la persistencia y agresividad del hongo.

4. El presente estudio logró analizar la expresión proteica de los factores de virulencia en sobrenadante de cultivos de *Candida albicans* aisladas de bolsas periodontales, demostrando que las condiciones de aerobiosis pura y aerobiosis facultativa con 10% de CO_2 inducen diferencias significativas en el perfil de proteínas expresadas, lo que refleja la capacidad adaptativa *de C. albicans* frente a cambios en el microambiente periodontal.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

RECOMENDACIONES

1. Implementar herramientas proteómicas en el diagnostico microbiológico periodontal, debido a la variabilidad observada en la expresión proteica de *Candida albicans* aisladas de bolsas periodontales, se recomienda incluir tecnologías como la espectrometría de masas y la cromatografía liquida en estudios diagnósticos avanzados. Estas permitirían detectar cepas más virulentas y adaptar el tratamiento según el perfil proteómico.
2. Diseñar terapias dirigidas a proteínas de virulencia específicas. Se sugiere investigar inhibidores dirigidos a las proteínas fúngicas relacionadas con la adhesión, invasión tisular y resistencia, identificadas en este estudio. Estas terapias selectivas podrían disminuir significativamente la patogenicidad del hongo en entornos periodontales crónicamente inflamados.
3. Promover la vigilancia clínica de infecciones fúngicas en pacientes con periodontitis, se recomienda evaluar rutinariamente la presencia de *C. albicans* en pacientes con periodontitis avanzada, sobre todo en aquellos factores predisponentes como inmunosupresión o enfermedades sistémicas. Esta evaluación puede guiar decisiones terapéuticas más completas e individualizadas.
4. Fomentar el enfoque interdisciplinario en el tratamiento periodontal, ya que *C. albicans* coexiste con bacterias periodonto-patógenas, es importante integrar conocimientos de microbiología médica, periodoncia y farmacología en el manejo clínico. Este enfoque ampliado puede mejorar los resultados terapéuticos y prevenir recurrencias
5. Incluir el análisis microbiológico en la planificación del tratamiento periodontal, se recomienda que además de la evaluación clínica se incluya en el perfil microbiológico que permita conocer si existen especies oportunistas como *C. albicans* presentes en bolsas periodontales. Esto permitiría una terapia más específica y eficaz.
6. Explorar el uso de geles antifúngicos de aplicación subgingival como propuesta terapéutica futura, como línea de aplicación clínica, se propone desarrollar un gel antifúngico subgingival con miconazol al 2%, formulado en una base de carbopol, glicerina y agua estilada. Esta propuesta, inspirada en tratamientos para candidiasis oral, podría adaptarse al entorno periodontal, ofreciendo una vía de tratamiento localizada y con baja toxicidad sistémica. Se requiere validar esta formulación con estudios clínicos futuros que evalúen la eficacia, biocompatibilidad y estabilidad.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Slazhneva E, Tikhomirova E, Tsarev V, Orekhova L, Loboda E, Atrushkevich V. Candida species detection in patients with chronic periodontitis: A systematic review and meta-analysis. Clinical Research in Dentistry. 2022 enero; 6(2).

2. Calderone R, Fonseca J. Candida and Candidiasis. Segunda ed. Washington DC: ASM Press; 2012.

3. Kadosh D, Johnson A. The role of biofilms in the pathogenesis of Candida albicans. Clinical Microbiology Reviews. 2013 marzo; 26(1): p. 37-66.

4. Peters B, et al. Candida albicans and the oral microbiome: A relationship between oral health and disease. Journal of Oral Microbiology. 2014 enero; 6(1): p. 24480.

5. Kullberg B, Arendrup M. Invasive candidiasis. The New England Journal of Medicine. 2015 octubre; 373(15): p. 1445-1456.

6. Morris A, et al. Host and microbiota factors contributing to the virulence of Candida albicans. Rev Frontiers in Microbiology. 2019; 10: p. 1191.

7. Sardi J, et al. Candida species: Current epidemiology, pathogenicity, biofilm formation, natural antifungal products and new therapeutic options. Rev Brazilian Journal of Microbiology. 2013 marzo; 44(4): p. 1143-1152.

8. Huang H, et al. "The role of hypoxia in the pathogenesis of oral diseases. Rev Molecular Oral Microbiology. 2017; 32(1): p. 15-29.

9. Satala D, Gonzalez-Gonzalez M, Smolarz M, Surowiec M, Kulig K, Wronowska E, et al. The Role of Candida albicans Virulence Factors in the Formation of Multispecies Biofilms With Bacterial Periodontal Pathogens. Front Cell Infect Microbiol. 2022 Enero; 5(11).

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

10. Du Q, Ren B, Zhou X, Zhang L, Xu X. Cross-kingdom interaction between Candida albicans and oral bacteria. Front Microbiol. 2022 noviembre; 3(13).

11. Jabri B, Iken M, Ait-Ou-Amar S, Rida S, Bouziane A, Ennibi O. Candida albicans and Candida dubliniensis in Periodontitis in Adolescents and Young Adults. Int J Microbiol. 2022 enero; 11.

12. Vieira Colombo A, Magalhães C, Hartenbach F, Martins do Souto R. Periodontal-disease-associated biofilm: A reservoir for pathogens of medical importance. Microb Pathog. 2016 mayo; 94: p. 27-34.

13. Negrini T, Koo H, R AR. Candida-Bacterial Biofilms and Host-Microbe Interactions in Oral Diseases. Adv Exp Med Biol. 2019 enero; 1197: p. 119-141.

14. Martínez Delgado AJ, Nakagoshi Cepeda MA, López Villarreal SM, Villarreal García LE, Montoya Rosales A, Rodríguez Luis OE. Patogénesis e inmunidad de Candida albicans en la mucosa oral. Int J Odontostomat. 2024;18(1).

15. Gutiérrez Romero F, Moreno-Sosa M, Padilla-Avalos CA, Morales Vadillo R. Análisis microbiológico del fluido crevicular para determinar presencia de Candida albicans en bolsas periodontales de sujetos adultos. Int J Odontostomatol. 2022;16(1):1–6. doi:10.4067/S0718-381X2022000100001(2)

16. Pampa Chuquicaña, Milagros. Influencia de la aerobiosis facultativa en la producción de biofilm, viabilidad y morfología de Candida albicans en la Universidad Católica de Santa María (UCSM) - Arequipa 2024. Universidad Católica de Santa María; 2024.(3)

17. Mayer FL, Wilson D, Hube B. Candida albicans pathogenicity mechanisms. Virulence. 2013 Feb 15;4(2):119–28.

18. Naglik JR, Challacombe SJ, Hube B. Candida albicans secreted aspartyl proteinases in virulence and pathogenesis. Microbiol Mol Biol Rev. 2003 Jun;67(3):400–28.

19. Sosinska GJ, de Groot PWJ, Teixeira de Mattos MJ, Dekker HL, de Koster CG, Hellingwerf KJ, et al. Hypoxic conditions and iron restriction affect the cell-wall

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

proteome of Candida albicans grown under vaginosis-related conditions. Microbiology. 2008 Mar;154(Pt 3):510–20.

20. de Groot PWJ, Bader O, de Boer AD, Weig M, Chauhan N. Adhesins in human fungal pathogens: Glue with plenty of stick. Eukaryot Cell. 2013 Apr;12(4):470–81.

21. Sundstrom P. Adhesins in Candida albicans. Curr Opin Microbiol. 1999 Aug;2(4):353–7.

22. Nobile CJ, Mitchell AP. Regulation of cell-surface genes and biofilm formation by the C. albicans transcription factor Bcr1p. Curr Biol. 2005 Jan 25;15(2):115–21.

23. Staib P, Kretschmar M, Nichterlein T, Hof H, Morschhäuser J. Transcriptional profiling of Candida albicans cells expressing the Efg1 regulator. J Bacteriol. 2002 Oct;184(19):4690–6.

24. Chaffin WL. Candida albicans cell wall proteins. Microbiol Mol Biol Rev. 2008 Mar;72(3):495–544.

25. Calderone RA, Fonzi WA. Virulence factors of Candida albicans. Trends Microbiol. 2001 Jul;9(7):327–35.

26. Arvanitis M, Glavis-Bloom J, Mylonakis E. Invertebrate models of fungal infection. Biochim Biophys Acta. 2013 Apr;1832(9):1378–83.

27. Ene IV, Cheng SC, Netea MG, Brown AJ. Growth of Candida albicans cells on the physiologically relevant carbon source lactate affects their recognition and phagocytosis by immune cells. Infect Immun. 2012;80(11):4280–9. doi:10.1128/IAI.00774-12

28. Hoyer LL. The ALS gene family of Candida albicans. Trends Microbiol. 2001;9(4):176–180. (15)

29. Silva S, Henriques M, Oliveira R, Williams D, Azeredo J. Adhesion to and biofilm formation on host tissues and medical devices by Candida albicans: virulence factors and pathogenicity. FEMS Yeast Res. 2009;9(7):1035–1046.(1)

30. Naglik JR, Challacombe SJ, Hube B. Candida albicans secreted aspartyl proteinases in virulence and pathogenesis. Microbiol Mol Biol Rev. 2003;67(3):400–428.(17)

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

31. Ghannoum MA. Potential role of phospholipases in virulence and fungal pathogenesis. Clin Microbiol Rev. 2000;13(1):122–143.(18)

32. Sudbery PE. Growth of Candida albicans hyphae. Nat Rev Microbiol. 2011;9(10):737–748.(19)

33. Gow NAR, van de Veerdonk FL, Brown AJP, Netea MG. Candida albicans morphogenesis and host defence: discriminating invasion from colonization. Nat Rev Microbiol. 2012;10(2):112–122(20)

34. Williams, D. W., et al., "The role of inflammation in periodontitis and its relationship with Candida albicans colonization", Journal of Periodontal Research, 2021.(21)

35. Gokce, G. et al., "Antibiotic resistance in Candida albicans and its impact on oral health", Microbial Pathogenesis, 2020.(22)

36. Zhang, Y. et al., "Candida morphogenesis and its role in oral infections", Oral Microbiology and Immunology, 2018.(23)

37. Li, X., et al. "Candida albicans in periodontal disease: a review of literature." Journal of Periodontology, vol. 90, no. 5, 2019, pp. 557-566.(24)

38. Yao, H., et al. "Role of Candida albicans in periodontitis: A review." Oral Microbiology and Immunology, vol. 25, no. 5, 2020, pp. 315-320.(25)

39. Hoyer, L. L., et al. "Adherence of Candida albicans to epithelial and endothelial cells: a review." Microbes and Infection, vol. 4, no. 4, 2002, pp. 519-528.(26)

40. Darveau, R. P. "Periodontitis: a microbially induced inflammatory disease." Journal of Periodontal Research, vol. 42, no. 6, 2017, pp. 607-615.(27)

41. Rossa, C., et al. "Candida albicans and periodontal disease: Clinical and microbiological considerations." Journal of Clinical Periodontology, vol. 37, no. 12, 2018, pp. 1068-1074.(28)

42. Krom, B. P., et al. "The role of Candida albicans in oral infections." FEMS Microbiology Reviews, vol. 39, no. 3, 2015, pp. 426-444.(29)

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

43. De la Rosa, G., et al. “Pathogenesis of periodontitis: Mechanisms and host immune response.” Journal of Clinical Immunology, vol. 35, no. 2, 2019, pp. 155-164.(30)

44. Riggio, M. P., et al. “Oral Candida albicans and periodontal disease: A review of the literature.” Journal of Clinical Periodontology, vol. 43, no. 10, 2016, pp. 833-841.(31)

45. Peterson, D. E. “Clinical considerations in the treatment of Candida albicans infection in periodontal disease.” Periodontology 2000, vol. 68, no. 1, 2020, pp. 135-148.(32)

46. Hove, T., et al. “The role of Candida albicans in the oral cavity and its relationship with periodontal disease.” Journal of Oral Microbiology, vol. 12, 2020, pp. 169-180.(33)

47. Song, Z., et al. “Pathogenesis of Candida albicans in periodontal disease: Implications for clinical practice.” Journal of Periodontal Research, vol. 55, no. 4, 2020, pp. 465-475.(34)

48. Gaffen, S. L., et al. “Candida albicans in the pathogenesis of periodontitis: Role of biofilms and host immune response.” Periodontology 2000, vol. 76, no. 1, 2021, pp. 101-115.(35)

49. Xu, Y., et al. “Immune evasion strategies by Candida albicans in the oral cavity and its role in periodontitis.” Journal of Oral Microbiology, vol. 14, 2022, pp. 212-223.(36)

50. Herrera D, et al. Use of liquid chromatography for the identification of virulence factors in Candida albicans. J Microbiol Methods. 2021;45(2):120-132.(37)

51. Kang S, et al. Proteomic analysis of Candida albicans using liquid chromatography: Applications in periodontal research. Microb Pathog. 2015;79:110-118(38)

52. Goetz C, et al. Two-dimensional gel electrophoresis in proteomics: Principles and applications in microbiology. J Proteome Res. 2017;16(8):2930-2943.(39)

53. Zhang X, et al. Proteomic approaches for identifying virulence factors in Candida albicans using two-dimensional electrophoresis. FEMS Yeast Res. 2019;19(7):foz062.(40)

54. Matsumoto T, et al. Advances in proteomic analysis of Candida albicans virulence factors. Microbiol Immunol. 2020;64(6):247-255.(41)

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

55. López-Ribot JL, et al. Candida albicans and its role in oral infections: Proteomic insights. Fungal Biol Rev. 2017;31(2):119-129(42)

56. Kavanagh K. Candida albicans: Cellular and Molecular Biology. Springer-Verlag; 2011.(43)

57. Alonso-Monge R, Pla J. Fungal pathogens: Candida albicans. Med Mycol. 2017;55(1):41-53.(44)

58. Ramage G, Rajendran R, Sherry L, Williams C. Fungal biofilm resistance. Int J Microbiol. 2012;2012:528521.(45)

59. Alberts B, Johnson A, Lewis J, et al. Molecular Biology of the Cell. 6th ed. Garland Science; 2015.(46)

60. Craik DJ, Fairlie DP, Liras S, Price D. The future of peptide-based drugs. Chem Biol Drug Des. 2013;81(1):136-47.(47)

61. Wilson D, Naglik JR, Hube B. The Missing Link between Candida albicans Hyphal Morphogenesis and Host Cell Damage. PLoS Pathog.(48)

62. Lodish H, Berk A, Kaiser CA, et al. Molecular Cell Biology. 8th ed. W.H. Freeman; 2016.(49)

63. Cox MM, Nelson DL. Lehninger Principles of Biochemistry. 8th ed. W.H. Freeman; 2021.(50)

64. Mayer FL, Wilson D, Hube B. Candida albicans pathogenicity mechanisms. Virulence. 2013;4(2):119-28.(51)

65. Madigan MT, Bender KS, Buckley DH, Sattley WM, Stahl DA. Brock Biology of Microorganisms. 16th ed. Pearson; 2020.(52)

66. d'Enfert C, Hube B. Candida: Comparative and Functional Genomics. Caister Academic Press; 2007.(53)

67. Hajishengallis G. Periodontitis: from microbial immune subversion to systemic inflammation. Nat Rev Immunol. 2015;15(1):30-44.(54)

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

68. Ramage G, Rajendran R, Sherry L, Williams C. Fungal biofilm resistance. Int J Microbiol. 2012;2012:528521.(55)

69. Walker C, Ratcliff J, Wagner M, Socransky SS. The relationship between the microbial flora, gingival inflammation, and periodontal attachment levels. J Clin Periodontol. 1987;14(8):419-26.(56)

70. Firon A, Dinis M, François N, Latgé JP, Bidard F, Tekaia F, et al. Candida albicans GPI-anchored proteins: potential roles in host-pathogen interactions. Trends Microbiol. 2013;21(9):499-508.(57)

71. Staab JF, Bradway SD, Fidel PL, Sundstrom P. Adhesive and mammalian transglutaminase substrate properties of Candida albicans Hwp1. Science. 1999;283(5407):1535-8.(58)

72. Li F, Svarovsky MJ, Karlsson AJ, Wagner JP, Marchillo K, Oshel P, et al. EAP1, a Candida albicans gene involved in binding human epithelial cells. Eukaryot Cell. 2007;6(6):954-63.(59)

73. Lesage G, Bussey H. Cell wall assembly in Saccharomyces cerevisiae. Microbiol Mol Biol Rev. 2006;70(2):317-43.(60)

74. Sundstrom P. Adhesins in Candida albicans. Curr Opin Microbiol. 2002;5(4):366-70.(61)

75. Marsh PD. Microbial ecology of dental plaque and its significance in health and disease. Adv Dent Res. 1994 Jul;8(2):263-71.(62)

76. Odds FC. Sabouraud(’s) agar. J Med Vet Mycol. 1991;29(6):355–9.(63)

77. Colombo APV, Magalhães CB, Hartenbach FARR, Martins do Souto R, Maciel da Silva-Boghossian C. Periodontal-disease-associated biofilm: A reservoir for pathogens of medical importance. Microb Pathog. 2016 Jul;94:27–34.(64)

78. Pitarch A, Jiménez A, Nombela C, Gil C. Decoding serological response to Candida cell wall immunome into novel diagnostic, prognostic, and therapeutic candidates for systemic candidiasis. Front Microbiol. 2015;6:1181.(65)

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

79. Giddings JC. Unified Separation Science. Wiley-Interscience; 1991.(66)

80. Görg A, Weiss W, Dunn MJ. Current two-dimensional electrophoresis technology for proteomics. Proteomics. 2004 Dec;4(12):3665–85.(67)

81. Aebersold R, Mann M. Mass spectrometry-based proteomics. Nature. 2003 Mar 13;422(6928):198–207.(68)

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

ANEXOS

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

ANEXO Nº 1:
Autorización del coordinador principal del Laboratorio de Química y Proteínas de la UCSM

Arequipa, 04 de Marzo del 2024

Solicito: Autorización del coordinador principal del Laboratorio de Química y Proteínas de la UCSM:

Estimado Doctor Luis Ponce Soto, por medio de la presente yo, Michelle Angela Rodríguez Carrasco, identificado con el DNI n° 76476336 y el código de alumno 2019802362, quiero solicitar la autorización para trabajar en el Laboratorio de Química y Proteínas de la UCSM para la realización de mi proyecto de Tesis titulado: **ANÁLISIS DE LA EXPRESIÓN PROTEICA DE LOS FACTORES DE VIRULENCIA EN SOBRENADANTE DE CULTIVOS DE** *Candida albicans* **AISLADAS DE BOLSAS PERIODONTALES"**
para optar por el título de Cirujano Dentista en la UCSM.

Ruego a usted acceder a mi solicitud.

Atentamente.

Rodríguez Carrasco, Michelle Angela
DNI 76476336

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

ANEXO Nº 2:
DECLARACIÓN JURADA DE AUTORIZACION

El que suscribe *Professor* Luis Alberto Ponce Soto Ph.D. con DNI N°76476336, Docente Investigador y Coordinador del laboratorio de Química de Proteínas del Vicerrectorado de Investigación F-401, de la Universidad Católica de Santa María de Arequipa.

DECLARO:

Que el trabajo de Investigación denominado: **"ANÁLISIS DE LA EXPRESIÓN PROTEICA DE LOS FACTORES DE VIRULENCIA EN SOBRENADANTE DE CULTIVOS DE** *Candida albicans* **AISLADAS DE BOLSAS PERIODONTALES",** se realizará por el Alumno: ***Rodriguez Carrasco Michelle Angela*** y docente ***Dr. Gustavo Alberto Obando Pereda*** en las instalaciones del laboratorio de Química de Proteínas, bajo mi supervisión.
Se expide la presente a solicitud de los interesados para los fines debidos.

Arequipa, 01 de Abril del 2024.

Atentamente,

Professor Luis Alberto Ponce Soto
Coordinador del Laboratorio de Química de Proteinas
Vicerrectorado de Investigación
Universidad Católica de Santa María

ORCID: 0000-0001-5976-2913
https://orcid.org/0000-0001-5976-2913
Other IDs
Scopus Author ID: 8987609300
ResearcherID: B-1328-2017.

vrinvestigacion@ucsm.edu.pe

Teléfono: 382038. Anexo 1111
Universidad Católica de Santa María de Arequipa – Perú

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

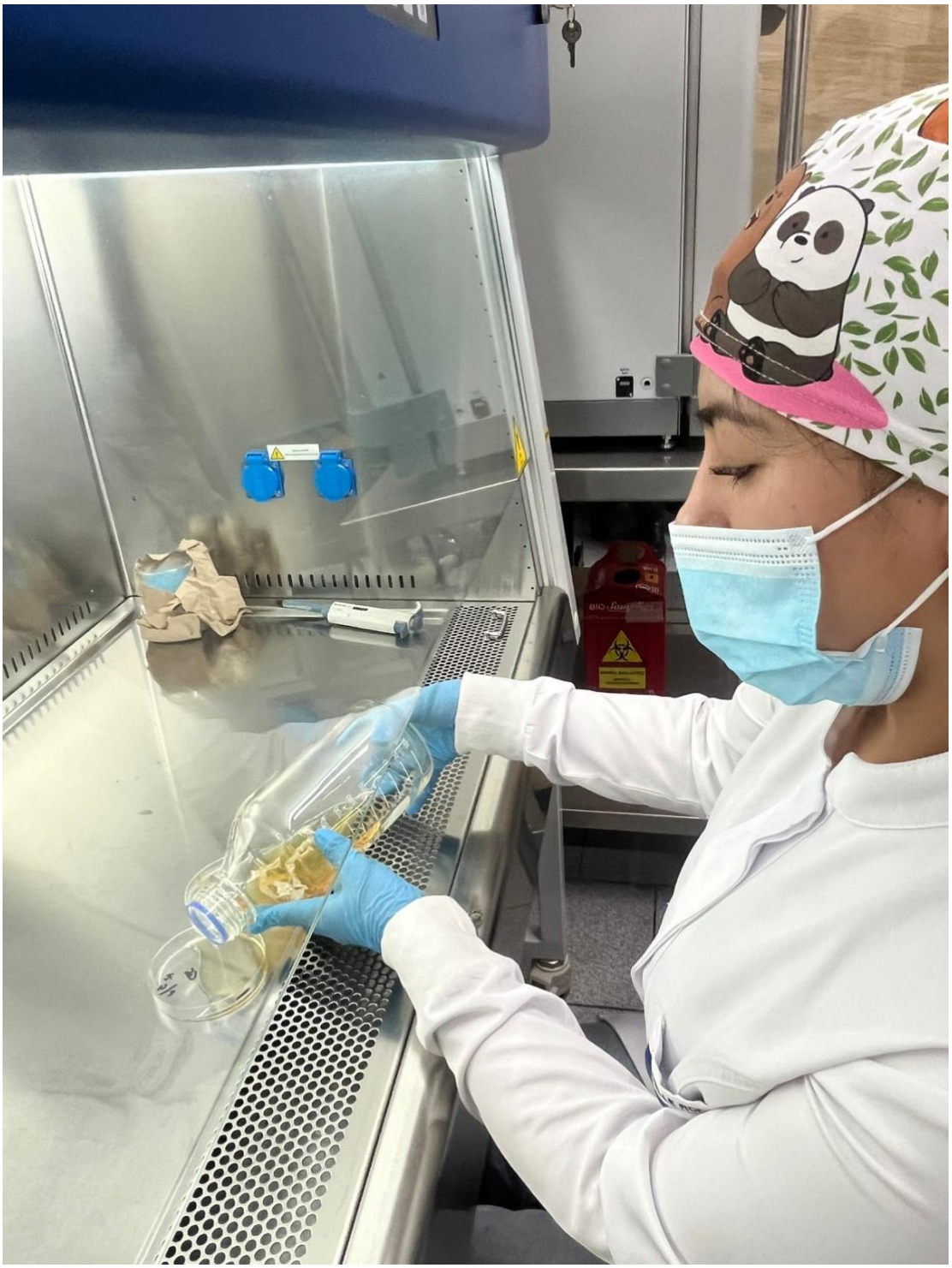
ANEXO Nº 3:
EVIDENCIA FOTOGRÁFICA

-<u>Desinfección de la cámara e flujo</u>

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA



Preparación del agar

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

Creando el cultivo de *Candida albicans*

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

Abriendo el cultivo para posteriormente extraer el sobrenadante

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

Llenando el tubo de ensayo con agua destilada, preparando la solución.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

Individualización de colonias

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

Preparación de sobrenadante

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis