

**Universidad Católica de Santa María**  
**Facultad de Odontología**  
**Escuela Profesional de Odontología**



**Influencia del *quorum sensing* en la diferencia de expresión proteica sobre  
*Candida albicans*. UCSM, Arequipa, 2024**

Tesis presentada por la Bachiller:

**Vargas Lanza, Gabriela**

**ORCID: 0009-0006-0613-3551**

para optar el Título Profesional de Cirujano Dentista

**Asesor (a):**

**Dr. Ponce Soto, Luis Alberto**

**ORCID: 0000-0001-5976-2913**

Arequipa-Perú

**2025**

UCSM-ERP

**UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA**

**ODONTOLOGIA**

**TITULACIÓN CON TESIS**

**DICTAMEN APROBACIÓN DE BORRADOR**

Arequipa, 04 de Diciembre del 2024

**Dictamen: 013749-C-EPO-2024**

Visto el borrador del expediente 013749, presentado por:

**2019248062 - VARGAS LANZA GABRIELA**

Titulado:

**INFLUENCIA DEL QUORUM SENSING EN LA DIFERENCIA DE  
EXPRESIÓN PROTEICA SOBRE CANDIDA ALBICANS. UCSM, AREQUIPA, 2024**

Nuestro dictamen es:

**APROBADO**

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

**CIRUJANO DENTISTA**

**06292199 - DE LOS RIOS FERNANDEZ ENRIQUE MANUEL  
DICTAMINADOR**



**30862017 - FIGUEROA BANDA RUFO ALBERTO  
DICTAMINADOR**



**44601950 - ALVARADO GOMEZ ALBERTO ARMANDO  
DICTAMINADOR**



# Influencia del quorum sensing en la diferencia de expresión proteica sobre *Candida albicans*. UCSM, Arequipa, 2024

## INFORME DE ORIGINALIDAD

22%

INDICE DE SIMILITUD

16%

FUENTES DE INTERNET

3%

PUBLICACIONES

18%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

## FUENTES PRIMARIAS

1	Submitted to Universidad Católica de Santa María	15%
	Trabajo del estudiante	
2	<a href="http://www.merckmanuals.com">www.merckmanuals.com</a>	1%
	Fuente de Internet	
3	<a href="http://tesis.ucsm.edu.pe">tesis.ucsm.edu.pe</a>	1%
	Fuente de Internet	
4	<a href="http://repositorio.ucsm.edu.pe">repositorio.ucsm.edu.pe</a>	<1%
	Fuente de Internet	
5	<a href="http://www.elsevier.es">www.elsevier.es</a>	<1%
	Fuente de Internet	
6	Submitted to Universidad Tecnica De Ambato- Direccion de Investigacion y Desarrollo , DIDE	<1%
	Trabajo del estudiante	
7	<a href="http://hdl.handle.net">hdl.handle.net</a>	<1%
	Fuente de Internet	
8	<a href="http://uvadoc.uva.es">uvadoc.uva.es</a>	<1%
	Fuente de Internet	



## DEDICATORIA

*“A **Dios**, por darme salud, fortaleza y guiarme en cada momento de dificultad, por permitirme estudiar y culminar mis estudios y llenar mi camino de nuevas experiencias.*

*A mis padres, **Mery** y **José**, por enseñarme a ser perseverante y dar mi mayor esfuerzo en cada reto que se presente en la vida, inculcarme valores y darme su amor incondicional.”*

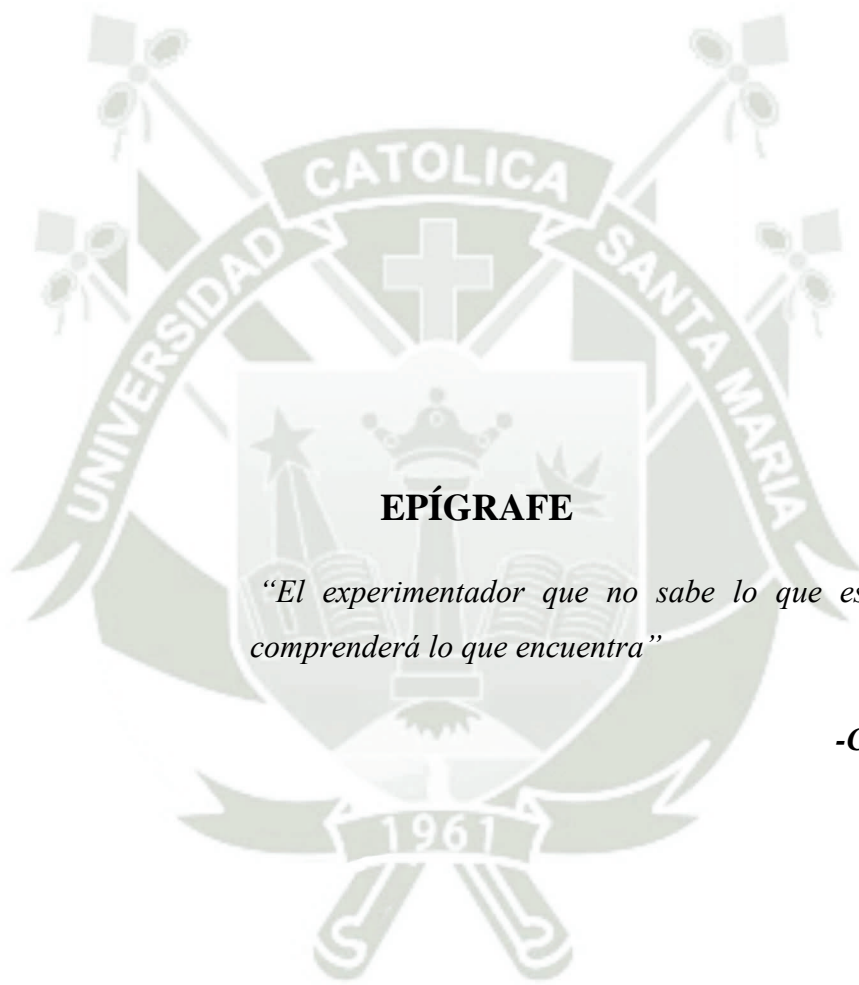
## AGRADECIMIENTO

A mi *familia*, por su infinito apoyo, por ser mi ejemplo en todo momento y alentarme a ser una gran persona e incentivarme a ser una buena profesional. Agradezco por todo el amor que me dan.

A mi enamorado, **Fernando**, por su amor infinito, ser mi compañero en este camino, estar a mi lado en momentos de dificultad, por acompañarme en cada noche de desvelo, alentarme y recordarme que soy capaz de cumplir todos mis sueños.

A los doctores **Luis Alberto Ponce Soto** y **Gustavo Alberto Obando Pereda**, por su orientación y estar presentes a lo largo de este camino, darme las herramientas necesarias para esta investigación y brindarme su amistad.

A mi casa de estudio **Universidad Católica de Santa María** y a la **Facultad de Odontología**, por los docentes que me brindaron su tiempo y conocimiento.



## EPÍGRAFE

*“El experimentador que no sabe lo que está buscando no comprenderá lo que encuentra”*

*-Claude Bernard*

## RESUMEN

La microbiota oral está determinada por la presencia de una gran comunidad de microorganismos dentro de los cuales encontramos virus, hongos y bacterias, entre otras. Estos microorganismos mantienen interrelaciones que influyen en el comportamiento entre las mismas y con el huésped.

El propósito de este estudio es establecer la variabilidad proteómica del hongo objeto de estudio, *Cándida albicans* (*C. albicans*), en presencia de moléculas inductoras por medio de la activación del mecanismo del *quorum sensing*.

Los resultados obtenidos después de la búsqueda bibliográfica y las pruebas de laboratorio a las que se sometieron las muestras de sobrenadante de *C. albicans* con adición de las moléculas inductoras generaron la expresión de un conjunto de proteínas que en condiciones naturales no se expresan en el hongo objeto de estudio, las mismas que tienen la característica de inhibir el nivel de virulencia del microorganismo, como un mecanismo de defensa para mantener la población y garantizar su supervivencia.

Como conclusión se determinó la relación directa entre la población umbral, el incremento de la concentración de moléculas inductoras y la inhibición de la virulencia del *C. albicans*, lo que se traduce en las proteínas que se expresan en un periodo determinado de tiempo, por el mecanismo del *quorum sensing*.

Palabras clave: *Cándida albicans*, *Quorum sensing*, proteínas

## ABSTRACT

The oral microbiota is determined by the presence of a large community of microorganisms, including viruses, fungi and bacteria, among others. These microorganisms maintain interrelations that influence the behavior between them and with the host.

The purpose of this study is to establish the proteomic variability of the fungus under study, *C. albicans* (*C. albicans*), in the presence of inducer molecules by means of the activation of the *quorum sensing* mechanism.

The results obtained after the bibliographic search and the laboratory tests to which the supernatant samples of *C. albicans* were subjected with the addition of the inducer molecules generated the expression of a set of proteins that are not expressed in the fungus under study under natural conditions, which have the characteristic of inhibiting the level of virulence of the microorganism, as a defense mechanism to maintain the population and guarantee its survival.

In conclusion, a direct relationship was determined between the threshold population, the increase in the concentration of inducer molecules and the inhibition of *C. albicans* virulence, which translates into the proteins that are expressed in a given period of time, by the *quorum sensing* mechanism.

Keywords: *Candida albicans*, *Quorum sensing*, *proteins*

## ÍNDICE

**DEDICATORIA**

**AGRADECIMIENTO**

**EPÍGRAFE**

**RESUMEN**

**ABSTRACT**

**INTRODUCCIÓN..... 1**

**CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO TEÓRICO..... 2**

1.	PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN	3
1.1.	Determinación del problema	3
1.2.	Enunciado del problema	3
2.	OBJETIVOS	5
2.1.	Objetivo general	5
2.2.	Objetivos específicos	5
3.	MARCO CONCEPTUAL	5
3.2.	<i>C. albicans</i>	7
3.3.	Moléculas de <i>quorum sensing</i> en <i>C. albicans</i>	11
3.4.	Antecedentes Investigativos	12
4.	HIPÓTESIS	14

**CAPÍTULO II: PLANTEAMIENTO OPERACIONAL ..... 15**

1.	TÉCNICAS, INSTRUMENTOS Y MATERIALES DE VERIFICACIÓN	16
1.1.	Técnicas	16
1.2.	Instrumentos	18
1.3.	Materiales de Verificación	19

2.	CAMPO DE VERIFICACIÓN	19
2.1.	Ubicación Espacial	19
2.2.	Unidad de estudio	19
2.3.	Criterios de inclusión	19
2.4.	Criterio de exclusión	19
3.	ESTRATEGIA DE RECOLECCIÓN DE DATOS	19
3.1.	Organización de la información	19
3.2.	Recursos	20
3.3.	Prueba Piloto/Validación del Instrumento	20
4.	ESTRATEGIA PARA MANEJAR LOS RESULTADOS	20
4.1.	Tipo de procesamiento:	20
4.2.	Plan de Procesamiento	20
4.3.	Plan de Análisis	21
<b>CAPÍTULO III: RESULTADOS.....</b>		<b>22</b>
<b>DISCUSIÓN.....</b>		<b>38</b>
<b>CONCLUSIONES.....</b>		<b>44</b>
<b>RECOMENDACIONES.....</b>		<b>46</b>
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....</b>		<b>47</b>
<b>ANEXOS.....</b>		<b>49</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1</b> Proteins identified by mass spectrometry ESI-Q-TOF_MS/MS.....	24
<b>Tabla 2</b> Proteína AOW27414 (C_109).....	25
<b>Tabla 3</b> Proteína AOW26936 (C_110).....	25
<b>Tabla 4</b> Proteína AOW28902 (C_111).....	25
<b>Tabla 5</b> Proteína EEQ44481 (C_112) .....	26
<b>Tabla 6</b> Proteína AOW27184 (C_113).....	26
<b>Tabla 7</b> Proteína AOW27484 (C_114).....	26
<b>Tabla 8</b> Proteína AOW31260 (C_115).....	27
<b>Tabla 9</b> Proteína AOW27414 (C_116).....	27
<b>Tabla 10</b> Proteína Q59SN8 (C_117).....	27
<b>Tabla 11</b> Proteína XP_721446 (C_118).....	28
<b>Tabla 12</b> Proteína XP_721446 (C_119).....	28
<b>Tabla 13</b> Proteína AAA68015 (C_120) .....	29
<b>Tabla 14</b> Proteína XP_002422331 (C_121).....	29
<b>Tabla 15</b> Proteína AOW26479 (C_122).....	29

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1 Imagen de instrumentos mecánicos.....</b>	<b>18</b>
<b>Figura 2 Gel con el “quorum sensing” (autoinductor 2).....</b>	<b>23</b>
<b>Figura 3Gel 2D sin el “quorum sensing” (autoinductor 2).....</b>	<b>23</b>
<b>Figura 4 (C_109) glucosamine 6-phosphate N-acetyltransferase.....</b>	<b>30</b>
<b>Figura 5 (C_110) 26S proteasome regulatory subunit N1 .....</b>	<b>30</b>
<b>Figura 6 C_111) Crd2p .....</b>	<b>31</b>
<b>Figura 7 (C_112) ribonucleoprotein-associated protein .....</b>	<b>31</b>
<b>Figura 8 (C_113) lysophospholipase .....</b>	<b>32</b>
<b>Figura 9 (C_114) farnesyl pyrophosphate synthase .....</b>	<b>32</b>
<b>Figura 10 (C_115) flavodoxin-like fold family protein .....</b>	<b>33</b>
<b>Figura 11 (C_116) glucosamine 6-phosphate N-acetyltransferase.....</b>	<b>33</b>
<b>Figura 12 (C_117) agglutinin-like protein.....</b>	<b>34</b>
<b>Figura 13 (C_118) pyridoxine biosynthesis protein .....</b>	<b>34</b>
<b>Figura 14 (C_119) pyridoxine biosynthesis protein .....</b>	<b>35</b>
<b>Figura 15 (C_120) chitinase 2.....</b>	<b>35</b>
<b>Figura 16 (C_121) 60S acidic ribosomal protein P2.....</b>	<b>36</b>
<b>Figura 17 (C_122) S-adenosylmethionine-homocysteine S-methyltransferase.....</b>	<b>36</b>
<b>Figura 18 Estructura de C. albicans .....</b>	<b>37</b>

## INTRODUCCIÓN

En la ecología oral encontramos una gran cantidad de microorganismos, hongos, bacterias, entre otros, los cuales llevarán a cabo distintos tipos de relaciones con microorganismos de su misma especie, de especie distinta y con su medio.

Así encontramos al hongo objeto de estudio de investigación, *C. albicans*, el que se caracteriza por su capacidad dimórfica que le permite evadir la respuesta inmune cambiando de forma levaduriforme a filamentosa, lo que se produce por cambios en las proteínas que se encuentra expresando en ese momento, es decir se producen cambios es su proteoma.

La base de este dimorfismo lo encontramos en el mecanismo de *quorum sensing*; el termino *quorum*, se entiende como la cantidad mínimamente necesaria para algo, por lo tanto, el *quorum sensing* es la cantidad umbral de población de microorganismos que se requiere para la realización de acciones específicas como la formación de Biofilm, entre otros, así como mecanismo de control de población.

El mecanismo antes descrito se produce por la expresión de moléculas inductoras que se producen como consecuencia de la relación simbiótica con otro tipo de bacterias y la alta cantidad de población de microorganismos, esto genera cambios en la expresión proteómica del hongo que a su vez se expresa en el cambio de forma de este.

El propósito de esta investigación es identificar la influencia que tiene la molécula *quorum sensing* en el hongo *C. albicans*. Los resultados obtenidos pueden contribuir a la literatura científica y mejora del conocimiento general.



# **CAPÍTULO I**

## **PLANTEAMIENTO TEÓRICO**

## I. PLANTEAMIENTO TEÓRICO

### 1. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

#### 1.1. Determinación del problema

Un microorganismo normal en la flora bucal es *C. albicans*. Ésta, en condiciones normales está de forma simbiótica con las bacterias orales y en general en forma de levadura, en el caso que se encuentre junto al *Streptococcus mutans* teniendo una característica no patogénica. Esto quiere decir, que las bacterias, en el caso del *S. mutans*, producen moléculas que van a permitir controlar la patogenicidad de *C. albicans*. Esta molécula, cuando hay una cantidad excesiva de *S. mutans*, la bacteria expresa y produce una molécula denominada *quorum sensing* (autoinductor 2), la cual producirá que los microorganismos se liberen para colonizar nuevos ecosistemas.

*C. albicans* sin la presencia de otro tipo de microorganismo, se ha podido observar que su morfología cambia, de levadura para hifa, provocando así su incremento en su capacidad patogénica.

En este sentido, el objetivo de este trabajo es determinar la influencia del *quorum sensing* (autoinductor 2) en la diferencia de expresión proteica sobre *C. albicans*.

#### 1.2. Enunciado del problema

Influencia del *quorum sensing* en la diferencia de expresión proteica sobre *Candida albicans*.  
UCSM, Arequipa, 2024

#### 1.3. Descripción del problema

##### I.3.1. Área de conocimiento

a.1 **Área General:** Ciencias de la salud.

a.2 **Área específica:** Odontología.

a.3 **Especialidad:** Patología

a.4 **Línea o tópico:** Microbiología

##### I.3.2. Operacionalización de variables

Variable	Indicador	Subindicadores	Instrumento
Dependiente	Quorum Sensing Autoinductor 2		
Independiente	Nivel de expresión proteómico en el sobrenadante de <i>C. albicans</i>	Proteínas diferenciales en ambos mapas de referencia (control y patológico).	Expresión de posibles proteínas modificaciones post-traduccionales y análisis de secuencia por PatternLAB como base de datos.

### I.3.3. Interrogantes Básicas

- ¿Cuál es la influencia de la molécula *quorum sensing* sobre *C. albicans*?
- ¿Cuál es la expresión proteica sobre *C. albicans* en el día 1, día 7 y día 14?
- ¿Qué proteínas se expresan por el *quorum sensing*?

### I.3.4. Taxonomía de la Investigación

ABORDAJE	TIPO DE ESTUDIO					DISEÑO	NIVEL
	Según técnica de recolección a emplear	Según tipo de datos por recopilar	Por la cantidad de mediciones de la variable dependiente	Por la cantidad de grupos	Según ámbito de recolección		
Cualitativo	Observacional	Prospectivo	Transversal	Descriptivo	De laboratorio	Experimental	Explicativo

## I.4. Justificación

### I.4.1. Relevancia

El presente estudio aportará nuevos conocimientos y datos respecto a la influencia del *quorum sensing* en la diferencia de expresión proteica sobre *C. albicans*, es importante también porque permite una comprensión más profunda de cómo este hongo patógeno regula su comportamiento en función de su entorno.

#### **I.4.2. Actualidad:**

A pesar de que los estudios sobre el *quorum sensing* y *C. albicans* en el Perú no son abundantes, el aumento de investigaciones de infecciones fúngicas y resistencias antifúngicas, podría adquirir mayor relevancia en los próximos años.

#### **I.4.3. Utilidad:**

El presente estudio enriquecería el conocimiento sobre la microbiología de este hongo patógeno. Se determinarán las proteínas que hayan sido expresadas en grupos para obtener la diferencia proteica.

#### **I.4.4. Interés personal:**

Es de mi interés personal conocer los datos expresados que determinarán la diferencia proteica del estudio, de igual forma me permitirá obtener mi título profesional de cirujano dentista.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. Objetivo general**

- Determinar la influencia del *quorum sensing* sobre *C. albicans*.

### **2.2. Objetivos específicos**

- Determinar la expresión proteica sobre *C. albicans* en el día 1, día 7 y día 14.
- Identificar las proteínas expresadas por el *quorum sensing*.

## **3. MARCO CONCEPTUAL**

### **3.1. Conceptos**

#### **3.1.1. *Quorum Sensing***

La detección de quórum constituye un mecanismo regulador que modula la expresión génica de acuerdo con la densidad celular. Este proceso se ve facilitado por la secreción de moléculas señalizadoras conocidas como «autoinductores», cuya nomenclatura se deriva de su capacidad de influir en la misma célula que las produjo, estimulando así la expresión genética en toda la población colectiva y provocando una respuesta coordinada. La concentración del autoinductor demuestra ser fundamental para la activación de la

detección de quórum; por lo tanto, un aumento en la densidad de población (es decir, un mayor número de individuos) se correlaciona con una concentración elevada del autoinductor en el entorno ambiental, lo que a su vez promueve la expresión génica (1).

El *quorum sensing* se descubrió mediante una bacteria del mar, dicha bacteria libera los autoinductores que están presentes en el exterior de la fase de crecimiento. Cuando su concentración llega a niveles altos se activa la codificación de luciferasa, accediendo a la propagación de luz a través de organismos luminiscentes.

### **3.1.2. *Quorum sensing* como mecanismo de señalización**

Se puede postular que la detección de quórum representa un mecanismo de comunicación entre las células a través del cual las entidades bacterianas determinan el tamaño de su población mediante la síntesis y la percepción de la acumulación de una molécula de señalización que excretan en su entorno, lo que les permite determinar el momento oportuno para desempeñar sus funciones funcionales de la manera más eficiente (2).

### **3.1.3. *Quorum sensing* mecanismo necesarios para funcionar**

Una elucidación del mecanismo operativo es la siguiente: las células perciben la concentración de señales químicas autoinductivas, que se denominan así debido a su capacidad de afectar también a la célula de origen. Esta percepción proporciona información sobre la densidad de las células presentes en el medio ambiente; a medida que la población aumenta, también lo hace la concentración de estas moléculas de señalización. Al alcanzar un umbral de concentración crítico, esto significa que la población ha alcanzado el estado de quórum, lo que provoca la expresión de un conjunto específico de genes, lo que provoca acciones sincronizadas a nivel de la población, como el ataque a los organismos hospedadores como el ejemplo de la Salmonella o la secreción de toxinas que impactan letalmente en los peces de los que posteriormente cazan como se ve en *Pfiesteria* (3).

### **3.1.4. Funciones revisadas por *quorum sensing***

Entre los procesos fisiológicos de los microorganismos regulados por los mecanismos de detección de quórum se encuentran: la adquisición de nutrientes, la conjugación, la transformación, la síntesis de factores de virulencia, la colonización, la producción y resistencia a los antibióticos, la motilidad, la esporulación, la regulación del estado de las

bacterias viables, pero no cultivables, la formación de biopelículas y la modulación de las respuestas inmunitarias del huésped (2).

### 3.1.5. Tipos de quorum sensing

- **Biopelículas**

Las entidades microbianas que emplean esta forma de detección de quórum suelen mostrar un crecimiento discreto durante los períodos de baja densidad de población, lo que elude la detección por parte del sistema inmunitario. Al alcanzar una densidad poblacional sustancial, los autoinductores catalizan la secreción de polímeros y generan una matriz que permitirá a toda la población unirse y adherirse a los tejidos vivos. La caries dental sirve como ilustración por excelencia de la formación de biopelículas (1).

- **Swarming**

El fenómeno en cuestión se refiere al movimiento colectivo observado en un medio de cultivo sólido al alcanzar una densidad celular elevada. Este fenómeno puede percibirse directamente sin necesidad de instrumentos y se manifiesta como círculos concéntricos que rodean la colonia y se extienden por toda la placa de cultivo (1).

### 3.2. *C. albicans*

El organismo está clasificado como un hongo dentro del filo *Ascomycota*, posee un genoma diploide y se reproduce asexualmente mediante el proceso de gemación

Presenta dimorfismo y sigue distintas vías de desarrollo en respuesta a diversos estímulos ambientales. Esta característica le confiere la capacidad de eludir las defensas inmunitarias de las células hospedadoras.

En su forma de levadura, se presenta en forma de células redondas u ovoides, que miden entre 4 y 6 y 10  $\mu\text{m}$ , que se agrupan en pequeños racimos. En su forma fúngica filamentosa, genera pseudohifas junto con las hifas verdaderas, y también es capaz de formar clamidosporas. Macroscópicamente, cuando se cultiva en agar Sabouraud, produce colonias blancas, blandas, cremosas y lisas. Por el contrario, cuando se cultivan en medios cromogénicos, las colonias presentan una pigmentación azul o verde claro (4).

*C. albicans* suele estar presente en la cavidad oral, el tracto gastrointestinal y el tracto genitourinario, así como en la piel, y representa aproximadamente el 50% de todos los casos de

candidiasis. El espectro clínico de la candidiasis abarca desde infecciones superficiales leves que afectan a la piel y las membranas mucosas hasta infecciones sistémicas graves que representan una amenaza importante para la vida del paciente. Las personas con un sistema inmunitario debilitado son particularmente susceptibles a la candidiasis sistémica, que, en ausencia de un tratamiento adecuado, puede convertirse en sepsis (5).

### 3.2.1. Epidemiología

La candidiasis se clasifica como una infección oportunista que puede presentarse en dos contextos principales:

- **Pacientes no neutropénicos:**

Es decir, las personas gravemente enfermas, que normalmente se encuentran en una unidad de cuidados intensivos y que presentan diversos factores predisponentes.

- **Pacientes neutropénicos:**

Aquellas personas que presentan neutropenia como consecuencia de la quimioterapia administrada para el tratamiento del cáncer, principalmente en el contexto de neoplasias hematológicas malignas. Otras formas de neutropenia, en particular las de naturaleza crónica, no parecen correlacionarse con un aumento de la incidencia de la candidiasis (6).

### 3.2.2. Formas morfológicas de *C. albicans*

*C. albicans* tiene tres formas morfológicas distintas. Éstas son:

- a) Levadura
- b) Pseudohifa
- c) Hifas filamentosas.

La transición entre estas formas morfológicas se rige por una red genética sofisticada y depende de una variedad de factores ambientales. Se considera que las hifas son la presentación morfológica más virulenta, ya que esta forma está asociada a la expresión de toxinas, como la candidalísina, recientemente caracterizada, que daña las células epiteliales, lo que facilita la penetración del *C. albicans* en los tejidos y el establecimiento de la infección (7).

### 3.2.3. Clasificación

- Formas agudas
  - Forma pseudomembranosa
  - Forma eritematosa
- Formas crónicas:
  - Forma pseudomembranosa
  - Forma eritematosa
  - Forma hiperplásica

### 3.2.4. Signos y síntomas

La candidiasis esofágica se presenta predominantemente con disfagia.

Candidemia suele provocar fiebre; sin embargo, las manifestaciones clínicas suelen ser inespecíficas. Algunos pacientes pueden desarrollar un síndrome parecido a la sepsis bacteriana, que se caracteriza por un inicio brusco y que puede provocar shock, oliguria, lesión renal aguda y coagulación intravascular diseminada.

La endoftalmitis por *Candida* se manifiesta inicialmente como lesiones retinianas de color blanco, que pueden ser asintomáticas al principio, pero con el potencial de progresar, opacifican el cuerpo vítreo y favorecen la formación de cicatrices irreversibles que, en última instancia, provocan ceguera.

En los pacientes neutropénicos, ocasionalmente pueden producirse hemorragias retinianas, aunque la infección ocular propiamente dicha sigue siendo poco frecuente. También pueden presentarse lesiones cutáneas nodulopapulares, especialmente en personas neutropénicas, donde significan una amplia diseminación hematógena. La presentación sintomática de otras infecciones localizadas o invasivas depende del órgano específico afectado (8).

### 3.2.5. Factores de riesgo

Se ha documentado una multitud de factores de riesgo asociados con la aparición de infecciones por *Candida*. Los siguientes factores son particularmente importantes:

- Administración previa de antibióticos.
- Utilización de dispositivos invasivos como catéteres y sondas.
- Dependencia de la nutrición parenteral.

- Procedimientos quirúrgicos abdominales, en particular los que afectan al estómago y el duodeno.
- Trasplante de órganos, neoplasias malignas, uso de corticosteroides, quemaduras extensas.
- Colonización previa por *Candida*.
- Insuficiencia renal aguda, especialmente en los pacientes que necesitan diálisis (6).

### 3.2.6. Diagnóstico

Informarse ampliamente sobre el historial médico del paciente. Esto puede incluir la recopilación de datos sobre infecciones previas (9).

- La evaluación histopatológica y los cultivos fúngicos
- Los emocultivos
- Los niveles séricos de beta-D-glucano
- Panel sobre T2Candida

Dado que las especies de *Candida* suelen ser organismos comensales, la presencia de estos patógenos en el esputo, la cavidad oral, las secreciones vaginales, la orina, las heces o los cultivos cutáneos no significa que se trate de una infección invasiva o progresiva. También se debe reconocer la existencia de una lesión clínica definitiva, acompañada de la documentación histológica de la invasión tisular (por ejemplo, levaduras, pseudohifas o hifas en las muestras de tejido), excluyendo otras posibles etiologías. La positividad de las muestras cultivadas obtenidas en sitios normalmente estériles, como sangre, líquido cefalorraquídeo, líquido pericárdico o biopsias de tejidos, constituye una prueba convincente que requiere una intervención terapéutica sistémica (8).

presenta una innovadora plataforma de diagnóstico cualitativo que ha recibido recientemente la aprobación de la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA) de los Estados Unidos para la identificación de la candidemia, con un tiempo medio para la identificación de las especies de menos de cinco horas. El panel T2Candida funciona con K2EDTA en el instrumento T2Dx totalmente automatizado en sangre total y posee la capacidad de detectar cinco especies de *Candida*, específicamente *C. albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida parapsilosis*, *Candida krusei* y *Candida glabrata* (10).

### 3.2.7. Tratamiento

No es simplemente la erradicación del organismo patógeno, sino más bien la resolución de la infección clínica, que normalmente se logra en una o dos semanas. En el contexto de la intervención terapéutica, es igualmente fundamental administrar antimicóticos junto con la eliminación de los factores predisponentes. Las prácticas de higiene bucal y lingual deben modificarse de acuerdo con las circunstancias específicas. Un régimen de tratamiento que consista únicamente en farmacoterapia, sin la identificación previa y la mitigación de los factores predisponentes, no hace más que fomentar la recurrencia de las infecciones. En los casos de candidiasis hiperplásica, también se justifican las intervenciones quirúrgicas (11).

### 3.3. Moléculas de *quorum sensing* en *C. albicans*

- **Farnesol**

Funciona como una señal que ayuda a las células del *C. albicans* a comunicarse en función de la densidad, de tal modo cuando las células aumentan de número, la concentración de farnesol se reduce generando respuestas en las células fúngicas.

- **Tiroxina**

Molécula que influye en expresión génica

- **Ácido Farnesoico**

Derivado del farnesol

#### 3.3.1. Mecanismo de *quorum sensing* aplicado en la patogénesis de *C. albicans*

En relación con los hongos, se han realizado numerosas investigaciones sobre el fenómeno de detección de quórum (QS) en *C. albicans*. Hallazgos recientes han demostrado que *C. albicans* organiza su transformación morfogénica a través de alteraciones en la densidad celular, lo que facilita la germinación y el posterior desarrollo de las hifas, condiciones que se ven reforzadas por parámetros óptimos de pH y temperatura (específicamente, pH 7,5 y 37 °C). Los principios en los que se basa esta modulación de la morfogénesis en función de la densidad se parecen a los observados en las células bacterianas, que modulan sus actividades fisiológicas mediante mecanismos de detección de quórum. Se ha identificado una serie de entidades moleculares que influyen en la capacidad de *C. albicans* para pasar de una forma de levadura a una hifa, entre las que se ha demostrado que tres compuestos (tirosoles, farnesol y ácido farnesoico) funcionan como agentes autoinductores dentro del

marco de detección de *quorum*. Por el contrario, la biosíntesis del farnesol se ha corroborado en varios aislados de *Candida* obtenidos en laboratorios clínicos (12).

### 3.3.2. Detección de quórum en *C. albicans*

La virulencia de *C. albicans* depende de su capacidad para cambiar entre distintos estados morfológicos y fenotípicos, y estas transiciones están directamente influenciadas por su entorno. La detección de *quorum sensing* es utilizada por *C. albicans* para comunicarse con otras células de *Candida*, y es impulsada por moléculas solubles de detección de *quórum* o autoinductores que se secretan en el medio ambiente de una manera dependiente de la densidad (13).

### 3.3.3. Expresión proteica sobre *C. Albicans*

Constituye un aspecto para comprender su biología y mecanismos de resistencia, como las infecciones. *C. albicans* puede cambiar de forma según las condiciones ambientales, estos están intrínsecamente relacionados con la expresión proteica.

### 3.3.4. Métodos para estudiar la expresión proteica en *C. albicans*

- **Proteómica**

Adquiere la visión de los proteomas de *C. albicans* y del hospedador.

- **Western Blot**

Es una técnica en Biología molecular de uso común diseñada para estudiar una proteína específica en una muestra que contiene muchas otras proteínas (14).

- **RT-qPCR**

Contribuye de manera indirecta la cantidad de proteínas que se producen

- **Inmunofluorescencia**

Identifica los anticuerpos de *C. albicans*

## 3.4. Antecedentes Investigativos

### 3.4.1. Antecedentes Internacionales:

**Título:** Moléculas bacterianas sensibles al quórum como promotoras inhibitoras naturales del dimorfismo de virulencia de *C. albicans*: un estudio *in silico* e *in vitro*.

**Autor:** Ravi Jothi; Nagaiah Hari Prasath; Shanmugaraj Gowrishankar; Shunmugiah Karutha Pandian.

**Resumen:** Este estudio se centra en la eficacia antihifal de los QS bacterianos a través de análisis *in silico* e *in vitro* contra el cambio dimórfico de *C. albicans* mediante el análisis *in silico* e *in vitro* contra el cambio dimórfico de *C. albicans*. Los resultados del análisis inicial de cribado virtual revelaron el potencial inhibidor de las hifas mediante el cribado virtual. Asimismo, la simulación MD de 50 ns demostró una unión estable de los ligandos con las proteínas diana, con una disminución en la fluctuación conformacional y una mayor afinidad. Asimismo, se ha constatado que los inhibidores de hifas QSM identificados son seguros para el uso biológico. En términos generales, mediante el análisis *in silico* e *in vivo*, el presente estudio abre nuevas oportunidades para considerar los QSMs bacterianos como potenciales inhibidores contra hongos, especialmente *C. albicans*. Este estudio destaca que la interacción antagónica entre bacterias y hongos puede ser empleada como una herramienta para superar ciertas infecciones fúngicas (15).

**Título:** Detección de quórum e interacciones fúngico-bacterianas en *C. albicans*: una red comunicativa que regula la coexistencia y virulencia microbiana.

**Autor:** Luisa De Sordi, Fritz A. Mühlischlegel.

**Resumen:** En este estudio se puede evaluar su valor como posible objetivo terapéutico. En este escenario, un paso adicional importante es realizar pruebas de hongos patógenos en el entorno natural. Los sistemas QS destinados a la terapia pueden resultar ineficientes si otras entradas externas actúan en la dirección opuesta *in vivo*. Además, la morfología celular, la propagación de infecciones y la formación de biopelículas están influenciadas por comunidades microbianas coexistentes. Por lo tanto, es importante obtener información detallada sobre las interacciones *in vivo* entre hongos y bacterias, y es necesario desarrollar sistemas para evaluar estas relaciones. Sin embargo, abordar la comunicación y la garantía de calidad en comunidades polimicrobianas puede ser una cuestión compleja. Los caminos comunes y las señales cruzadas dificultan encontrar el objetivo adecuado para lograr el efecto deseado (16).

**Título:** La resistencia al fluconazol en *C. albicans* es inducida por la detección de quórum de *Pseudomonas aeruginosa*

**Autor:** H. M. H. N. Bandara, D. L. A. Madera, I. Vanwonderghem, P. Hugenholtz, B. P. K. Cheung & L. P. Samaranyake

**Resumen:** En este estudio los autores sugieren que la presencia de C12AHL afecta favorablemente a *C. albicans* desafiados con fluconazol al prevenir cambios en la biosíntesis de esteroides, aumentar la actividad de la bomba de eflujo del fármaco, reducir la respuesta al estrés oxidativo y mantener la integridad de la membrana celular de la levadura. Estas conclusiones se basan en gran medida en nuestros datos transcriptómicos. Para confirmar esta hipótesis son necesarias más investigaciones sobre los análisis de esteroides (incluidos los esteroides celulares totales y los intermedios de esteroides), así como sobre los cambios en la composición de la membrana plasmática de la levadura. Además, estudios recientes han puesto de relieve algunas de las complejas interacciones entre *C. albicans* y *P. aeruginosa* en las infecciones polimicrobianas (17).

#### 4. HIPÓTESIS

**H1=Dado que** se inhiben la proliferación de *C. albicans* en la presencia del *quorum sensing*.

**Es probable** que existan cambios en el proteoma de *C. albicans*.

**H0= Dado que** se inhiben la proliferación de *C. albicans* en la presencia del *quorum sensing*.

**Es probable** que no existan cambios en el proteoma de *C. albicans* y si, otros mecanismos desconocidos responsables por dicho proceso de inhibición.



## II. PLANTEAMIENTO OPERACIONAL

### 1. TÉCNICAS, INSTRUMENTOS Y MATERIALES DE VERIFICACIÓN

#### 1.1. Técnicas

En el estudio actual, se recogerá sistemáticamente del diente una muestra del sobrenadante derivado de *C. albicans* a intervalos del día 1, 7 y 14. Las metodologías de observación y medición se implementarán utilizando el aparato de cromatografía de interacción hidrofoba junto con el análisis de homología secuencial de las proteínas mediante espectrometría de masas.

VARIABLES	INDICADORES	TÉCNICA	INSTRUMENTO
Dependiente	Molécula Quorum Sensing Autoinductor 2		
Independiente	Nivel de expression proteómico en el sobrenadante de <i>c.albicans</i> .	Observación y medición	1. Cromatografía de Interacción Hidrofóbica 2. Análisis de homología secuencial de proteínas por espectrometría de masas

#### 1.1.1. Cromatografía de Interacción Hidrofóbica

El sistema cromatográfico que fue usado, es el de cromatografía convencional, usando la mini columna Hit Trap Phenyl FF (High sub) 1 ml. HITrap (H&C USA.). Las fracciones purificadas, son colectadas fracciones en muestras de 0.5 mL. por tubo determinándose la actividad proteica. Las fracciones colectadas son utilizadas para determinar la cantidad de picos de proteínas encontrados en la muestra y/o para la obtención del “pool” y guardadas a 0°C previamente liofilizadas. El flujo fue mantenido constante a 0.5 ml/min y monitoreado a 280 nm (18).

### 1.1.2. Estudios de homología secuencial “*de novo*” por Espectrometría de masas en tándem.

La espectrometría de masas en tándem ESI-CID-MS/MS se realizó utilizando un espectrómetro de masas híbrido de tiempo de vuelo de cuadrupolo (Q-TOF, Micromass Manchester, Reino Unido), equipado con una fuente de nanopulverización que funciona en modo de ionización positiva. Los parámetros de ionización se establecieron de la siguiente manera: una tensión capilar de 2,3 kV, con una tensión cónica y una tensión de lente RF1 fijadas en 30 V y 100 V, respectivamente, además de una energía de colisión de 10 eV. La temperatura de la fuente se mantuvo a 70 °C y se empleó gas nitrógeno como gas de cono a un caudal de 80 l/h; no se utilizó gas nebulizador en el proceso de generación de la pulverización. Para la fragmentación iónica, se empleó gas argón. La calibración externa se realizó con yoduro de sodio dentro de un rango de masas de 50 a 3000 m/z. Todos los espectros de masas se adquirieron utilizando el analizador TOF configurado en «modo V» (TOF kV = 9,1) con un voltaje MCP fijado en 2150 V (19).

### 1.1.3. Secuenciación “*de novo*” de péptidos trípticos.

Los péptidos trípticos alquilados se fraccionaron mediante cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC) de fase inversa, se recogieron manualmente, se liofilizan y, posteriormente, se resuspendieron en una solución de acetonitrilo al 20% y ácido trifluoroacético (TFA) al 0,1% (19).

Cada péptido se introdujo individualmente en la fuente del espectrómetro de masas mediante una jeringa a un caudal de 500 nl/min-1. Antes de realizar el análisis de espectrometría de masas en tándem, se obtuvo un espectro ESI/MS (modo TOF MS) para cada pico identificado mediante la HPLC de fase inversa en un rango m/z de 400 a 2000, lo que permitió seleccionar los iones de interés. Posteriormente, estos iones se fragmentaron dentro de una celda de colisión (modo TOF MS/MS). Las variaciones en la energía de colisión se aplicaron en función del estado de carga y la masa de los iones. Los espectros resultantes se capturaron con el analizador TOF y se analizaron con el software del algoritmo Masslynx-Maxent (20).

Los espectros de carga única se procesaron manualmente utilizando la aplicación PepSeq incorporada en MassLynx (21).

En la fase posterior, la integración de los patrones de fragmentación junto con la consulta de la literatura pertinente facilitó el establecimiento de una base de datos MASCOT diseñada para el análisis de secuencias de proteínas. En la fase terciaria, la base de datos autoconstruida se integró en el marco MASCOT (22).

## 1.2. Instrumentos

### 1.2.1. Instrumentos documentales:

- Carta de presentación al decano de la facultad de Odontología de la Universidad Católica de Santa María.
- Autorización obtenida del coordinador principal del Laboratorio de Química y Proteínas de la UCSM.

### 1.2.2. Instrumentos mecánicos:

- Muestra de sobrenadante de *C. albicans* en diente de 1 día.
- Muestra de sobrenadante de *C. albicans* en diente de 7 días.
- Muestra de sobrenadante de *C. albicans* en diente de 14 días.
- Equipo de bioseguridad (guantes, lentes, mascarilla)
- Columna Cromatográfica de interacción hidrofóbica (HiTrap)
- Lector de placa (Mhmedical USA)

**Figura 1 Imagen de instrumentos mecánicos**



### 1.3. Materiales de Verificación

- Aparatos fotográficos.
- Dispositivos computacionales, incluidos ordenadores portátiles y/o tabletas.
- Instrumentos de escritorio.
- Bases de datos electrónicas (PatternLab)

## 2. CAMPO DE VERIFICACIÓN

### 2.1. Ubicación Espacial

#### 2.1.1. Ámbito General

La investigación se llevó a cabo en el entorno urbano de Arequipa, específicamente dentro de las instalaciones de la Universidad Católica de Santa María.

#### 2.1.2. Ámbito específico

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

#### 2.1.3. Ubicación Temporal

Esta investigación se llevará a cabo de septiembre a noviembre del año 2024 y se caracterizará por ser un estudio transversal; por lo tanto, las variables se examinarán en un marco temporal singular de 1, 7 y 14 días.

### 2.2. Unidad de estudio

En el contexto de esta investigación, se analizará una muestra del sobrenadante de *C. albicans* en relación con dientes cariados de 1, 7 y 14 días.

### 2.3. Criterios de inclusión

No corresponde.

### 2.4. Criterio de exclusión

No corresponde.

## 3. ESTRATEGIA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

### 3.1. Organización de la información

Antes de iniciar el estudio será necesario:

- Autorización del coordinador principal del Laboratorio de Química y Proteínas de la UCSM, ubicado en el **Anexo 1**.
- Coordinación con los encargados del laboratorio específico.

### 3.2. Recursos

#### 3.2.1. Humanos

- **Investigador:** Gabriela Vargas Lanza
- **Asesor:** Luis Alberto Ponce Soto

#### 3.2.2. Físicos

Ambiente físico del Laboratorio de Química y Proteínas de la UCSM.

#### 3.2.3. Económicos

Se obtendrán las unidades de estudio (experimentación), a través de muestra obtenida de una clínica local. Los recursos económicos son propios del investigador para el uso del laboratorio.

### 3.3. Prueba Piloto/Validación del Instrumento

Debido al tamaño de la población y muestra no se realizará prueba piloto.

## 4. ESTRATEGIA PARA MANEJAR LOS RESULTADOS

Realizado el análisis de proteómica de las muestras

- **Conteo:** Se utilizará matrices de recuento

#### 4.1. Tipo de procesamiento:

Se empleará un procesamiento computarizado utilizando programas como Mascot y Pattern lab como base de datos para el análisis de secuencia.

#### 4.2. Plan de Procesamiento

##### 4.2.1. Clasificación

La información obtenida de los instrumentos aplicados será ordenada en una matriz de sistematización

#### 4.2.2. Codificación

Para el procesamiento computarizado será necesario haber

#### 4.2.3. Tabulación

Se elaborará tablas de doble entrada

#### 4.2.4. Graficación

Se elaborará gráficos de barra doble

#### 4.3. Plan de Análisis

<b>VARIABLE INVESTIGATIVA</b>	<b>TIPO DE VARIABLE</b>	<b>POR ESCALA DE MEDICIÓN</b>	<b>ESTADISTICA DESCRIPTIVA</b>
Nivel de expresión proteómico en el sobrenadante de C. albicans.	Cualitativo	De razón ninguna	De razón ninguna



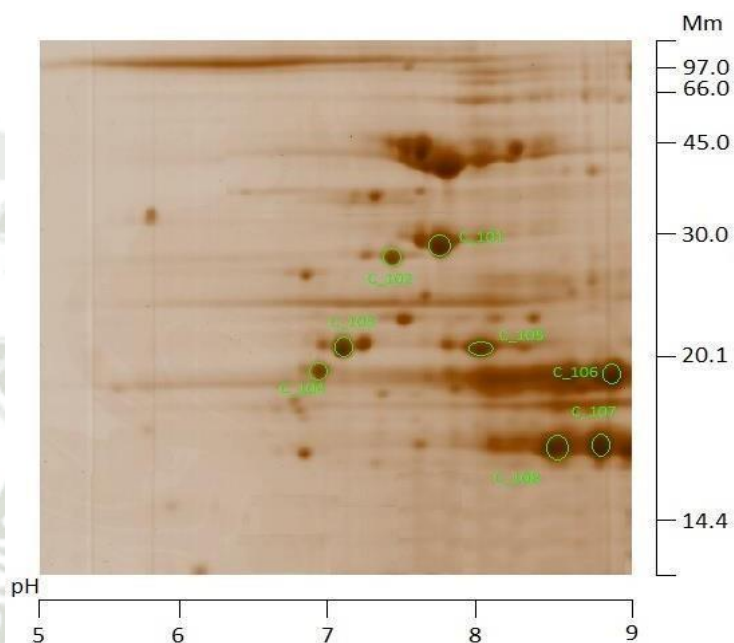
**CAPÍTULO III:  
RESULTADOS**

### III. PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE DATOS

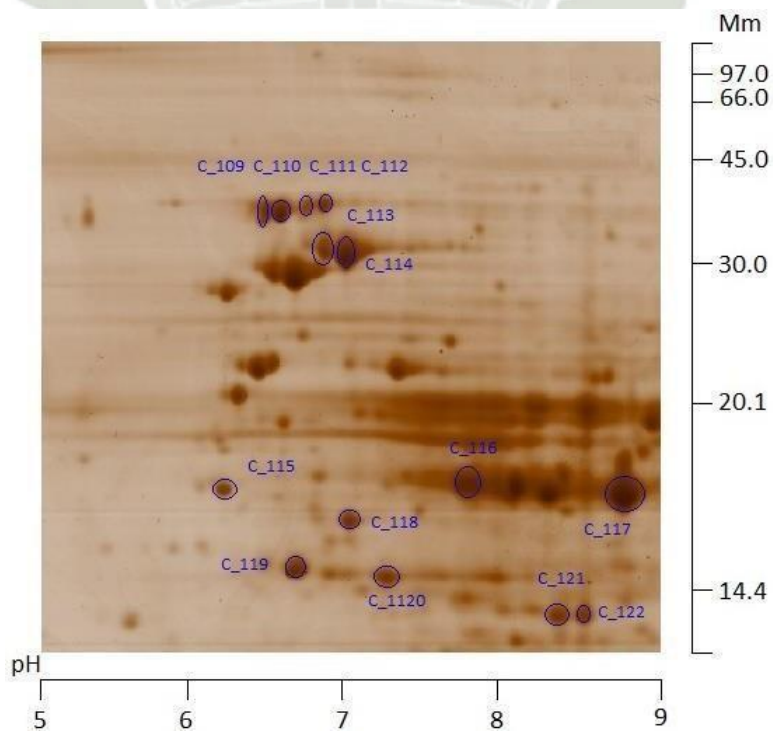
#### Geles de electroforesis bidimensional

Los geles representan:

**Figura 2** Gel con el “quorum sensing” (autoinductor 2)



**Figura 3** Gel 2D sin el “quorum sensing” (autoinductor 2)



**Tabla de spots y su relación masa pI**

**Tabla 1 Proteins identified by mass spectrometry ESI-Q-TOF\_MS/MS**

N	SPOT NUMBER	ACCESSION	PEPTIDE SEQUENCE	Mm	pI
1	C_109	AOW27414	...KCLKLDYDNQYLETCLKVLTTVGEISK...	3012.45	6.00
2	C_110	AOW26936	...KYRLLASDDTISDWGHEYMRLALEIGE...	3318.69	4.52
3	C_111	AOW28902	... KQPALKCNCASKASVENVVPSSND ...	2417.71	7.92
4	C_112	EEQ44481	... KKGANEATKTLNRGISEFII ...	2189.50	7.96
5	C_113	AOW27184	... KVNKSLIEFLKSANLSN ...	1904.20	5.03
6	C_114	AOW27484	...LNDTEYKKVALLGWAIELLQAYFLV...	3038.59	4.70
7	C_115	AOW31260	... KADIFQVPETLPQEVLDKMHAPAK ...	2705.14	7.93
8	C_116	AOW27414	... KCGYKDGGMVEMVCRF ...	1691.00	6.00
9	C_117	Q59SN8	... KTAPIGETATVIVDVPYHT ...	2011.28	4.19
10	C_118	XP_721446	... KGEAGTGDVSSAVDHIRTIKK ...	2168.40	5.84
11	C_119	XP_721446	...KIPVMAKCRIGHFTESQILEALGVVDYI...	3146.69	5.84
12	C_120	AAA68015	... FGAGEDPERPFDDAVVDGF ...	2039.12	4.67
13	C_121	XP_0024223 31	... KAVLSAANIEIEEEKVEK ...	1999.25	3.79
14	C_122	AOW26479	... KYIGYDMDQAIALWNSAL ...	2071.35	4.62

**Lista de proteínas en formato FASTA**

Muestra de las secuencias completas con los respectivos códigos de acceso en la base de datos

**Tabla 2**

**Proteína AOW27414 (C\_109)**

AOW27414 (C_109)
<b>AOW27414. 1 glucosamine 6-phosphate N-acetyltransferase [Candida albicans 12C]</b> MMLPQGYTFRKLLKLDYDNQYLETLLKVLTTVGEISKEEFTELYNHWSLPSIYHPY VITNASGIVVATGMLFVEKLIHECGKVGHIEDISVAKSEQGKGLGYLVTSLSLTKV AQENDCYKVIDCSPENVGFYEKCGYKDGGMVEMVCRF

**Tabla 3**

**Proteína AOW26936 (C\_110)**

AOW26936 (C_110)
<b>AOW26936. 1 proteasome regulatory subunit N1 [Candida albicans L26]</b> MAPSQEQSKEQIQSQTSKDDQPTKSDKSKVQKEEELSEEDQHLKDELELLVERLNEPNQDR ALYNKYLDALKTFIKESTTSMTAVPKPLKFLRPHYPSLTEL YTNWSNQFSAKDVIVIKLADI LSVLATTYSDEGNRDSLKYRLLASDDTISDWGHEYMRHLALEIGESFQENLGVDEELVNKL VKLALQIVPFFLKHNAEADAVDLLLEIECIDKLPQFVDENTFARVCLYVTSCVPYLAPPDDV SFLNTAYSIIYLSHNQLTQALTLAIKLDNLIKQVFDSTTDESLHKQLGFILSQQNSNFKYPG ENPEVQECISNVKLAEYFQYLVKELNLLDPKVPEDVYKSHLENSKFGLGTSGSIDSQAKQNL AASFVNGFLNLGFGNDKLVQTEEDNKSUIYRTKSGSMASSTASLGSIHQWNINEGLQVLD KYTYSEDSEVKAGALLGTGVVSANVHDEVDAAFALLQEYVHEPNKLYQTAANGLGIAFA GSANEDVNLNLLPLVSDLDISLEISCLAALALGHIFVGTCHGDVTSTILQTLLERDYTQLTNK FIKFMSLGLGLLYMGRTEQAEDVLETIDAIEHPISKTLKVLVNICAFAGTGNVLQIQALLQM CTAKPKDQLEEEKLEQSEEEQQQQQKNDTKSNGEGGEEEDVEMEDAESKNETSSENT TASATSTTSSSKEKGDSSSSAAAAAVGDEKAQEGGDDKEDEEEDVEMEDAESKNETSSENT CIAMGEDIGQDMSLRHFGHLMHYGNSLIRRAVPLAMGLVSTSNPQMKVFETLSRYSHDPD LEVAQNSIYSMGLVGAGTNNARLAQLLRQLASYIYKSPDTLTMVRIAQGGILHLGKGTLLT PYNsertILSKVSLASLLTIAIALLDPRSFILNDSTTETTHQLLYLTPAVKPRMLVTVDEELK PIKVNVRVGQAVDVVGQAGKPKTITGWVTQSTPVLNNGERAELNTDEWISLSSSLEGVV ILKKNPEYMEIDS

**Tabla 4**

**Proteína AOW28902 (C\_111)**

AOW28902 (C_111)
<b>AOW28902. 1 Crd2p [Candida albicans SC5314]</b> MACSAAQCVCQAQKSTCSCGKQPALKCNCSKASVENNVVSSNDACACGKRKSSC TCGANAI CDGTRDGETDFTNLK

**Tabla 5**

**Proteína EEQ44481 (C\_112)**

<b>EEQ44481 (C_112)</b>
<b>EEQ44481.1 ribonucleoprotein-associated protein [Candida albicans P37005]</b> MSAPNPKAFPLADSALTQQILDVVQQSQNLRQLKKGANEATKTLNRGISEFIIMAA DTEPIEILLHLPLLCEDKNVPYVVFVSSKAALGRACGVSRPVIAASVTSNDASSIKNQI YGIKDKIETLLI

**Tabla 6**

**Proteína AOW27184 (C\_113)**

<b>AOW27184 (C_113)</b>
<b>AOW27184. 1 lysophospholipase [Candida albicans]</b> MNLISLLLLSISLVLGSSPSGGYAPGIVQCPINSNSNSSSSSRNTTFSFIREADSISDL EKQWIKQRQLKVNKSLIEFLKSANLSNFPNQNFIDAKDYQGINLGLAFSGGSYRAM LNGAGQLMALDSRSSSSPSESGSGSGSLGGILQSANYIGGLSGSSWLLGSLAMQ GWPTVEEVVFENPHDVWNLTSSRQLVNQTGLWTIVFPVMFDNMNKALSHMNF DNNADGIKFDLEAKEKAGFETSLTDAWARGLAHQLFPKGKDNYGSSETWSDIRNI DAFANHDMPPFVTGLGRKPGTTVYNLNSTVIEMNPFEGSFDPDLNTFTDIKYLGT NVSNGVVPDLCVNGFDNSGFIVGSSSLFNSFLNLTLCVDCNCSLNSVIKWILKKFLT YLSKAHEDVALYKPNPFFNSQYAKSDNITTSDTLYVIDGGIGGEVIPLSTLMVKERA LDIVFAFSDTNTKTNWPDGSALISSYERQFSQQGSSSLCPYVPDTKTFLEKGLTAK PTFFGCDAKNLTALEKDGVIPPLVVYFANRPYEYYSNVSTFDLTFTDEQKKGLIKN GFDVATRLNGTIDPEFKSCIACAVIRREEERRGIEQSDQCKKCFKNYCWDGTYASG PAENYVNFTDSSLTNGSTVIFYGKADAKVSSSKGGLFGFLKRDTQNNDEKEEFIVV RESNSDSLKLSKYLTIASLALYLVIM

**Tabla 7**

**Proteína AOW27484 (C\_114)**

<b>AOW27484 (C_114)</b>
<b>AOW27484. 1 farnesyl pyrophosphate synthase [Candida albicans P78042]</b> MSDKLAARERFLDVFEDLVEELKQILVSYNMPQEAIEWFVRSLSNYNTPGGKLN LSVVDTFAILNNTTSDKLNDTVALLGWAIELLQAYFLVADDMMDQSKTRRGQPC WYLVEGVNNAINDSFMLEGAIYILLKKHFRQDPYVVDLLDLFFQTELGQLLDLITA DEEIVDLKFSLEKHSFIVIFKTA YYSFYLPVALAMYMSGINDEKDLKQVRDILPLG EYFQYLDCFGTPEQIQIGKIGTDIKDNKCSWVINQALLIATPEQRQLDDNYGKKDDE SEQKCKDLFKQLGIEKIYHGYEES LRKQIDQIDESRGLKDKDVLTAFLGKVYKRSK

Tabla 8

Proteína AOW31260 (C\_115)

AOW31260 (C_115)
<p><b>AOW31260.1 flavodoxin-like fold family protein [Candida albicans SC5314]</b>                      MKIAIIQYSTYGHITQLAKAVQKGVADAGYKADIFQVPETLPQEVLDKMHAPAKPTDPIAT                      NDTLTEYDAFLFGVPTRYGTAPAQFFFEFWGATGGLWANGSLAGKPAGVVFVSTSGQGGGQ                      ETTVRNFLNFLAHHGMPYIPLGYANAFALQSSMEEVHGGSPYGAGTFANVDGSRQPSTLEL                      EIAEKQGEAFVKSATKLVKGSKKTNTTTTSKSAATSDAAG                      TTSGTAAGTSAATGAATGTSAPKESTKEASSAKKEATNGTATRTQQSTKAPETAEKSSCS                      KCIIM</p>

Tabla 9

Proteína AOW27414 (C\_116)

AOW27414 (C_116)
<p><b>AOW27414.1 glucosamine 6-phosphate N-acetyltransferase [Candida albicans 12C]</b>                      MMLPQGYTFRKLKLTLDYDNQYLETLKVLTTVGEISKEEFTELYNHWSLPSIYHPY                      VITNASGIVVATGMLFVEKLIHECGKVGHIEDISVAKSEQGKGLGYLVTSITKV                      AQENDCYKVILDCSPENVGFYEKCGYKDGGMVEMVCR F</p>

Tabla 10

Proteína Q59SN8 (C\_117)

Q59SN8 (C_117)
<p><b>Q59SN8.1 agglutinin-like protein [Candida albicans]</b>                      MLLQFLLSLCVSVATAKVITGVFNSFDSLWTRAGNYAYKGPNRPTWNAVLGWS                      LDGTSANPGDTFTLNMPVFKFITDQTSVDLTADGVKYATCQFYSGEEFTTFSSLK                      CTVSNTLTSSIKALGTVTLPISFNVGGTGSVDLESSKCFKAGTNTVTFNDGDKKISI                      DVDFEKTNEDASGYFIASRLIPSINKASITYVAPQCANGYTS GAMGFTIGSGDTTIDC                      SNVHVGITKGLNDWNFPVSSDLSYNKTCSSSTGISITYENVPAGYRPFDFVYTSVSD                      QNRQLKYTNDYACVGSSLQSKPFLRLRGYNNSEANSNGFVIVATTRTVTDSTTA                      VTTLFPNPSIDKTKTIEILQPIPTTTTITSYVGVTTTSYSTKTAPIGETATVIVDVPYHTT                      TTVTSEWTGTITTTTTTRTNPTDSIDTVVVQVPSNPNTVSTTEYWSQSYATTTTITAPP                      GGTDTVIIREPPNHTVTTTEYWSQSYATTTTVTAPPGGTDSVIIREPPNPTVTTTEYW                      SQSYATTTTITAPPGGTDTVIIREPPNHTVTTTEYWSQSYATTTTVTAPPGGTDSVIIR                      EPPNPTVTTTEYWSQSYTTTTTVTAPPGGTDSVIIREPPNPTVTTTEYWSQSYATTTT                      VTATPGGTDTVIIREPPNYTVTTTEYWSQSYATTTTVTAPPGGTDTVIIREPPNYTVT                      TTEYWSQSYATTTTVTAPPGGTDTVIIREPPNYTVTTTEYWSQSYATTSTITAPPGG                      TDTVIIREPPNYTVTTTEYWSQSYATTTTVTGPPGGTDTVIIREPPSPTVTTTEYWSQ                      SYATTTTVTAPPGGTATVIIKEPPNYTVTTTEYWSQSYATTTTVTGPPGGTDTVIIRE                      PPNPTVTTTEYWSQSFATTTTVTAPPGGTDSVIIREPPNPTVTTTEYWSQSYATTTT                      TAPPGGTDSVIIREPPNPTVTTTEYWSQSYTTTTTVTAPPGGTDSVIIREPPNPTVTTT                      EYWSQSYATTTTVTATPGGTDTVIIREPPNYTVTTTEYWSQSYATTTTVTAPPGGT                      DTVIIREPPNYTVTTTEYWSQSYATTTTVTAPPGGTDTVIIREPPNYTVTTTEYWSQS                      YATTSTITAPPGGTDTVIIREPPNYTVTTTEYWSQSYATTTTVTGPPGGTDTVIIREPP                      SPTVTTTEYWSQSYATTTTVTAPPGGTATVIIKEPPNYTVTTTEYWSQSYATTTTVT                      GPPGGTDTVIIREPPNPTVTTTEYWSQSFATTTTVTAPPGGTDSVIIREPPNPTVTTTE</p>

YWSQSYATTTTVTAPPGGTDSVIIREPPNPTVTTTEYWSQSFAATTTTVTAPPGGTDS  
VIIREPPNPTVTTTEYWSQSYATTTTVTAPPGGTDSVIIREPPNPTVTTTEYWSQSYA  
TTTTVTAPPGGTATVIIREPPNYTVTTTEYWSQSYATTTTVTAPPGGTATVIIREPPN  
YVTTTTEYWSQSYATTTTITAPPGD TDTVIIREPPNYTVTTTEYWSQSFAATTTTVTAP  
PGGTDSVIIREPPNPTVTTTEYWSQSYATTTTVTAPPGGTATVIIREPPNYTVTTTEY  
WSQSYATTTTVTAPPGGTATVIIREPPNYTVTTTEYWSQSYATTTTITAPPGD TDTVI  
IREPPNYTVTTTEYWSQSYATTTTVTAPPGGTDTVIIREPPNYTVTTTEYWSQSYAT  
TTTTVTAPPGGTATVIIREPPNYTVTTTEYWSQSYATTTTVTGPPGSTDTVIIREPPNPT  
VTTTEYWSQSYATTTTVTAPPGGTATVIIREPPNYTVTTTEYWSQSYATTTTVTGPP  
GGTDTVIIREPPNPTVTTTEYWSQSYATTLTITAPPGGTNSVIIRVHSSTNDESSESTF  
STLSVPSFSGSISIVSTVSRPHYVNSTVTHLPSSSSKPDIPSSDVVSTNDNSLTSLTG  
SENGKTSVAISTTFCDDENGCQTSIPQGSVVRTTATTTATTTTIIGDNNNGSGKSKSGE  
LSSTGSVTTNTATPDVPSTKVPSPNGAPGTGVPPLAPSTETQTTNNVPGSPNIPATG  
TTDIIRESTTVSHTVTGNGNTGVPMNPVLTSTSLTGATNSATNPS  
HETSVNTGSGGSTNIVTPSSATATVVIPGTDNGATTKGQDTAGGGNSNGSTATTNI  
QGGNNEPGNQPGTNTTGEPFGT TDTQSVESISQPTTLSQQTSSLISTPLASTFDGSG  
SIVQHSGWLYVLLTAISIFF

**Tabla 11**

**Proteína XP\_721446 (C\_118)**

**XP\_721446 (C\_118)**

**XP\_721446.1 pyridoxine biosynthesis protein [Candida albicans SC5314]**  
MSDFKVKAGLAQMLKGGVIMDVVNADQAKIAEAAGACAVMALERIPAEMRKSQVCRM  
SDPKMIKDIMETVKIPVMAKCRIGHFTESQILEALGVYDIDESEVLTPADTVYHIDKTKFKVP  
FVCGARNLGEALRRINEGAAMIRCKGEAGTGDVSSAVDHIRTIKKDIEEASKLKTETEIVEL  
ARELRVPTELLIQVIEKKLPVVLFCAGGVSTPADAALLMQLGCDGVFVVGSGIFKSKNPEKL  
AKAIVNATTHYNDPVKLLQYSTDLGELMGGIAIDSIKEEEKLEKRGW

**Tabla 12**

**Proteína XP\_721446 (C\_119)**

**XP\_721446 (C\_119)**

**XP\_721446.1 pyridoxine biosynthesis protein [Candida albicans SC5314]**  
MSDFKVKAGLAQMLKGGVIMDVVNADQAKIAEAAGACAVMALERIPAEMRKSQVCRM  
SDPKMIKDIMETVKIPVMAKCRIGHFTESQILEALGVYDIDESEVLTPADTVYHIDKTKFKVP  
FVCGARNLGEALRRINEGAAMIRCKGEAGTGDVSSAVDHIRTIKKDIEEASKLKTETEIVEL  
ARELRVPTELLIQVIEKKLPVVLFCAGGVSTPADAALLMQLGCDGVFVVGSGIFKSKNPEKL  
AKAIVNATTHYNDPVKLLQYSTDLGELMGGIAIDSIKEEEKLEKRGW

**Tabla 13**

**Proteína AAA68015 (C\_120)**

<b>AAA68015 (C_120)</b>
<p><b>AAA68015.1 chitinase 2 [Candida albicans P75016]</b>                      MLSFKSLLAAAVVASSALASASNQVALYWGQNGAGGQERLAQYCQEADVDIILLSFLNLF                      PDPLNVNFANQCGNTFESGLLHCSQIGADIKTCQSLGKTVLLSLGGGVGDYGFSDAASATK                      FADTLWNKFGAGEDPERPFDDAVVDGDFDIEHGGATGYPELATALRGKFAKDTSKNYFL                      SAAPQCPYPDASLGDLLSKVPLDFAFIQFYNNYCSINGQFN                      YDTWSKFADSAPNKNIKLFVGV PATSNIAGYVDTSKLSSAIEEIKCDSHFAGVSLWDASGA                      WLNTDEKGENFVVQKNVLNQNACVAPSSATTQSTTTTSSAVTQSTTTTSAAITQSATTT                      SAAVTTKSNQIVTSSSSSSSIFYGNSTTESSTGIATGTVLPTGSNENAATTGSGSNTKLAIST                      VTDVQKTVITITSCSEHKCVATPVTTGVVVVTDIDTVYTTYCPLTNSQVYVPVKTVVCTEE                      KCVPSPTSTAQKPKASTTIKGVKQTTSPVVGTTGEGVKKIVTTSAQTVGSSTKYVTIELT                      STITPVTYPTSVASNGTNTTVPVFTFEGGAAVANSLSNVWFTVPFLLAFAF</p>

**Tabla 14**

**Proteína XP\_002422331 (C\_121)**

<b>XP_002422331 (C_121)</b>
<p><b>XP_002422331.1 60S acidic ribosomal protein P2 [Candida albicans]</b>                      MHLEIFSKYLAAYLLL VNAGNATPSAADVKAVLSAADIEVEEEKVEKLISELDGKN                      VEELIAEGNEKLSSVPSGAPAAAAGGASAAAGGEEAAEEAAEEEAEEESDDDMGFG                      LFD</p>

**Tabla 15**

**Proteína AOW26479 (C\_122)**

<b>AOW26479 (C_122)</b>
<p><b>AOW26479.1 S-adenosylmethionine-homocysteine S-methyltransferase [Candida albicans SC5314]</b>                      MGRVQDILEKRKLVIDGALGTELERLLPTTSTYLPSGSPLWSGQVLIKNPGLVEQVH                      LDYINV GADMIITSTYQTSYASLHKYIGYDMDQAIALWNSALNVAKNAVKKSGRD                      DVIIAGSIGPYATLLANGSEYNGDYQGV TDEELIEYHTPLFEFYENSVDV IICIETIPSF                      QELKVIIGLAKKYTSKEFFISINPQTGSALS DGTSLIEVAQLFAEINDPRFVA VGINCT                      SYENV DQISTYLTD FPLFIYPNLGFVYD TTVHKFVSKVLQESTWSKSVAKWLAFP N                      VKAIGGCCSTTPAEIKQVAQLINQ</p>

## Modelado estructural y funciones de proteínas

**Figura 4 (C\_109) glucosamine 6-phosphate N-acetyltransferase**



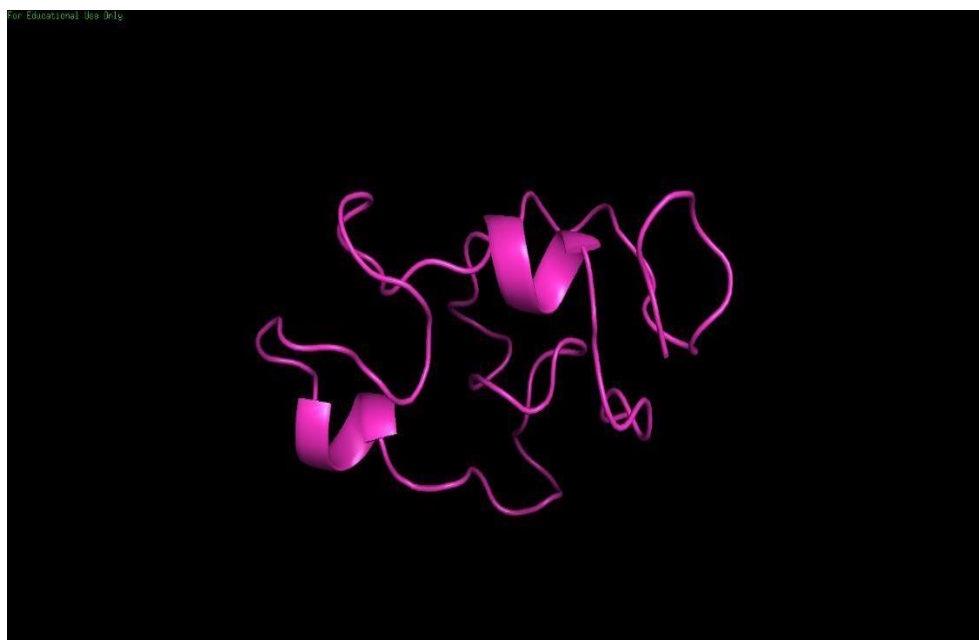
*Nota.* Participa en la formación de la pared celular

**Figura 5 (C\_110) 26S proteasome regulatory subunit N1**



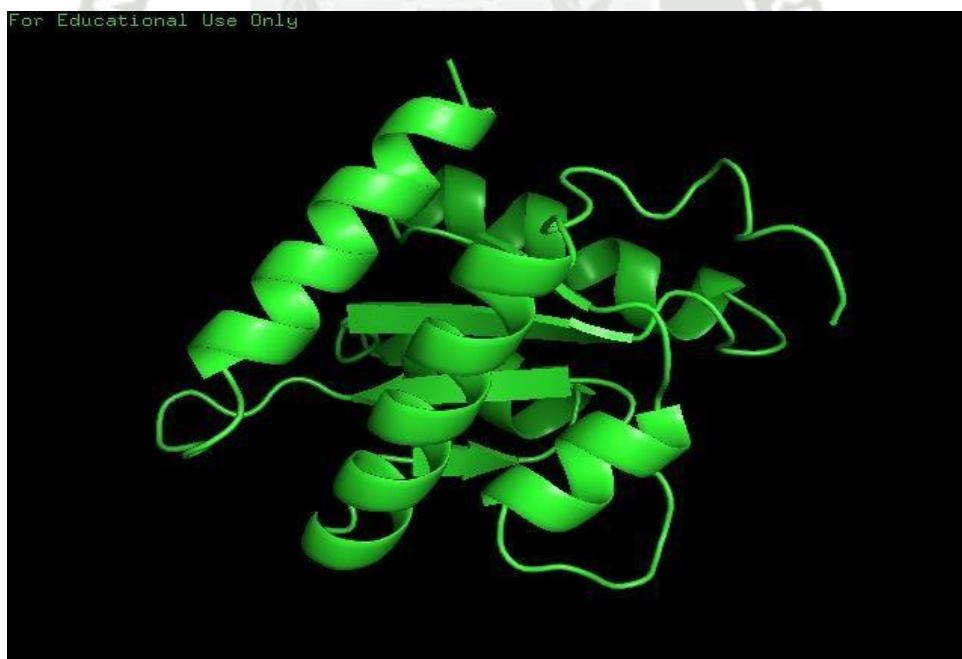
*Nota.* Degrada selectivamente varias proteínas celulares con señales de degradación específicas

**Figura 6 C\_111) Crd2p**



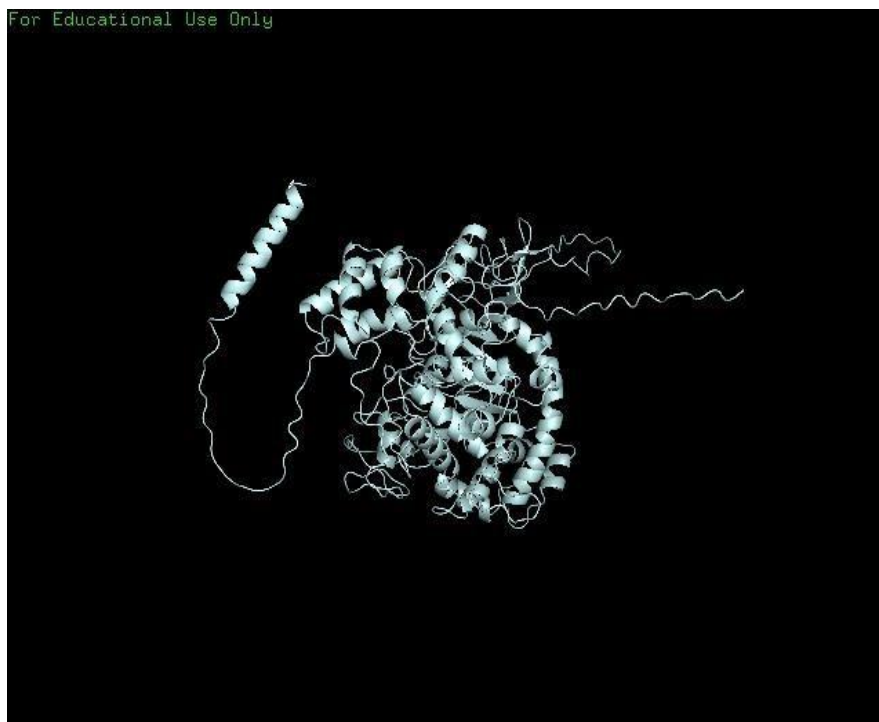
*Nota.* Importante en la formación de biofilm

**Figura 7 (C\_112) ribonucleoprotein-associated protein**



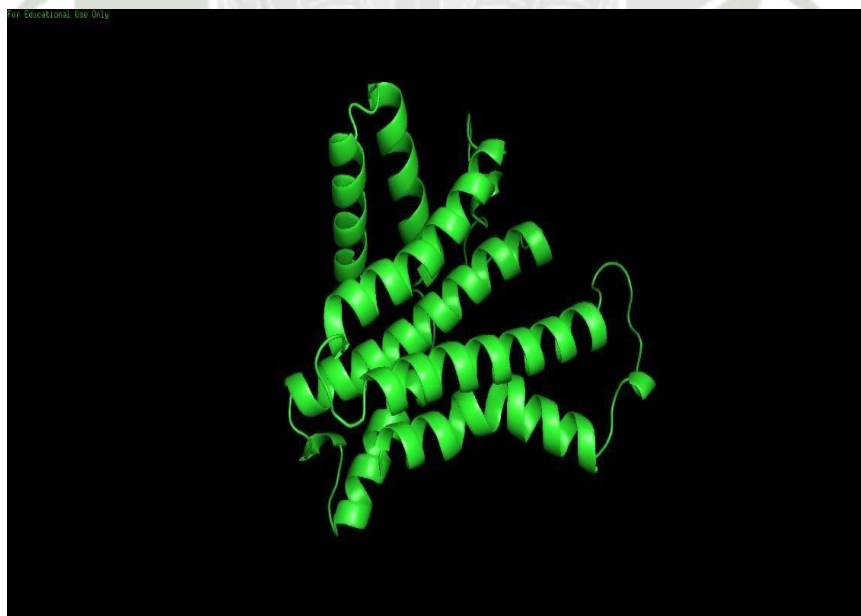
*Nota.* Esencial para el crecimiento de las células de levadura

**Figura 8 (C\_113) lysophospholipase**



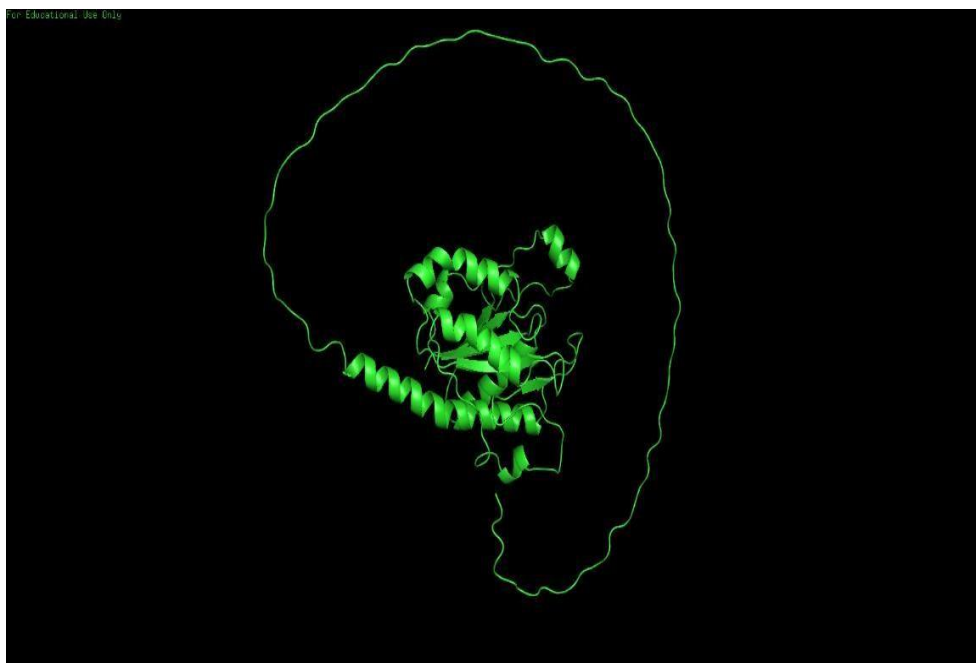
*Nota.* Son una gran familia de enzimas para eliminar los lisofosfolípidos de las membranas celulares

**Figura 9 (C\_114) farnesyl pyrophosphate synthase**



*Nota.* Síntesis de ergosterol

**Figura 10 (C\_115) flavodoxin-like fold family protein**



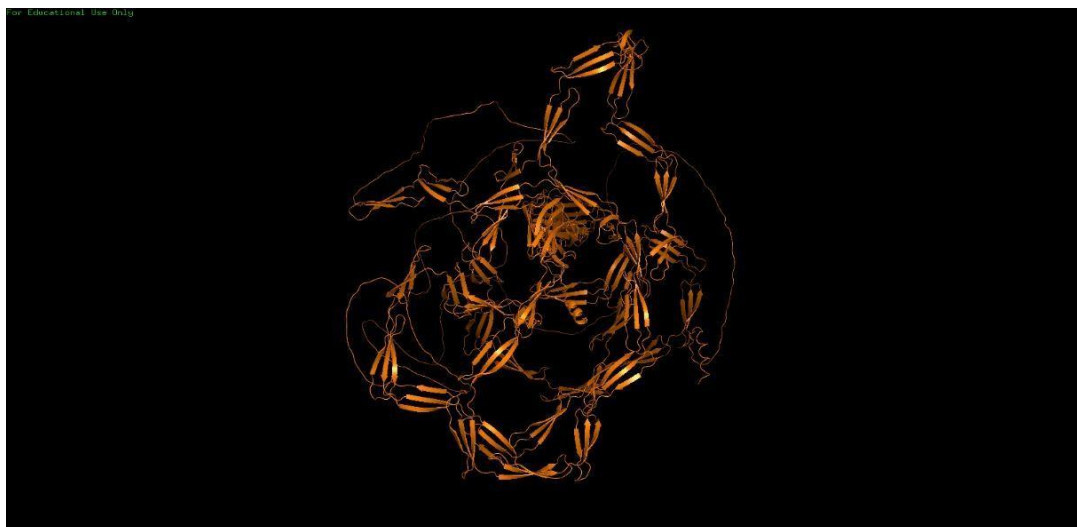
*Nota.* Protege del estrés oxidativo

**Figura 11 (C\_116) glucosamine 6-phosphate N-acetyltransferase**



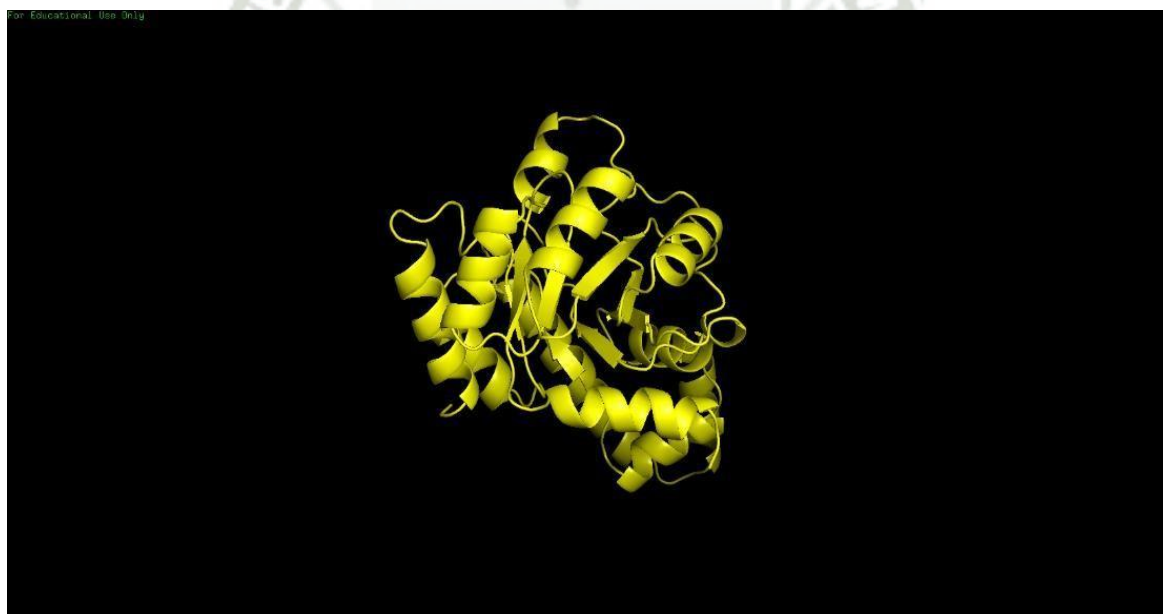
*Nota.* Participa en la formación de la pared celular

**Figura 12 (C\_117) agglutinin-like protein**



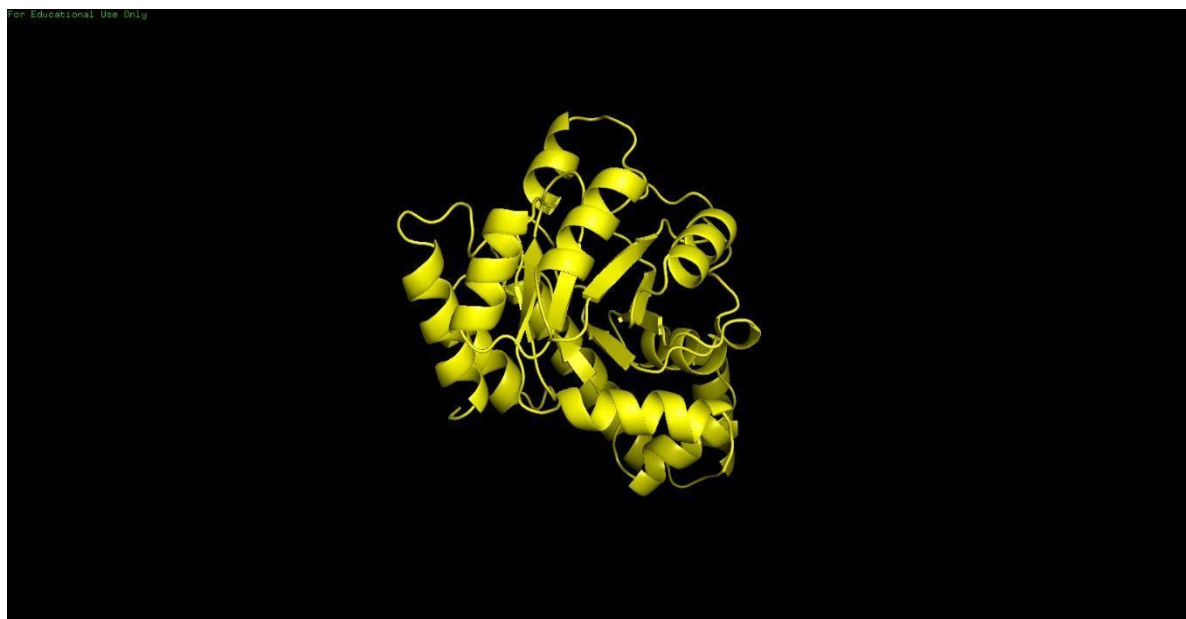
*Nota.* Desempeña papeles esenciales en los procesos de adherencia y formación de biopelículas in vitro. (aglutinina)

**Figura 13 (C\_118) pyridoxine biosynthesis protein**



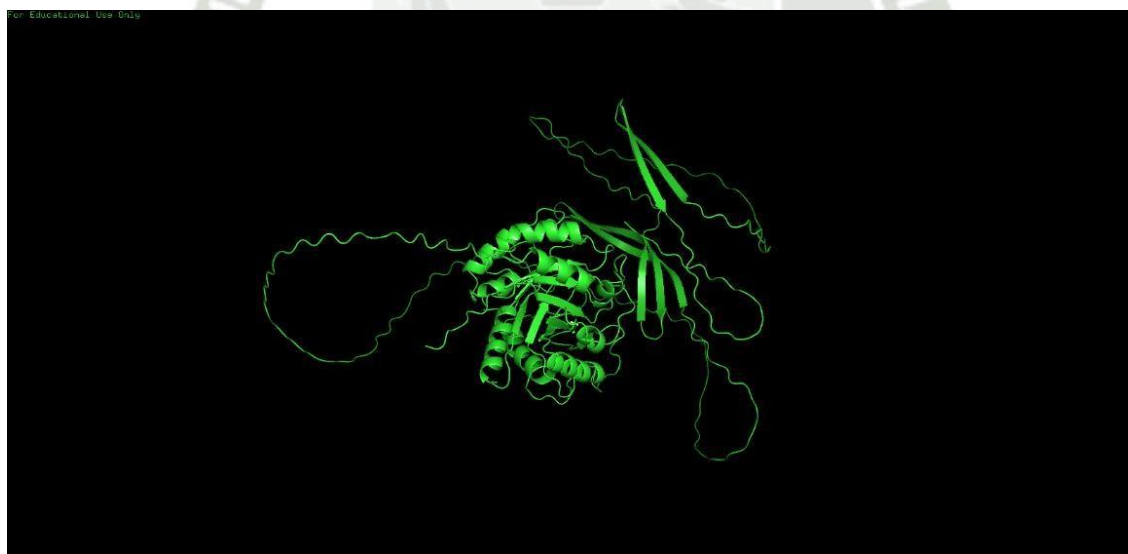
*Nota.* Síntesis de la vitamina B6

**Figura 14 (C\_119) pyridoxine biosynthesis protein**



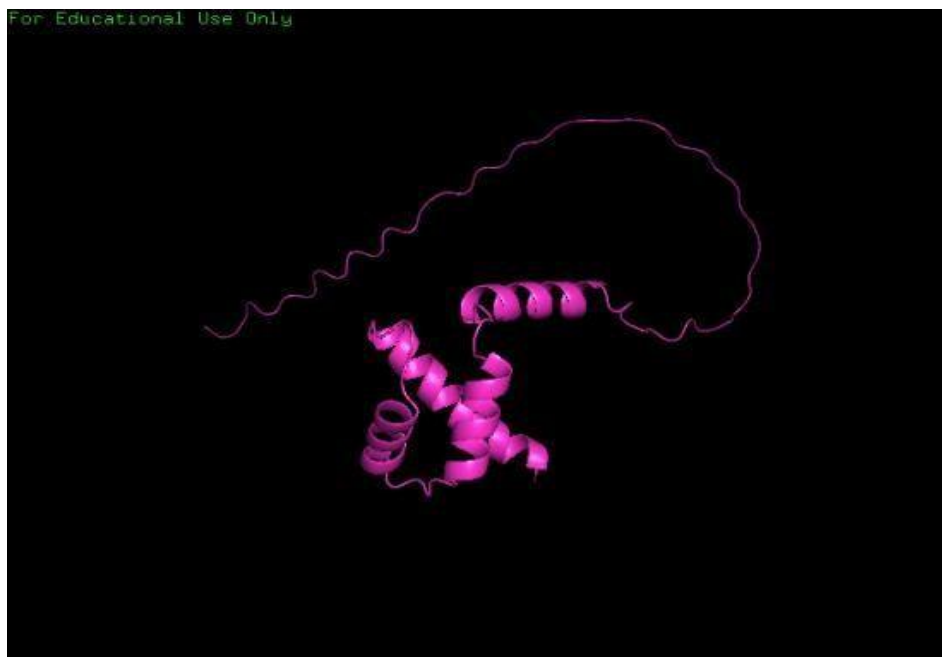
*Nota.* Síntesis de la vitamina B6

**Figura 15 (C\_120) chitinase 2**



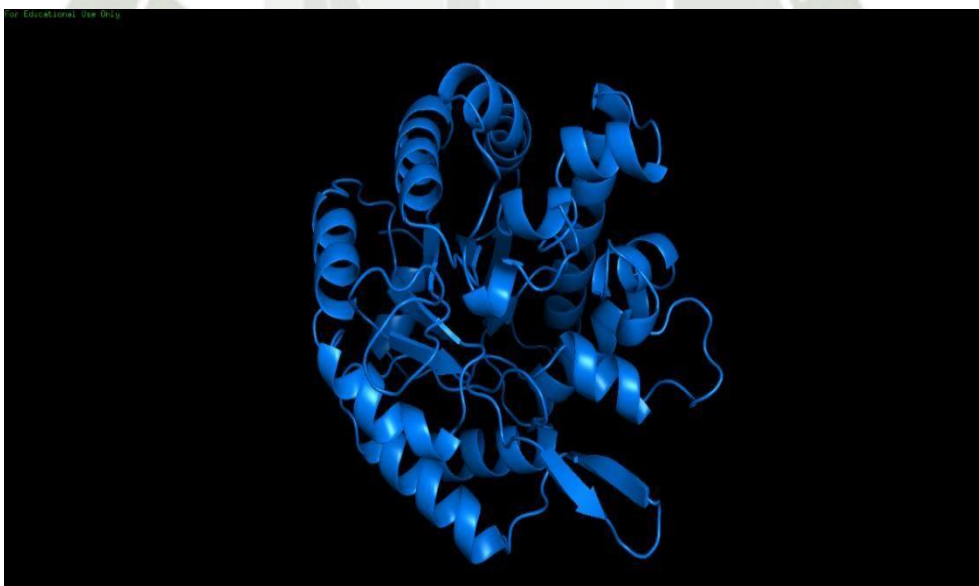
*Nota.* Remodela la quitina en la pared celular

**Figura 16 (C\_121) 60S acidic ribosomal protein P2**



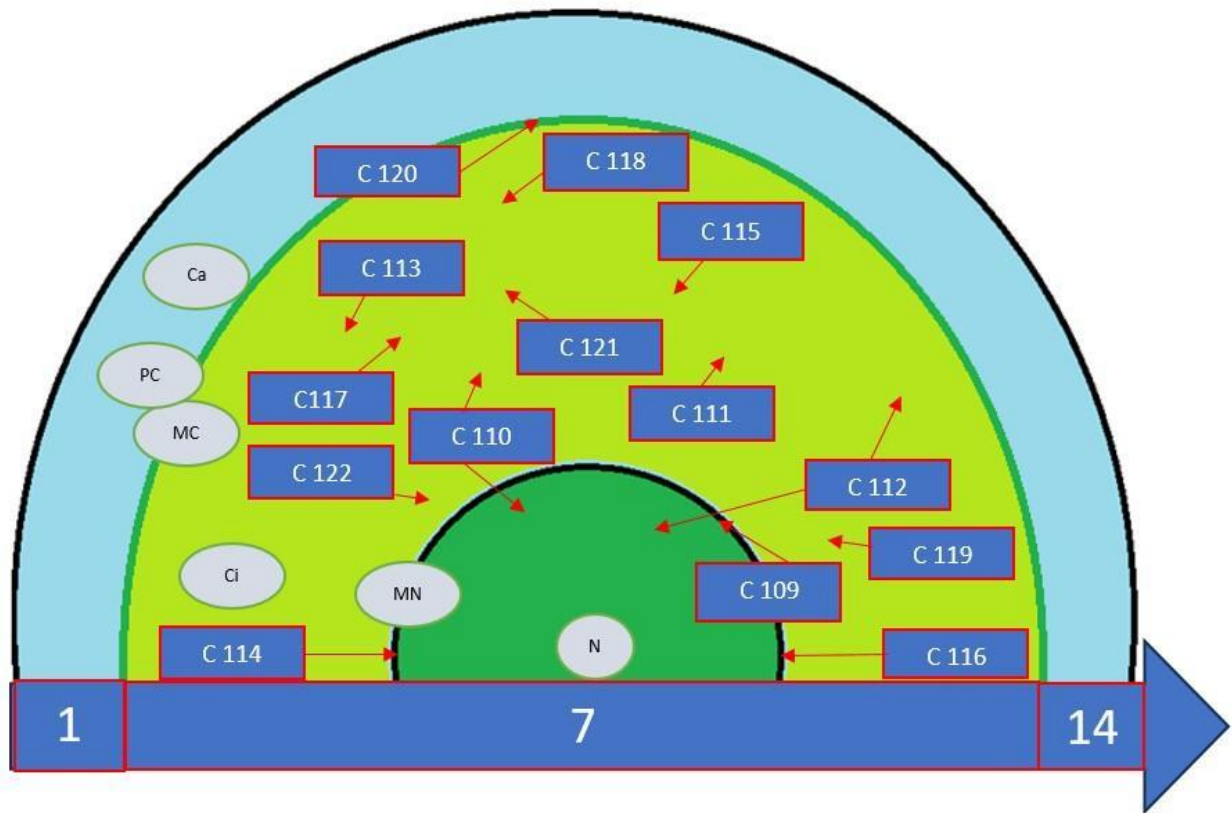
*Nota.* Participa en la elongación de proteínas

**Figura 17 (C\_122) S-adenosylmethionine-homocysteine S-methyltransferase**



*Nota.* Produce metionina.

Figura 18 Estructura de *C. albicans*



## DISCUSIÓN

Dentro de los principales antecedentes investigativos de tema de tesis, vamos a encontrar predominante a los antecedentes de carácter internacional, de un profundo estudio del *quorum sensing* abarcando múltiples y variados enfoques de dicho mecanismo.

Debemos entender que el *quorum sensing* viene a ser un mecanismo que va a generar cambios al proteoma de un microorganismo, el cual es el inducido por una serie de moléculas denominadas inductores.

Dentro de los antecedentes investigativos vamos a encontrar estudios que muestran que existen moléculas en la ecología constitutiva de las bacterias que van a generar en las mismas una mayor sensibilidad poder activar el mecanismo del *quorum sensing*, algunas de estas moléculas van a tener la posibilidad de generar un incremento en el nivel general de virulencia, potenciando de esta manera sus factores de patogenicidad y también sus factores de virulencia, con lo cual se exagera la posibilidad que tiene la bacteria de poder causar una enfermedad; y así mismo se potencia la capacidad de la bacteria de poder permanecer más tiempo dentro del huésped sin ser neutralizada por su sistema inmune.

Según el estudio, Ravi Jothi, et al (15) plantearon una premisa completamente opuesta a la descrita con anterioridad, dado que en este estudio va a hacer hincapié en la posibilidad de que existan prototipo de moléculas que van a generar en *C. albicans*, no una expresión potenciada de los factores de virulencia que ésta posee; sino por el contrario que existen determinado tipo de moléculas que van a generar que el hongo no puede hacer uso de su capacidad dimórfica para volverse más virulento, es decir que no puede pasar de su forma de levadura a la forma filamentos. Como se sabe es la forma de levadura la que está presente de manera nativa en el ambiente oral ambiente de eubiosis.

Estos resultados fueron obtenidos a partir de un estudio por medios computacionales, es decir un estudio in silico, en la cual se pudo determinar la estructura proteínica y ver algunos elementos constituyentes de *C. albicans*, estos se veían atenuados en presencia de moléculas que activan el *quorum sensing*. Así mismo se llevó a cabo pruebas para poder determinar qué tan estable es la unión entre ligando y la proteína Diana llegando a la conclusión existe una relación antagónica muchas veces terminada por el tipo de microorganismo presente y también el mecanismo antes mencionado.

Posteriormente se llevó a cabo un contraste de los hallazgos obtenidos de las pruebas in sílico, las mismas que se extrapola a estudios in vitro determinando, de esta manera se tiene la seguridad de poder emplear ese conocimiento en medios biológicos.

Por otra parte, encontramos que se profundiza bastante en la relación que tienen los distintos microorganismos que se encuentran en el medio oral, cómo se sabe la boca es todo un ecosistema en el que vamos a encontrar un variado repertorio de microorganismos presentes, como son las bacterias, hongos, entre otros; y a todos estos organismos convivir entre sí, y también con el huésped, así surgen varios tipos de interacciones que pueden ser positivas, negativas o neutras.

Positivas podrían ser como el comensalismo, en donde ninguna de las bacterias se va a ver perjudicados, también podrían ser relaciones negativas como depredación entre otros.

En el estudio, Luisa De Sordi, Fritz A, et al (16) se determinó que en la interacción con algunos tipos de bacterias por parte del hongo estudiado, va a generar que el mecanismo natural de inhibición en el crecimiento de la población se vea afectado, por un factor externo, en este caso la interacción con otro tipo de bacterias patógenas, ya que en lugar de inhibir el crecimiento de la población de la colonia va a maximizar el crecimiento de la misma neutralizando el efecto terapéutico que hubiera podido obtenerse del autocontrol de la población del hongo.

Existen elementos externos que primero van a inhibir el desarrollo poblacional del hongo que se está estudiando en la presente investigación; y por el contrario existen otros elementos exógenos que van a generar todo lo contrario, es decir van a generar un incremento de la población del *C. albicans* según el estudio, H. M. H. N. Bandara, et al (17) en dónde se logra evidenciar que entre ambos microorganismos existe una relación positiva, dado que la presencia del *Pseudomona* va a favorecer el desarrollo poblacional del *Cándida*, de esta forma se produce todo lo contrario a lo que tendría que suceder por la activación del *quorum sensing*.

En el presente caso se inició una revisión bibliográfica sobre el tema pertinente, seguida del muestreo y posterior cultivo del microorganismo *C. albicans*. Es imperativo reconocer que el hongo que se está examinando es un microorganismo que puede regularse como habitante natural del organismo humano, localizado en el tracto gastrointestinal, el tracto genitourinario y la cavidad oral, y que mantiene una serie de interrelaciones con otros microorganismos que también residen en las superficies antes mencionadas. La arquitectura fundamental del hongo se caracteriza por la presencia de un núcleo encerrado por una membrana nuclear, un citoplasma

que contiene varios orgánulos y, por encima, una pared celular, que finalmente culmina en la estructura más externa, que es la cápsula.

*C. albicans* es un hongo que se caracteriza por expresar un dimorfismo, es decir puede pasar de un estado a otro, para ello es necesario recalcar que dentro de las características generales de los hongos podemos encontrar dos tipos, los que se consideran levaduriformes, y por otra parte los que se consideran filamentosos, y en este segundo caso encontramos a las hifas y pseudohifas. El dimorfismo del hongo objeto del presente estudio implica que frente a determinado estímulo la *C. albicans* va a poder cambiar de un estado a otro, ya mismo lo encontramos en estado levaduriforme y también filamentoso. El cambio de estado al que hacemos referencia es bidireccional, es decir se puede pasar del estado levaduriforme al filamentoso y viceversa en presencia de algún estímulo. Se inició una investigación bibliográfica sobre el tema pertinente, seguida del muestreo y posterior cultivo del microorganismo *C. albicans*. Es imperativo reconocer que el hongo que se está examinando es un microorganismo que puede regularse como habitante natural del organismo humano, localizado en el tracto gastrointestinal, el tracto genitourinario y la cavidad oral, y que mantiene una serie de interrelaciones con otros microorganismos que también residen en las superficies antes mencionadas. La arquitectura fundamental del hongo se caracteriza por la presencia de un núcleo encerrado por una membrana nuclear, un citoplasma que contiene varios orgánulos y, por encima, una pared celular, que finalmente culmina en la estructura más externa, que es la cápsula.

En consecuencia, se puede discernir la base de esta regulación poblacional, que mitiga la proliferación y la amplificación de la virulencia de microorganismos específicos, incluido el hongo objeto de investigación. El estímulo, que es el punto central de este esfuerzo de investigación, consiste en una clase de moléculas denominadas inductores, que son sintetizadas por el microorganismo al alcanzar una cierta densidad de población, en la medida en que se considera una población umbral, lo que indica que el nivel máximo puede precipitar una disminución de la población debido a la escasez de recursos, como se explicó en la discusión anterior.

En el estudio, Luisa De Sordi, Fritz A, et al (16) en el cual se hace énfasis en las interacciones bacterianas de inhibición en el crecimiento de la población en microorganismos de la misma o distinta especie. A este fenómeno coadyuban las interacciones que tiene el hongo con otras bacterias como el caso del *Streptococo mutans*, el cual se encarga sintetizar también moléculas

inductoras que tendrán el mismo efecto de aquellas que son sintetizadas por *C. albicans* potenciando el efecto del control poblacional.

La molécula responsable del control de supervivencia son los inductores, el proceso por medio del cual estos actúan se denomina quorum sensing, entendiendo que el quorum corresponde a la idea del número necesario de individuos para que se produzca algo, este término en la materia estudiada podemos decir que es el número de individuos necesario para que se lleve a cabo un fenómeno que detenga la proliferación de una población de microorganismo como un mecanismo de defensa para que pueda perpetuarse la especie en el tiempo y la vez sea destruida por la carencia de recursos.

Con todo lo antes mencionado, posteriormente se procedió a aplicar la solución que contiene las moléculas inductoras con lo que se esperaba que se produjese un cambio en la expresión proteómica del hongo de esta manera expresando proteínas que no se expresaría en su Status Quo. La muestra del cultivo es procesada y centrifugada para obtener la separación de la muestra en dos fases, una sólida que se sedimenta en el fondo del recipiente, y la segunda sería una fase líquida a la cual se le denominará sobrenadante, la misma que contendrá las proteínas objeto de estudio. Después se realizará el análisis de la solución sobrenadante por intervalos de tiempo de 1, 7 y 14 días en diente, la técnica de observación por inmersión de medio de cromatografía de interacción hidrofóbica y el análisis de etimología secuencial de proteínas por espectrometría de masas. La cromatografía convencional se empleó utilizando la minicolumna Hit Trap Phenyl FF (High sub) de 1 ml de HiTrap H&C USA, que facilita la recolección de fracciones purificadas en volúmenes de muestra de 0,5 ml por tubo, lo que permite la evaluación de la actividad de las proteínas. Las fracciones obtenidas se analizan posteriormente para determinar el número de picos de proteína presentes en la muestra, lo que da lugar a la formación de un «charco» que se conserva a 0°C tras una liofilización previa. El caudal se mantuvo meticulosamente a 0,5 ml/min mientras se controlaba a una longitud de onda de 280 nm.

La espectrometría de masas en tándem ESI-CID-MS/MS se realizó utilizando un espectrómetro de masas híbrido cuadrupolar con tiempo de vuelo (Q-TOF, Micromass, Manchester, Reino Unido), que está equipado con una fuente de nanopulverización que funciona en modo de ionización positiva. Los parámetros de ionización se establecieron de la siguiente manera: un voltaje capilar de 2,3 kV, con un voltaje de cono y lente RF1 establecido en 30 V y 100 V, respectivamente, junto con una energía de colisión de 10 eV. La temperatura de la fuente se

mantuvo a 70 °C y se empleó gas nitrógeno a un caudal de 80 l/h para el cono de gas. No se utilizó gas nebulizador para facilitar la formación del aerosol. El gas argón se utiliza con el propósito de fragmentar los iones. La calibración externa se realizó con yoduro de sodio en un rango de masas de 50 a 3000 m/z. Todos los datos espectrales se adquirieron utilizando el analizador TOF en configuración «modo V» (TOF kV = 9,1) con un voltaje MCP de 2150 V. Los péptidos trípticos se separaron mediante HPLC de fase inversa, se recolectaron manualmente, se liofilizaron y, posteriormente, se resuspendieron en una solución de acetonitrilo al 20% y ácido trifluoroacético al 0,1% (TFA).

Cada péptido se introdujo individualmente en la fuente del espectrómetro de masas utilizando una jeringa a un caudal controlado de 500 nl/min. Antes de realizar el análisis de espectrometría de masas en tándem, se adquirió un espectro ESI/MS (modo TOF MS) para cada pico identificado mediante HPLC de fase inversa dentro del intervalo m/z de 400 a 2000 para facilitar la selección de los iones objetivo. Posteriormente, estos iones seleccionados se fragmentaron dentro de una celda de colisión (modo TOF MS/MS). Se emplearon energías de colisión variables en función del estado de carga y la masa de los iones.

Los espectros resultantes se recogieron en el analizador TOF y se analizaron utilizando el software del algoritmo Masslynx-Maxent. Los espectros de una sola carga se procesaron manualmente mediante la aplicación PepSeq que se incluye con MassLynx. Al integrar los patrones de fragmentación y hacer referencia a la bibliografía pertinente, se creó una base de datos MASCOT para el análisis de secuencias de proteínas, lo que culminó con la importación de la base de datos autogenerada.

Una vez obtenido los spots de las proteínas se expresan en la *C. albicans* por sometimiento, la molécula inductora se procedió a realizar un blast del mismo obteniendo la estructura proteica constituida por aminoácidos, Posteriormente se llevó a cabo el alineamiento en Cloustral Omega, se buscó identificar estructuras antigénicas, que posteriormente serían sometidas una simulación de doblez en Alpha Fold Server, una vez obtenido el plegamiento se procedió a llevar a cabo la generación de los modelos 3D en el software Pymol. A cada una de las proteínas obtenidas se les asigna un código y esto en conjunto se organizó en Tablas para su mejor identificación asignándole también la generación del modelo 3D.

Cómo se mencionó las moléculas inductoras del *quorum sensing*, van a generar en el *C. albicans* una respuesta congruente con el control de la población, dado que los individuos integrantes de

las colonias del hongo se multiplican tanto, que finalmente consiguen llegar a una población umbral, es decir una población máxima, un punto desde el cual el seguir incrementando la población contribuye un perjuicio para los demás miembros de las colonias ya que los recursos no serán suficientes.

Es por ese motivo que el *quorum sensing* inductor 2 va a llevar a cabo la inhibición en la multiplicación de los individuos integrantes de las colonias, con el objetivo de poder garantizar la supervivencia de la especie, dado que los recursos son limitados; de lo expuesto se puede evidenciar que el inductor 2 va a tener un efecto contrario al efecto descrito, por la mayoría de los antecedentes investigativos del presente tema de tesis, Ya que en este caso la molécula inductora va a generar la activación del *quorum sensing* con la finalidad de poder resaltar la expresión proteómica de elementos que van a generar que el hongo no pueda progresar de su forma de levadura a la forma filamentosa, debido a sus capacidades dismórficas, entendiendo de esta forma que se reduce el nivel de virulencia del *Candida*, ya que cómo se expuso de manera precedente es en la forma filamentosa, sea ésta de hifa o de pseudo hifa, la que va a determinar mayor nivel de virulencia en el microorganismo en cuestión.

Diferentes estudios precedentes muestran lo contrario en sus resultados, ya que hace resaltar y potenciar los factores de virulencia y de patogenicidad en el hongo, lo que le permite tener un potencial aumentado para poder causar enfermedades y evitar ser neutralizado por la respuesta inmune del huésped.

Por tal motivo concluir qué es factible llevar a cabo la utilización de nominadas moléculas inductoras, cómo es el caso del inductor 2, para poder atenuar los niveles de población y la virulencia de *C. albicans*, uno de los agentes responsables de enfermedad caries.

El uso que se le puede dar a esta prueba de concepto es de poder llevar a cabo un tratamiento preventivo utilizando las premisas que en esta presente tesis se han expuesto sobre el mecanismo de inhibición en la población de los hongos lo mismo que puede ser extrapolados a su aplicación en otras poblaciones de bacterias causantes de las enfermedades orales.

## CONCLUSIONES

**PRIMERA:** *C. albicans* es un hongo presente en la microbiota oral en forma de levadura, donde su poder patogénico es muy reducido, sin embargo en estados de disbiosis el mismo es responsable de procesos de infección micótica de tipo agudo o crónico; Sin embargo dicho hongo puede cambiar de forma gracias al mecanismo de *quorum sensing* debido a las interacciones que tiene con otros microorganismos y el incremento en su densidad poblacional general el incremento de moléculas inductoras, y cuando el nivel poblacional de hongos llega a su umbral, también lo hacen las concentraciones de inductores que generan cambios en la expresión proteómica del hongo produciéndose un cambio de forma, de levaduriforme a filamentosa.

**SEGUNDA:** De manera posterior a la exposición de *C. albicans* a las moléculas inductoras que activa el mecanismo del *quorum sensing*, se pudo evidenciar un cambio en la expresión proteómica del hongo, se tomaron muestras de control al 1er, 7mo y 14vo día; de los cuales, al 1er día, no se evidencio ningún tipo de variación en el proteoma del hongo, al 7mo día, se expresaron todas las proteínas que materializan la variación proteómica en el microorganismo objeto de estudio y finalmente al 14vo día, al igual que en el primer caso, no se mostraron alteraciones en el proteoma del antes mencionado.

**TERCERA:** Se identificaron catorce proteínas en *C. albicans* que se expresan sometiendo del hongo a las moléculas inductoras y la activación del *quorum sensing*. Las cuales son:

- Glucosamine 6-phosphate N-acetyltransferase: Participa en la formación de la quitina en la pared celular.
- 26S proteasome regulatory subunit N1: degradación selectiva de proteínas.
- Crd2p: Coadyuva a la formación del Biofilm.
- Ribonucleoprotein-associated protein: Mantiene el estado de levadura.
- Lysophospholipase: Enzimas que eliminan lfosfolípidos de membrana.
- Farnesyl pyrophosphate synthase: Síntesis de ergosterol.
- Flavodoxin-like fold family protein: Protección contra el estrés oxidativo.
- Glucosamine 6-phosphate N-acetyltransferase: Participa en la formación de la pared celular.

- Agglutinin-like protein: Desempeña papeles esenciales en los procesos de adherencia y formación de biopelículas in vitro.
- Pyridoxine biosynthesis protein: Síntesis de la vitamina B6.
- Pyridoxine biosynthesis protein: Síntesis de la vitamina B6.
- Chitinase 2: Remodela la quitina en la pared celular.
- 60S acidic ribosomal protein P2: Participa en la elongación de proteínas.
- S-adenosylmethionine-homocysteine
- S-methyltransferase: Produce metionina.

**CUARTA:** La diferencia proteómica genera una ralentización en el progreso del hongo debido al elevado índice poblacional, como un mecanismo de subsistencia y perpetuación de la especie.

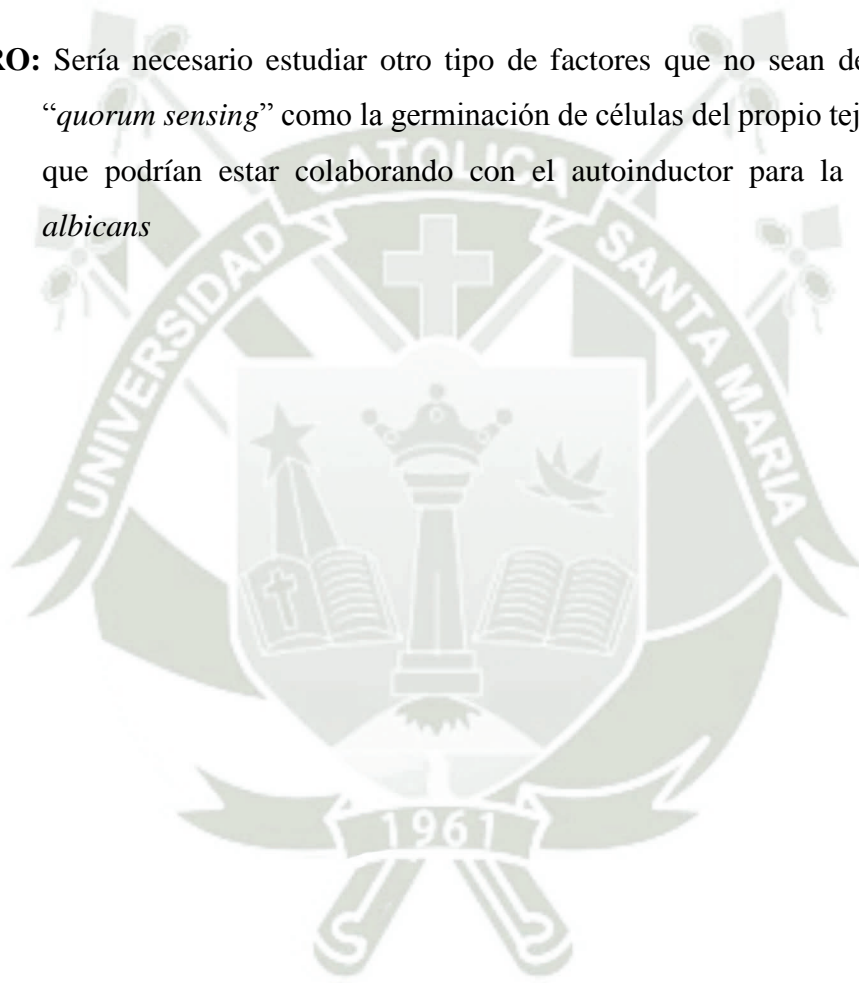


## RECOMENDACIONES

**PRIMERO:** Se recomienda a los investigadores a estudiar los mecanismos de represión génica en la expresión de *C. albicans* para la formación de hifas.

**SEGUNDO:** Se recomienda a los investigadores a estudiar la presencia de otro tipo de moléculas que no sea el autoinductor 2 “*quorum sensing*” que genera la inhibición de *C. albicans*.

**TERCERO:** Sería necesario estudiar otro tipo de factores que no sean del autoinductor 2 “*quorum sensing*” como la germinación de células del propio tejido condicional y que podrían estar colaborando con el autoinductor para la inhibición de *C. albicans*



## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Campins M. UTNMDP. Quorum sensing: la comunicación microbiana. Disponible en: <https://mdp.utn.edu.ar/novedad/quorum-sensing-la-comunicacion-microbiana/>
2. March Rosselló GA, Eiros Bouza JM. Quorum sensing en bacterias y levaduras. Med Clínica. octubre de 2013;141(8):353-7.
3. Percepción de cuórum. En: Wikipedia [Internet]. Disponible en: [https://es.m.wikipedia.org/wiki/Percepci%C3%B3n\\_de\\_cu%C3%B3rum](https://es.m.wikipedia.org/wiki/Percepci%C3%B3n_de_cu%C3%B3rum)
4. Instituto Nacional de Seguridad y Salud en el Trabajo [Internet]. Candida albicans. Disponible en: <https://www.insst.es/agentes-biologicos-basebio/hongos/candida-albicans>
5. Bengel W. Candidiasis orales. Parte 1: Cuadro clínico, epidemiología y etiología. Quintessence. 2010;23(10):510-7.
6. Cortés JA. Protocolo de estudio y manejo de pacientes con candidiasis sistémica en adultos. 2012;16:118-22.
7. Drummond R. Candida albicans. Disponible en: <https://www.immunology.org/sites/default/files/2022-08/Candida%20Albicans.pdf>
8. Vergidis P. Manual MSD. 2023. Candidiasis. Disponible en: <https://www.msdmanuals.com/es/professional/enfermedades-infecciosas/hongos/candidiasis>
9. Mayo Clinic [Internet]. Candidosis vaginal. Disponible en: <https://www.mayoclinic.org/es/diseases-conditions/yeast-infection/diagnosis-treatment/drc-20379004>
10. Zervou FN, Zacharioudakis IM, Kurpewski J, Mylonakis E. T2 Magnetic Resonance for Fungal Diagnosis. En: Lion T, editor. Human Fungal Pathogen Identification [Internet]. New York, NY: Springer New York; 2017 [citado 5 de diciembre de 2024]. p. 305-19. (Methods in Molecular Biology; vol. 1508). Disponible en: [http://link.springer.com/10.1007/978-1-4939-6515-1\\_18](http://link.springer.com/10.1007/978-1-4939-6515-1_18)
11. Bengel W, Bornstein MM. Candidiasis orales. Parte 2: Diagnóstico, diagnóstico diferencial y tratamiento. 2010;24(1):50-5.
12. Aparicio Marengo DE, Ariza Daza J, Calvo Trujillo M, Daza Cuello J, Echávez Plata E. Quorum sensing: mecanismo de comunicación celular en “Candida albicans”. Cienc Salud Virtual. 30 de diciembre de 2013;5(1):109.
13. Mallick EM, Bennett RJ. Sensing of the microbial neighborhood by Candida albicans. PLoS Pathog. octubre de 2013;9(10):e1003661.
14. Condori PEW. dimedinet. Técnica de Western blotting: Fundamento, pasos y aplicaciones. Disponible en: <https://dimedinet.com/tecnicas-biologia-molecular/western-blotting-fundamento-pasos-y-aplicaciones/>

15. Jothi R, Hari Prasath N, Gowrishankar S, Pandian SK. Bacterial Quorum-Sensing Molecules as Promising Natural Inhibitors of *Candida albicans* Virulence Dimorphism: An In Silico and In Vitro Study. *Front Cell Infect Microbiol.* 3 de diciembre de 2021;11:781790.
16. De Sordi L, Mühlischlegel FA. Quorum sensing and fungal-bacterial interactions in *Candida albicans*: a communicative network regulating microbial coexistence and virulence. *FEMS Yeast Res.* noviembre de 2009;9(7):990-9.
17. Bandara HMHN, Wood DLA, Vanwonderghem I, Hugenholtz P, Cheung BPK, Samaranyake LP. Fluconazole resistance in *Candida albicans* is induced by *Pseudomonas aeruginosa* quorum sensing. *Sci Rep.* 8 de mayo de 2020;10(1):7769.
18. HiTrap Phenyl FF (High Sub) [Internet]. Disponible en: <https://www.cytivalifesciences.com/en/us/shop/chromatography/prepacked-columns/hydrophobic-interaction/hitrap-phenyl-ff-high-sub-p-06056>
19. Vitorino R, Guedes S, Trindade F, Correia I, Moura G, Carvalho P, et al. *De novo* sequencing of proteins by mass spectrometry. *Expert Rev Proteomics.* 2 de agosto de 2020;17(7-8):595-607.
20. Van Agthoven MA, Lam YPY, O'Connor PB, Rolando C, Delsuc MA. Two-dimensional mass spectrometry: new perspectives for tandem mass spectrometry. *Eur Biophys J.* abril de 2019;48(3):213-29.
21. Zhao L, Hou Y, Picariello T, Craige B, Witman GB. Proteome of the central apparatus of a ciliary axoneme. *J Cell Biol.* 3 de junio de 2019;218(6):2051-70.
22. Révész Á, Rokob TA, Jeanne Dit Fouque D, Turiák L, Memboeuf A, Vékey K, et al. Selection of Collision Energies in Proteomics Mass Spectrometry Experiments for Best Peptide Identification: Study of Mascot Score Energy Dependence Reveals Double Optimum. *J Proteome Res.* 4 de mayo de 2018;17(5):1898-906.

## ANEXOS

### Anexo 1 Solicitud para el uso del Laboratorio de Química y Proteínas de la UCSM

Arequipa, 02 de octubre del 2024

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

Estimado Doctor Luis Alberto Ponce Soto, por medio de la presente yo, Gabriela Vargas Lanza, identificada con el DNI n° 78287583 y el código de alumno 2019248062, 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: “Influencia de la molécula quorum sensing en la diferencia de expresión proteica sobre la *Candida albicans* UCSM. Arequipa, 2024”, para optar por el título de Cirujana Dentista en la UCSM.

Ruego a usted acceder a mi solicitud.

Atentamente:



---

Vargas Lanza Gabriela

DNI 7828758

## Anexo 2 Declaración Jurada de Autorización



Vicerrectorado de  
Investigación

### DECLARACIÓN JURADA DE AUTORIZACION

El que suscribe *Profesor* Luis Alberto Ponce Soto Ph.D. con DNI N°29546298, 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: “Influencia de la molécula quorum sensing en la diferencia de expresión proteica sobre la *Candida albicans* UCSM. Arequipa, 2024”, se realizará por la Alumna: Gabriela Vargas Lanza 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, 30 de octubre del 2024.

Atentamente,



*Profesor Luis Alberto Ponce Soto  
Coordinador del Laboratorio de Química de Proteínas  
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](mailto:vrinvestigacion@ucsm.edu.pe)

Teléfono: 382038. Anexo 1111

Universidad Católica de Santa María de Arequipa – Perú

### Anexo 3 Evidencia Fotográfica

**Imagen 1. Cultivo fúngico**



**Imagen 2 Estriado de sembrío**



**Imagen 3 Incubación**



**Imagen 4 Tomando la muestra del tubo de ensayo para posteriormente sembrar el hongo**



**Imagen 5 Sometimiento al vortex**



**Imagen 6 Obtención del sobrenadante**



