

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



**Diseño de prototipo de vacuna in Sílico para periodontitis desde
el enfoque de los periodontopatógenos establecidos en el
complejo de Socransky y los periodontopatógenos
emergentes, Arequipa 2024.**

Tesis presentada por el Bachiller:

Mendoza Naveda, Ronald Erick

ORCID: 0009-0008-2021-3392

para optar el Título Profesional de Cirujano Dentista

Asesor:

Dr. Obando Pereda, Gustavo Alberto

ORCID: 0000-0001-6044-1551

Arequipa – Perú

2025

UCSM-ERP

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

ODONTOLOGIA

TITULACIÓN CON TESIS

DICTAMEN APROBACIÓN DE BORRADOR

Arequipa, 06 de Marzo del 2025

Dictamen: 013332-C-EPO-2025

Visto el borrador del expediente 013332, presentado por:

2016602731 - MENDOZA NAVEDA RONALD ERICK

Titulado:

**DISEÑO DE PROTOTIPO DE VACUNA IN SÍLICO PARA PERIODONTITIS DESDE EL ENFOQUE DE
LOS PERIODONTOPATÓGENOS ESTABLECIDOS EN EL COMPLEJO DE SOCRANSKY Y LOS
PERIODONTOPATÓGENOS EMERGENTES, AREQUIPA 2024.**

Nuestro dictamen es:

APROBADO

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

CIRUJANO DENTISTA

**29286016 - ALVARADO ACO ALBERTO ARMANDO
DICTAMINADOR**



**29225558 - ARENAS VELEZ LUIS MANUEL
DICTAMINADOR**



**29716878 - PORTILLA MIRANDA SEREY DORIS
DICTAMINADOR**



Diseño de prototipo de vacuna in Sílico para periodontitis desde el enfoque de los periodontopatógenos establecidos en el complejo de Socransky y los periodontopatógenos emergentes, Arequipa 2024.

INFORME DE ORIGINALIDAD

15%	13%	9%	9%
INDICE DE SIMILITUD	FUENTES DE INTERNET	PUBLICACIONES	TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	Submitted to Universidad Católica de Santa María	3%
	Trabajo del estudiante	
2	www.frontiersin.org	1%
	Fuente de Internet	
3	scholarworks.bwise.kr	1%
	Fuente de Internet	
4	www.researchgate.net	1%
	Fuente de Internet	
5	discovery.researcher.life	<1%
	Fuente de Internet	
6	www.wjgnet.com	<1%
	Fuente de Internet	
7	ouci.dntb.gov.ua	<1%
	Fuente de Internet	
8	pmc.ncbi.nlm.nih.gov	<1%
	Fuente de Internet	
9	bmcoralhealth.biomedcentral.com	<1%
	Fuente de Internet	
10	fast.genomics.lbl.gov	<1%
	Fuente de Internet	

DEDICATORIA

*A mi amada familia, mi papá **Floretino**, la rectitud hecha persona, mi mamá **Amparo**, el equilibrio entre la responsabilidad y la obligación, mis hermanas **Romina** y **Ximena**, mis princesas y mis musas inspiradoras de determinación, por todo su apoyo y cariño incondicional, por su paciencia y por enseñarme con acciones la definición de buena persona, por ser mi norte en un mundo caótico.*

A todas mis mascotas, las que me acompañan y las que ya no, por ser parte de mi familia y enseñarme que no es necesario ser humano para expresar humanidad.

*A mis queridos maestros, el **Dr. Gustavo Obando Pereda** y al **Dr. Luis Alberto Ponce Soto**, por guiarme, revivir en mí el amor por la ciencia y el conocimiento, expandir mi percepción del mundo, proporcionándome un modelo de vida académica, profesional y personal, por haberme dado la oportunidad de trabajar a su lado y ser parte del Laboratorio de Química y Proteínas y el Núcleo de Inmunoinformática de la UCS, por ser mi primer paso para construir un nuevo futuro.*

*A mi **Georginita** linda, mi amiga preciosa, por ayudarme a terminar la carrera y haberme dado su apoyo en el momento más difícil de mi vida, por su paciencia, por acompañarme en mi proceso de recuperación, por mostrarme que la madurez no va de la mano con la edad ya que a pesar de ser menor que yo, me dio un ejemplo de fortaleza y perseverancia para lograr mis objetivos y vivir un mejor futuro.*

*Al gran **Vander**, por una amistad de colegio, por su lealtad y apoyo, por esbozar la racionalidad para guiarme al tomar decisiones en los momentos difíciles, por darme una idea de que es ser padre de familia y recordarme el verdadero concepto de ser hombre cada vez que flaqueo.*

*A mi estimado amigo **Jeremy**, por sus consejos, por su apoyo tangible en asuntos académicos y personales, por haberme encaminado hacia el mundo científico.*

AGRADECIMIENTOS

*A **Annie**, por haberme acompañado por tan tanto tiempo y con ello haberme hecho un hombre muy feliz, por haberme permitido conocer el dolor de hacer un sacrificio por el bien de una persona amada, por haberme permitido sanar y por haberme enseñado que hasta las peores limitaciones se pueden convertir en las mejores armas de un hombre.*

*A mis apreciados **Colegas**, por haberme guiado en el aprendizaje del significado real del Derecho, por haberme permitido trabajar a su lado y por no haberme permitido renunciar al mundo jurídico hasta que realmente estuve preparado para hacerlo y por motivándome a recorrer un camino distinto en esta vida.*

*A **Bruno**, por haberme apoyado y forzarme a avanzar con los tratamientos del Centro Odontológico, por haberme apoyado en los tratamientos que no pude realizar por mi mismo y también, por motivarme a seguir a pesar de todo, para poder terminar la Universidad.*

*A **Alejandra**, por que decirle a alguien “ven, te ayudo a tomar la impresión” significo mucho, significo revocar mi decisión de dejar la carrera y seguir adelante, a mi ritmo; también por su valioso apoyo en Clínica de Ortodoncia, uno sin el cual no hubiera podido.*

*A **Cristian, Jesús, Fernando, Rodolfo, Caleb, , Guillermo, Harold, Roly, Luis, María, Caroline, Nadward, Pepe, Giovani... y todas las personas, compañeros de aprendizaje, personas que se ganaron mi respeto y estima** por haberme apoyado en los últimos dos años de carrera, ya que, solo escuchar, que te den un consejo, compartir una cerveza, salir a comer, estar en una reunión o una fiesta, que te integre en un grupo de exposición, que te ayuden en un tratamiento o te den consejos para hacerlo, que te cedan su turno de clínica, que te presten instrumental, que te regalen o que acepten ser tu paciente, que te releven cuando no puedes exponer o que respeten tu decisión de alejarte; todo eso, para mi fue un gran apoyo por el que estaré agradecido por siempre y nunca lo voy a olvidar.*

*Al **Dr. Enrique de los Ríos**, por sus valiosos consejos en lo académico y lo no académico, por transmitirme la idea del verdadero ejercicio de la docencia y el ejemplo de que un buen profesional también puede ser una buena persona.*

*Al **Dr. Luis Arenas, Wilmer Baldarrago, Alberto Alvarado, Rufo Figueroa, José Gomes la Dra. Elsa Vázquez, Ericka Bobadilla, y a todos los docentes** que muy aparte de impartir conocimiento trabajan la parte humana de la formación académica, dando un cumplido, un consejo, guiando en lo que se ignora, dando la oportunidad de hacer de nuevo cuando se incurre en un error, llamar la atención en privado sin faltar al respeto en ningún momento... todas son acciones que distinguen a un verdadero maestro del que no lo es.*

*Finalmente, **me agradezco a mí mismo**, por haber soportado un infierno, haber soportado cada golpe más duro que el anterior y, aun así, a pesar de desearlo con toda mi alma en su momento, no haber tenido el valor de rendirme.*

EPÍGRAFE

*“El aspecto más letal, el aspecto más aterrador de un mal,
es también su mayor debilidad”*

-Anónimo

*“Lo que sabemos es una gota de agua, lo que no sabemos es
el océano entero”*

-Isaac Newton



RESUMEN

La periodontitis es un cuadro inflamatorio lítico genera la destrucción del sistema de inserción del diente debido a bacterias que con el tiempo han conseguido obtener resistencia frente al tratamiento antibiótico, es por esta razón que se desarrolla una vacuna multiepitopo para poder combatir a los periodontopatógenos establecidos y a los que fueron identificados de manera posterior a la elaboración del complejo de Socransky en 1998, los periodontopatógenos emergentes, el estudio se lleva a cabo por medio de herramientas computacionales, para lo cual se procede a la identificación de candidatos a epítomos. Posteriormente se procesan y se lleva a cabo un testeo teniendo de esa manera los epítomos definitivos que se acoplarán a la molécula del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) que servirán de base para el diseño y elaboración de la vacuna.

Una vez diseñada y ensamblada la vacuna se procede a llevar a cabo el acople a los receptores TLR y BCR para posteriormente dar analizar la competencia de la respuesta inmune por medio de estudios de dinámica molecular.

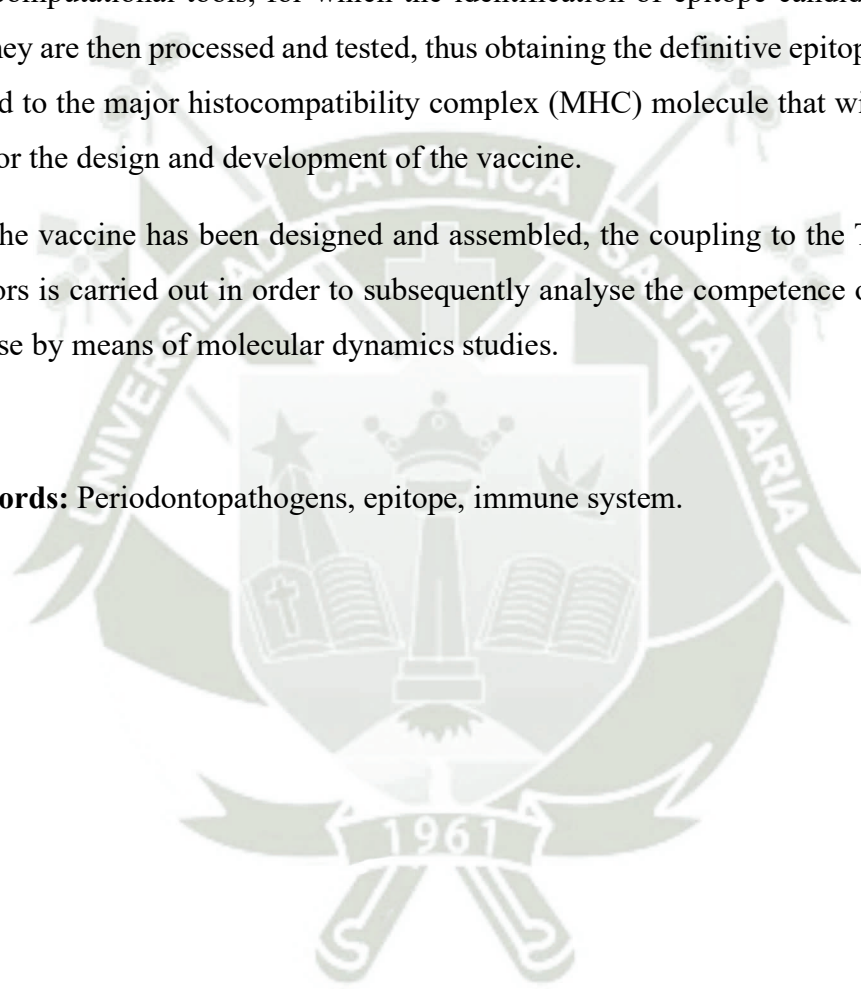
Palabras Clave: Periodontopatógenos, epítomo, sistema inmune.

ABSTRACT

Periodontitis is a lytic inflammatory condition that causes the destruction of the tooth attachment system due to bacteria that have become resistant to antibiotic treatment over time. For this reason, a multi-epitope vaccine is being developed to combat established periodontopathogens and those that were identified after the development of the Socransky complex in 1998, the emerging periodontopathogens. The study is carried out using computational tools, for which the identification of epitope candidates is carried out. They are then processed and tested, thus obtaining the definitive epitopes that will be coupled to the major histocompatibility complex (MHC) molecule that will serve as the basis for the design and development of the vaccine.

Once the vaccine has been designed and assembled, the coupling to the TLR and BCR receptors is carried out in order to subsequently analyse the competence of the immune response by means of molecular dynamics studies.

Key words: Periodontopathogens, epitope, immune system.



ÍNDICE

DEDICATORIA	
AGRADECIMIENTOS	
EPÍGRAFE	
RESUMEN	
ABSTRACT	
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO TEÓRICO	3
1. PROBLEMA DE INVESTIGACION	4
1.1. Determinación del problema:	4
1.2. Enunciado:.....	4
1.3. Descripción del Problema:.....	4
1.3.1. Análisis y operacionalización de variables	4
1.3.2. Preguntas de investigación:	4
1.3.3. Taxonomía de la investigación:	5
1.3.4. Tipo de investigación:.....	5
1.4. Justificación	5
1.4.1. Relevancia Científica	5
1.4.2. Originalidad	5
1.4.3. Relevancia contemporánea:	6
1.4.4. Viabilidad:	6
1.4.5. Interés personal:	6
2. Objetivos	6
2.1 Objetivos generales	6
2.2 Objetivos específicos.....	6
3. MARCO TEORICO	7
3.1. Marco conceptual.....	7
3.1.1. Periodontitis.....	7
3.1.2. Complejo de Socransky y Col.....	23
3.1.3. Factores de virulencia.....	27
3.1.4. Periodontopatógenos establecidos	31
3.1.5. Periodonto patógeno emergentes:	32
3.1.6. Respuesta inmune:	33
3.1.7. Complejo Antígeno anticuerpo.....	36

3.1.8. Sistema RANK/RANKL/OPG:	37
3.1.9. Vacunas:.....	41
3.1.10. Pruebas in silico:	43
3.2. Antecedentes investigativos:	44
4. HIPÓTESIS:.....	50
CAPÍTULO II: PLANTEAMIENTO OPERACIONAL	51
1. TÉCNICAS, INSTRUMENTOS Y MATERIALES DE INVESTIGACIÓN:	52
1.1. Técnica	52
1.2. Instrumentos	52
1.2.1. Documentales:.....	52
1.2.2. Mecanices	52
1.3. Materiales:.....	52
2. CAMPO DE VERIFICACIÓN.....	52
2.1. Ubicación espacial:	52
2.2. Ubicación Temporal:	52
2.3. Unidades de estudio:	52
2.4. Procedimiento:	53
2.4.1. Herramienta básica de búsqueda de alineación local (BLAST)	53
2.4.2. Predicción de epítomos de células B, linfocitos T citotóxicos (CTL) y linfocitos T auxiliares (HTL)	53
2.4.3. Análisis de proteínas hidrofóbicas y antigénicas	53
2.4.4. Modelado de proteínas y acoplamiento molecular	53
2.4.5. Construcción in silico de la vacuna multiepítopo.....	54
2.4.6. Predicción del acoplamiento de la vacuna multiepítopo a receptores TLR2, TLR4 y B	54
3. ESTRATEGIA DE RECOLECCIÓN DE DATOS	54
3.1. Recursos.....	54
a. Recursos económicos	54
b. Recursos humanos	54
c. Recursos físicos	54
d. Recursos Institucionales:.....	54
3.2. Estrategias de recolección de datos	55
3.2.1. Preparación de las unidades de estudio	55
3.2.2. Estrategias para obtener resultados	55
CAPÍTULO III: RESULTADOS	56

1. RESULTADOS	57
1.1 Justificación	57
1.1.1 Factores de virulencia de Periodontopatógenos establecidos y emergentes	58
1.1.1.1 Procesamiento	63
1.1.1.2 Epítomos antigénicos	180
1.1.1.3 Testeo de epítomos antigénicos	181
1.1.1.4 Modelado 3D de Epítomos Antigénicos:	186
1.1.1.5 Diseño y elaboración de Vacunas:	201
1.1.1.6 Dinámica Molecular:	206
1.1.1.7 Predicciones periodontopatógenos	227
1.1.1.8 Resumen General	241
2. DISCUSIÓN:	243
2.1. Resumen de los antecedentes	243
2.2. Resumen de los Resultados:	252
2.3. Comparación de los resultados y antecedentes:	256
CONCLUSIONES	258
SUGERENCIAS	259
REFERENCIAS	260

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1	Determinación de epítomos antigénicos de periodontopatógenos	180
Tabla 2	Naturaleza, ubicación y tamaño de epitopos	183
Tabla 3	Pruebas de emparejamiento, avidez, antigenicidad, alergenicidad y toxicidad de epítomos.....	184
Tabla 4	Modelado 3D de proteína y epítopo para Anaeroglobus geminatus	186
Tabla 5	Modelado 3D de proteína y epítopo para Enterococcus faecalis	187
Tabla 6	Modelado 3D de proteína y epítopo para Eubacterium saphenum	188
Tabla 7	Modelado 3D de proteína y epítopo para Filifactor alocis.....	189
Tabla 8	Modelado 3D de proteína y epítopo para Fretibacterium fastidiosum	190
Tabla 9	Modelado 3D de proteína y epítopo para Mogibacterium timidum.....	191
Tabla 10	Modelado 3D de proteína y epítopo para Peptoanaerobacter stomatis.....	192
Tabla 11	Modelado 3D de proteína y epítopo para Porphyromonas gingivalis.....	193
Tabla 12	Modelado 3D de proteína y epítopo para Porphyromonas endodontalis	194
Tabla 13	Modelado 3D de proteína y epítopo para Selenomonas sputigena.....	195
Tabla 14	Modelado 3D de proteína y epítopo para Tannerella forsythia	196
Tabla 15	Modelado 3D de proteína y epítopo para Treponema denticola.....	197
Tabla 16	Modelado 3D de proteína y epítopo para Treponema vincentii	198
Tabla 17	Modelado 3D de proteína y epítopo para Treponema medium	199
Tabla 18	Modelado 3D de proteína y epítopo para Treponema lecithinolyticum]	200
Tabla 19	Modelado 3D de vacuna para PP establecidos	203
Tabla 20	Modelado 3D PP emergentes.....	205
Tabla 21	Modelado 3D de Doking de vacunas con receptor BCR.....	212
Tabla 22	Modelado 3D de Doking de vacunas con receptor TLR2	213
Tabla 23	Modelado 3D de Doking de vacunas con receptor TLR4	214

ÍNDICE DE IMÁGENES

Imagen 1	Enfermedad Periodontal	8
Imagen 2	Triada de Miller	9
Imagen 3	Etiología de enfermedad periodontal	9
Imagen 4	Factores determinantes de la enfermedad periodontal	10
Imagen 5	Diagnostico periodontal.....	13
Imagen 6	Factores e Indicadores de riesgo periodontal.....	15
Imagen 7	Tipos de tratamiento periodontal	17
Imagen 8	Progresión de la enfermedad.....	18
Imagen 9	Clasificación de la enfermedad periodontal	20
Imagen 10	Clasificación de las condiciones y enfermedades periodontales y periimplantarias 2017	21
Imagen 11	Complejo de Socransky y Col.....	23
Imagen 12	Periodontopatógenos del complejo rojo de Socransky.....	25
Imagen 13	Principales factores de virulencia de los periodontopatógenos del complejo rojo	27
Imagen 14	Periodontopatógenos establecidos y emergentes.....	31
Imagen 15	Sistema inmunitario	33
Imagen 16	Complejo antígeno-anticuerpo.....	36
Imagen 17	Sistema RANK/RANKL/OPG.....	37
Imagen 18	Estudio de vacunas	41
Imagen 19	Estudios in Silico	43
Imagen 20	Determinación de los periodontopatógenos	57
Imagen 21	Factores de virulencia de Anaeroglobus geminatus	58
Imagen 22	Factores de virulencia de Enterococcus faecalis	58
Imagen 23	Factores de virulencia de Eubacterium saphenum	58
Imagen 24	Factores de virulencia de Filifactor alocis.....	59
Imagen 25	Factores de virulencia de Fretibacterium fastidiosum.....	59
Imagen 26	Factores de virulencia de Mogibacterium timidum.....	59
Imagen 27	Factores de virulencia de Peptoanaerobacter stomatis	60
Imagen 28	Factores de virulencia de Porphyromonas gingivalis	60
Imagen 29	Factores de virulencia de Porphyromonas endodontalis	60
Imagen 30	Factores de virulencia de Selenomonas sputigena	61
Imagen 31	Factores de virulencia de Tannerella forsythia	61
Imagen 32	Factores de virulencia de Treponema denticola	61

Imagen 33 Factores de virulencia de <i>Treponema vincentii</i>	62
Imagen 34 Factores de virulencia de <i>Treponema medium</i>	62
Imagen 35 Factores de virulencia de <i>Treponema lecithinolyticum</i>	62
Imagen 36 Modelado 3D de LacI family DNA-binding transcriptional regulator	63
Imagen 37 prueba de antigenicidad de EKPVHLTVVPY	64
Imagen 38 Prueba de alergenicidad de EKPVHLTVVPY	65
Imagen 39 Prueba de toxicidad de EKPVHLTVVPY	65
Imagen 40 Plegado de EKPVHLTVVPY	66
Imagen 41 Modelado 3D de EKPVHLTVVPY	66
Imagen 42 Doking con MHC2 de EKPVHLTVVPY	67
Imagen 43 Modelado 3D de MATE family efflux transporter	68
Imagen 44 Prueba de alergenicidad de LDYVTLFVFEWGLSGAA	69
Imagen 45 Prueba de antigenicidad de LDYVTLFVFEWGLSGAA	69
Imagen 46 Prueba de toxicidad de LDYVTLFVFEWGLSGAA.....	70
Imagen 47 Plegado de LDYVTLFVFEWGLSGAA	70
Imagen 48 Modelado 3d de LDYVTLFVFEWGLSGAA	71
Imagen 49 Doking con MHC II de LDYVTLFVFEWGLSGAA	72
Imagen 50 modelado 3D de response regulator FsrA	73
Imagen 51 Prueba de antigenicidad de IYILEDQIIQAK	73
Imagen 52 Prueba de alergenicidad de IYILEDQIIQAK	74
Imagen 53 Prueba de toxicidad de IYILEDQIIQAK.....	75
Imagen 54 Plegado de IYILEDQIIQAK	75
Imagen 55 Modelado 3D de IYILEDQIIQAK	76
Imagen 56 Doking con MHC II de IYILEDQIIQAK.....	77
Imagen 57 Modelado 3D de DNA-binding protein	78
Imagen 58 Prueba de antigenicidad de SQILSTEPIELP	79
Imagen 59 Prueba de alergenicidad de SQILSTEPIELP	80
Imagen 60 Prueba de toxicidad de SQILSTEPIELP	80
Imagen 61 Plegado de SQILSTEPIELP	81
Imagen 62 Modelado 3D de SQILSTEPIELP	81
Imagen 63 Doking con MHC II de SQILSTEPIELP.....	82
Imagen 64 Modelado 3D de acetolactate synthase small subunit	83
Imagen 65 Prueba de antigeniciad de LAPENMVSR	84
Imagen 66 Prueba de alergenicidad de LAPENMVSR	85
Imagen 67 Prueba de toxicidad de LAPENMVSR.....	85
Imagen 68 Plegado de LAPENMVSR	86
Imagen 69 Modelado 3D de LAPENMVSR	86

Imagen 70 Doking con MHC II de LAPENMVSR	87
Imagen 71 Modelado 3D de DNA polymerase III, subunit gamma and tau	88
Imagen 72 Prueba de antigenicidad de ESHMDVIEIDAAS	89
Imagen 73 Prueba de alergenicidad de ESHMDVIEIDAAS	90
Imagen 74 Prueba de toxicidad de ESHMDVIEIDAAS	90
Imagen 75 Plegado de ESHMDVIEIDAAS	91
Imagen 76 Modelado 3d de ESHMDVIEIDAAS	91
Imagen 77 Doking con MHCII de ESHMDVIEIDAAS	92
Imagen 78 Modelado 3D de transglycosylase SLT domain-containing protein	93
Imagen 79 Prueba de antigenicidad de KEESKKATTQKVIVN	94
Imagen 80 Prueba de alergenicidad de KEESKKATTQKVIVN	95
Imagen 81 Prueba de toxicidad de KEESKKATTQKVIVN	95
Imagen 82 Plegado de KEESKKATTQKVIVN	96
Imagen 83 Modelado 3D de KEESKKATTQKVIVN	96
Imagen 84 Doking con MHC II de KEESKKATTQKVIVN	97
Imagen 85 Modelado 3D de DUF6630 family protein	98
Imagen 86 Prueba de antigenicidad de LESIQKGDIDFIILTP	99
Imagen 87 Prueba de alergenicidad de LESIQKGDIDFIILTP	100
Imagen 88 Prueba de toxicidad de LESIQKGDIDFIILTP	100
Imagen 89 Plegado de LESIQKGDIDFIILTP	101
Imagen 90 Modelado 3D de LESIQKGDIDFIILTP	101
Imagen 91 Doking con MHC II de LESIQKGDIDFIILTP	102
Imagen 92 Modelado 3D de ATPases with chaperone activity, ATP-binding subunit	104
Imagen 93 Prueba de Antigenicidad de PRMKRALELS	104
Imagen 94 Prueba de alergenicidad de PRMKRALELS	105
Imagen 95 Prueba de toxicidad de PRMKRALELS	106
Imagen 96 Plegado de PRMKRALELS	106
Imagen 97 Modelado 3D de PRMKRALELS	107
Imagen 98 Doking con MHC II de PRMKRALELS	108
Imagen 99 Modelado 3D de 16S rRNA (guanine(527)-N(7))-methyltransferase RsmG	109
Imagen 100 Prueba de antigenicidad de GGATPAQGP	110
Imagen 101 Prueba de antigenicidad de GGATPAQGP	111
Imagen 102 Prueba de toxicidad de GGATPAQGP	111
Imagen 103 Plegado de GGATPAQGP	112
Imagen 104 Modelado 3D de GGATPAQGP	112
Imagen 105 Doking con MHC II de GGATPAQGP	113
Imagen 106 Modelado 3D de YafY family protein	114

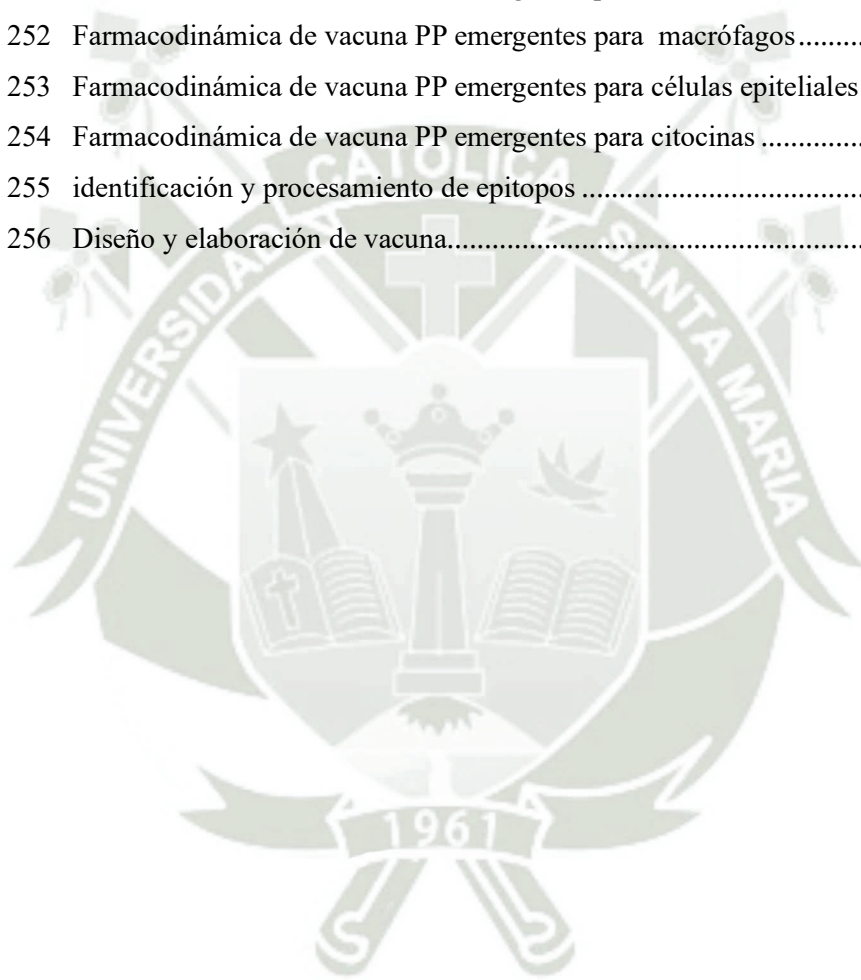
Imagen 107	Prueba de antigenicidad de RKAELAQKFAV	115
Imagen 108	Prueba de alergenidad de RKAELAQKFAV	116
Imagen 109	Prueba de toxicidad de RKAELAQKFAV	116
Imagen 110	Plegado de RKAELAQKFAV	117
Imagen 111	Modelado 3D de RKAELAQKFAV	117
Imagen 112	Doking con MHC II de RKAELAQKFAV	118
Imagen 113	Modelado 3D de sugar-transfer associated ATP-grasp domain-containing protein.....	119
Imagen 114	Prueba de antigenicidad de PFHSGNTDT	120
Imagen 115	Prueba de alergenidad de PFHSGNTDT	121
Imagen 116	Prueba de toxicidad de PFHSGNTDT	121
Imagen 117	Plegado de PFHSGNTDT	122
Imagen 118	Modelado 3D de PFHSGNTDT	122
Imagen 119	Doking con MHC II de PFHSGNTDT	123
Imagen 120	Modelado 3D de O-antigen ligase	124
Imagen 121	Prueba de antigenicidad de KEYRSAMTVT	125
Imagen 122	Prueba de alergenidad de KEYRSAMTVT	126
Imagen 123	Prueba de toxicidad de KEYRSAMTVT	126
Imagen 124	Plegado de KEYRSAMTVT.....	127
Imagen 125	Modelado 3D de KEYRSAMTVT	127
Imagen 126	Doking con MHC II de KEYRSAMTVT	128
Imagen 127	Modelado 3D de phage protein.....	129
Imagen 128	Prueba de antigenicidad de ISEISVYNLSPA	130
Imagen 129	Prueba de alergenidad de ISEISVYNLSPA	131
Imagen 130	Prueba de toxicidad de ISEISVYNLSPA.....	131
Imagen 131	Plegado de ISEISVYNLSPA	132
Imagen 132	Modelado 3D de ISEISVYNLSPA	132
Imagen 133	Doking con MHC II de ISEISVYNLSPA.....	133
Imagen 134	BLAST de protein-serine phosphatase SerB	134
Imagen 135	Modelado 3D de protein-serine phosphatase SerB	135
Imagen 136	Prueba de antigenicidad de LYFLGYKDS	136
Imagen 137	Prueba de alergenidad de LYFLGYKDS	137
Imagen 138	Prueba de toxicidad de LYFLGYKDS.....	137
Imagen 139	Modelado 3D de LYFLGYKDS	138
Imagen 140	Doking con MHC II de LYFLGYKDS	139
Imagen 141	Determinación de proteínas comunes con fimbrilin.....	140
Imagen 142	Aminoácidos comunes con fimbrilin	140

Imagen 143 BLAST de fimbrilin.....	141
Imagen 144 Modelado 3D de fimbrilin	142
Imagen 145 Modelado 3D de fimbrial protein	142
Imagen 146 Prueba de antigenicidad de AGNNYYGYD.....	143
Imagen 147 Prueba de alergenidad de AGNNYYGYD.....	144
Imagen 148 Prueba de toxicidad de AGNNYYGYD	144
Imagen 149 Plegado de AGNNYYGYD	145
Imagen 150 Modelado 3D de AGNNYYGYD.....	145
Imagen 151 Doking con MHC II de AGNNYYGYD.....	146
Imagen 152 Modelado 3D de transglycosylase SLT domain-containing protein.....	148
Imagen 153 Prueba de antigenicidad de ASVDAADA	149
Imagen 154 Prueba de alergenidad de ASVDAADA	150
Imagen 155 Prueba de toxicidad de ASVDAADA.....	150
Imagen 156 Plegado de ASVDAADA	151
Imagen 157 Modelado 3D de ASVDAADA	151
Imagen 158 Doking con MHC de ASVDAADA.....	152
Imagen 159 Modelado 3D de response regulator transcription factor	153
Imagen 160 Prueba de antigenicidad de AKIDERFDDK.....	154
Imagen 161 Prueba de alergenidad de AKIDERFDDK.....	155
Imagen 162 Prueba de toxicidad de AKIDERFDDK	155
Imagen 163 Plegado de AKIDERFDDK.....	156
Imagen 164 Modelado 3D de AKIDERFDDK.....	156
Imagen 165 Doking con MHC II de AKIDERFDDK.....	157
Imagen 166 Modelado 3D de surface layer protein B, partial	158
Imagen 167 Prueba de antigenicidad YQGQNPTFDFTNK.....	159
Imagen 168 Prueba de alergenidad de YQGQNPTFDFTNK	160
Imagen 169 Prueba de toxicidad de YQGQNPTFDFTNK.....	160
Imagen 170 Plegado de YQGQNPTFDFTNK	161
Imagen 171 Modelado 3d de YQGQNPTFDFTNK	161
Imagen 172 Doking con MHC II de YQGQNPTFDFTNK	162
Imagen 173 Modelado 3D de nucleotidyltransferase family protein	163
Imagen 174 Prueba de antigenicidad de GGIHVISPPI.....	164
Imagen 175 Prueba de alergenidad de GGIHVISPPI.....	165
Imagen 176 Prueba de toxicidad de GGIHVISPPI	165
Imagen 177 Plegado de GGIHVISPPI.....	166
Imagen 178 Modelado 3D de GGIHVISPPI.....	166
Imagen 179 Doking con MHC II de GGIHVISPPI	167

Imagen 180	Búsqueda de estructura multiespecies.....	168
Imagen 181	Determinación de proteínas en común para BLAST.....	168
Imagen 182	Prueba de antigenicidad de DNFRSRMVSDT	169
Imagen 183	Prueba de alergenidad de DNFRSRMVSDT	170
Imagen 184	Prueba de toxicidad de DNFRSRMVSDT.....	170
Imagen 185	Plegado de DNFRSRMVSDT	171
Imagen 186	Modelado 3D de DNFRSRMVSDT	171
Imagen 187	Doking con MHC II de DNFRSRMVSDT	172
Imagen 188	Modelado 3D de FlhB (Treponema denticola).....	174
Imagen 189	Modelado 3D de flagellar biosynthesis protein FlhB (Treponema vincentii).....	174
Imagen 190	Modelado 3D de flagellar biosynthesis protein FlhB (Treponema medium).....	175
Imagen 191	Modelado 3D de flagellar biosynthesis protein FlhB (Treponema lecithinolyticum).....	175
Imagen 192	BLAST de FlhB.....	176
Imagen 193	Prueba de antigenicidad de LQWFAAEDEGRTE	176
Imagen 194	Prueba de alergenidad de LQWFAAEDEGRTE	177
Imagen 195	Prueba de toxicidad de LQWFAAEDEGRTE.....	178
Imagen 196	Plegado de LQWFAAEDEGRTE	178
Imagen 197	Modelado 3D de LQWFAAEDEGRTE	179
Imagen 198	Doking con MHC II de LQWFAAEDEGRTE.....	180
Imagen 199	Análisis en IEDB para MHC I.....	181
Imagen 200	Alelos para MHC I	181
Imagen 201	Emparejamiento de epítomos en alelos MHC I.....	182
Imagen 202	Análisis en IEDB para MHC II.....	182
Imagen 203	Emparejamiento de epítomos en alelos MHC I.....	183
Imagen 204	Molécula coadyuvante o carrier	201
Imagen 205	Molécula de unión o linker	202
Imagen 206	Plegado de vacuna para PP establecidos	203
Imagen 207	Plegado de vacuna PP emergentes	204
Imagen 208	Doking de vacuna para PP emergentes con recepto TLR2.....	206
Imagen 209	Doking de vacuna para PP establecidos con recepto TLR2	207
Imagen 210	Doking de vacuna para PP establecidos con recepto TLR4	208
Imagen 211	Doking de vacuna para PP emergentes con recepto BCR	209
Imagen 212	Doking de vacuna para PP establecidos con recepto BCR.....	210
Imagen 213	Doking de vacuna para PP emergentes con recepto TLR4.....	211
Imagen 214	Doking vacuna PP emergentes con receptor BCR sometido a iMod Server.....	215
Imagen 215	Farmacocinética de vacuna PP emergentes con receptor BCR.....	216

Imagen 216	Doking vacuna PP establecidos con receptor BCR sometido a iMod Server	217
Imagen 217	Farmacocinética de vacuna PP establecidos con receptor BCR	218
Imagen 218	Doking vacuna PP emergentes con receptor TLR2 sometido a iMod Server	219
Imagen 219	Farmacocinética de vacuna PP emergentes con receptor TLR2	220
Imagen 220	Doking vacuna PP establecidos con receptor TLR2 sometido a iMod Server	221
Imagen 221	Farmacocinética de vacuna PP establecidos con receptor TLR2	222
Imagen 222	Doking vacuna PP emergentes con receptor TLR4 sometido a iMod Server	223
Imagen 223	Farmacocinética de vacuna PP emergentes con receptor TLR4	224
Imagen 224	Doking vacuna PP establecidos con receptor TLR4 sometido a iMod Server	225
Imagen 225	Farmacocinética de vacuna PP establecidos con receptor TLR4	226
Imagen 226	Farmacodinámica de vacuna PP establecidos para Antígenos e inmunoglobulinas	227
Imagen 227	Farmacodinámica de vacuna PP establecidos para Linfocitos B de memoria	227
Imagen 228	Farmacodinámica de vacuna PP establecidos para poblaciones de linfocitos B	228
Imagen 229	Farmacodinámica de vacuna PP establecidos para células plasmáticas	228
Imagen 230	Farmacodinámica de vacuna PP establecidos para poblaciones de linfocito TCD4	229
Imagen 231	Farmacodinámica de vacuna PP establecidos para estados de linfocito TCD4 ..	229
Imagen 232	Farmacodinámica de vacuna PP establecidos para regulación de linfocito TCD4	230
Imagen 233	Farmacodinámica de vacuna PP establecidos para población linfocitos TCD8 ..	230
Imagen 234	Farmacodinámica de vacuna PP establecidos para estado de linfocito TCD8	231
Imagen 235	Farmacodinámica de vacuna PP establecidos para células natural killer	231
Imagen 236	Farmacodinámica de vacuna PP establecidos para células dendríticas	232
Imagen 237	Farmacodinámica de vacuna PP establecidos para macrófagos	232
Imagen 238	Farmacodinámica de vacuna PP establecidos para células epiteliales	233
Imagen 239	Farmacodinámica de vacuna PP establecidos para citocinas	233
Imagen 240	Farmacodinámica de vacuna PP emergentes para Antígenos e inmunoglobulinas	234
Imagen 241	Farmacodinámica de vacuna PP emergentes para linfocitos B de memoria	234
Imagen 242	Farmacodinámica de vacuna PP emergentes para estados de linfocitos B	235
Imagen 243	Farmacodinámica de vacuna PP emergentes para población de linfocitos TCD4	235
Imagen 244	Farmacodinámica de vacuna PP emergentes para poblaciones de linfocitos B ...	236
Imagen 245	Farmacodinámica de vacuna PP emergentes para estados de linfocito TCD4	236

Imagen 246	Farmacodinámica de vacuna PP emergentes para regulación de linfocito TCD4.....	237
Imagen 247	Farmacodinámica de vacuna PP emergentes para poblaciones de linfocitos TCD8.....	237
Imagen 248	Farmacodinámica de vacuna PP emergentes para células plasmáticas	238
Imagen 249	Farmacodinámica de vacuna PP emergentes para estado de linfocito T CD8	238
Imagen 250	Farmacodinámica de vacuna PP emergentes para células natural killer	239
Imagen 251	Farmacodinámica de vacuna PP emergentes para células dendríticas	239
Imagen 252	Farmacodinámica de vacuna PP emergentes para macrófagos	240
Imagen 253	Farmacodinámica de vacuna PP emergentes para células epiteliales	240
Imagen 254	Farmacodinámica de vacuna PP emergentes para citocinas	241
Imagen 255	identificación y procesamiento de epitopos	241
Imagen 256	Diseño y elaboración de vacuna.....	242



INTRODUCCIÓN

El problema en presente trabajo radica en poder entender y de esta forma proponer un tratamiento para la periodontitis y los signos que muestra, la causa de la mencionada enfermedad como un fenómeno cuyo origen es de naturaleza fisiológica, la formación del biofilm es inevitable por qué el contacto entre la superficie del diente y la saliva, por medio de un proceso electroforético genera la formación de la denominada película adquirida, siendo esta la base que va a direccionar a la formación de la placa bacteriana o biofilm, por qué los microorganismos comenzarán a colonizar esta película dando lugar a la formación de la placa bacteriana, la cual se formará tanto a nivel supra gingival, pero también a nivel sub gingival, es decir por debajo de la encía.

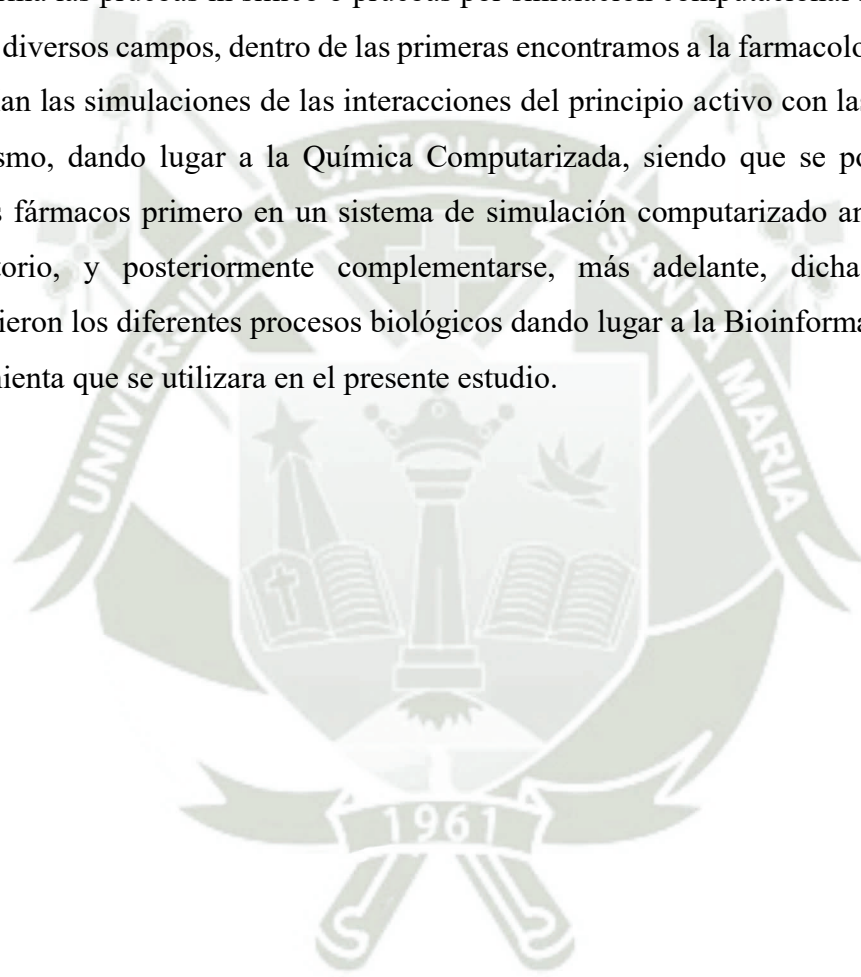
En estas dos condiciones distintas también el tipo de microorganismo que va a habitar en la placa bacteriana será diferente, tanto la supra gingival como la sub gingival, y debido a fenómenos de agregación y coagregación comenzarán a darse fenómenos de sucesión bacteriana dentro de los cuales podemos encontrar la integración de periodonto patógenos que como su nombre lo indica comenzarán con el desarrollo y subsecuente progresión de la enfermedad. (1)

En 1998 se hizo una clasificación de los mencionados microorganismos en base a su nivel de virulencia por Socransky el cual los ordenó sistemáticamente una pirámide que tenía varios complejos de colores, sin embargo, estudios posteriores revelaron que no solo los microorganismos que se encontraban dentro de la pirámide eran los responsables de para la enfermedad, puesto que se evidenció que había otros que tenían también una participación importante en el desarrollo de la misma. En este punto es donde llegamos a clasificar a los microorganismos en aquellos establecidos y los emergentes.

Para este propósito se procederá a utilizar herramientas computacionales donde se obtendrán los epítomos con alta capacidad antigénica además de estudiar su toxicidad y acoplamiento a la molécula MHC-2. Seguidamente los epítomos más antigénicos serán unidos por linkers y adheridos a una molécula coadyuvante para luego ser presentados por algoritmos a moléculas inmunes para el reconocimiento por células inmunes. Dicho lo anterior destacar la importancia de las llamadas pruebas in sílico, cuyo término fue producto de una evolución semántica encontrando su origen en 1989 en el taller Autómata Celular, realizado en los Álamos- Nuevo México, donde el Matemático Pedro

Miramontes presento un informe sobre las Restricciones Fisicoquímicas del ADN y ARNn Automata Celular y Evolución Molecular; a partir de este punto comenzaron a aparecer términos como in vitro o hecho en laboratorio. (2)

Existió controversia respecto de la utilización del vocablo adecuado era mejor in silicio o in sílico, extendiéndose a uso universal la segunda, cuyo fundamento fue que el silicio es el material fundamental para la elaboración de los chips, un pilar de la informática. De esta forma las pruebas in silico o pruebas por simulación computacional se extendieron a otros diversos campos, dentro de las primeras encontramos a la farmacología, en donde, se hacían las simulaciones de las interacciones del principio activo con las proteínas del organismo, dando lugar a la Química Computarizada, siendo que se podían elaborar nuevos fármacos primero en un sistema de simulación computarizado antes que en un laboratorio, y posteriormente complementarse, más adelante, dichas pruebas se extendieron los diferentes procesos biológicos dando lugar a la Bioinformática, que es la herramienta que se utilizara en el presente estudio.





CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO TEÓRICO

1. PROBLEMA DE INVESTIGACION

1.1. Determinación del problema:

El presente trabajo de investigación tiene como objetivo desarrollar una vacuna multiepítopo para poder tratar la periodontitis; para esto se va a seleccionar determinados factores de virulencia de los periodontopatógenos establecidos en la pirámide de Socransky de 1998, y se hará un contraste con los factores de virulencia del periodonto patógenos emergentes.

1.2. Enunciado:

Diseño de prototipo de vacuna para poder tratar la periodontitis desde el enfoque de los periodontopatógenos establecidos y emergentes por medio de la utilización de herramientas digitales, Arequipa 2024.

1.3. Descripción del Problema:

Área de Conocimiento:

Campo: Ciencias de la Salud

Área: Odontología

Especialidad: Periodoncia

Línea o tópico: Inmunología

1.3.1. Análisis y operacionalización de variables

Variable	Indicadores	Subindicadores
Independiente	Número de aminoácidos Proteína receptora	
Dependiente	Antigenicidad Toxicidad Unión covalente	Antígeno o no antígeno. Tóxico o no tóxico KDa fuerza

1.3.2. Preguntas de investigación:

- ¿Es posible determinar epítomos antigénicos para los periodontopatógenos establecidos y emergentes?
- ¿Es posible determinar epítomos antigénicos para los factores de

virulencia de los periodontopatógenos establecidos y emergentes?

- ¿Es posible diseñar una vacuna multiepítopo para tratar la periodontitis?

1.3.3. Taxonomía de la investigación:

Abordaje	Tipo de estudio					NIVEL
	Técnica de recolección	Tipo de dato que planifica recoger	Número de mediciones de la variable	Numero de muestras o población	Ámbito de recolección	
Cualitativo	Experimental	Predictivo	Longitudinal	Descriptivo	Laboratorial – in sílico	Experimental

1.3.4. Tipo de investigación:

- Por el ámbito de recolección:

En la presente investigación la técnica es experimental, y el ámbito de recolección es en el Laboratorio de Química de Proteínas en el Núcleo de Inmunoinformática del VRI, siendo que esto conlleva a la creación intencionada de las condiciones de investigación con mayor rigor y control de la situación.

- Nivel de investigación:

Investigación explicativa o de comprobación de hipótesis. Su objetivo es la explicación de los fenómenos y el estudio de sus relaciones para conocer su estructura y los aspectos que intervienen en la dinámica de las variables.

1.4. Justificación

1.4.1. Relevancia Científica

La periodontitis, es junto a la caries, una de las enfermedades que genera la pérdida de las piezas dentarias, que posteriormente genera las maloclusiones y estos a su vez problemas de articulación; por esta razón encontramos la importancia de un tratamiento preventivo y paliativo.

1.4.2. Originalidad

El presente trabajo tiene una novedad específica, ya que hasta el momento no se ha realizado una investigación en nuestra institución donde se proponga un candidato a vacuna multiepítopo contra la periodontitis,

abarcando el ámbito de los periodonto patógenos establecidos y emergentes.

1.4.3. Relevancia contemporánea:

Dado que en nuestros tiempos existe la tecnología adecuada para desarrollar prototipos de vacunas por medio de herramientas digitales, en necesario la propuesta del tratamiento en materia.

1.4.4. Viabilidad:

Se utilizarán los laboratorios del VRI-UCSM para poder realizar dicha investigación.

1.4.5. Interés personal:

Poder conocer profundamente los aspectos biológicos y moleculares de la enfermedad periodontal y profundizar en tratamientos integrales.

2. Objetivos

2.1 Objetivos generales

- Diseñar un prototipo de vacuna multiepitopo contra la periodontitis.

2.2 Objetivos específicos

- Buscar epítomos específicos para MHC2 para los factores de virulencia de periodontopatógenos establecidos.
- Buscar epítomos específicos para y MHC2 para los factores de virulencia de periodontopatógenos emergentes.

3. MARCO TEORICO

3.1. Marco conceptual

3.1.1. Periodontitis

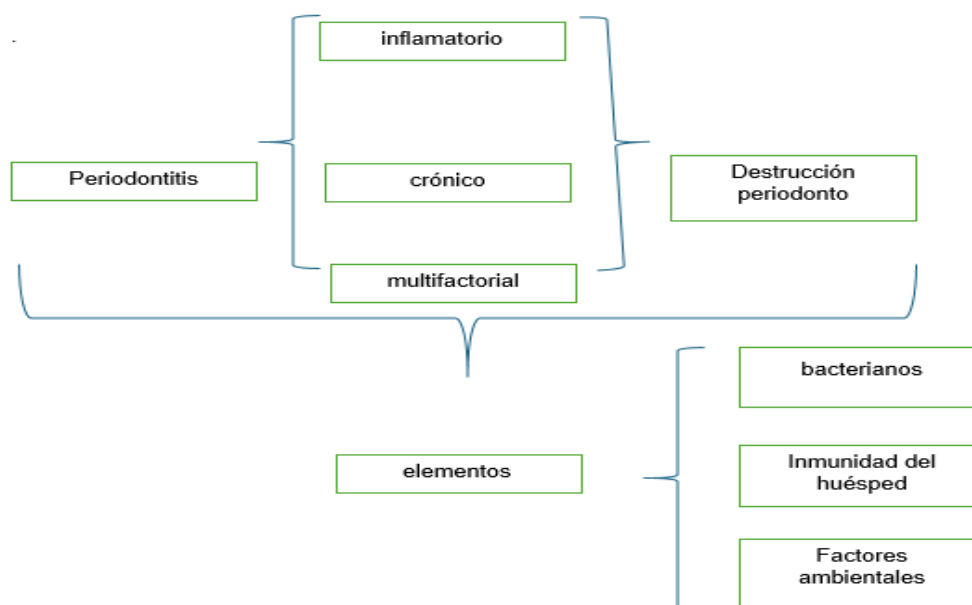
3.1.1.1 Definición

Para empezar, existen varias definiciones sobre lo que es la periodontitis tiene una revisión biográfica podemos todas estas en lo que responde a los elementos más importantes casi pues que podré definir a este estadio de evolución de la enfermedad periodontal; la periodontitis, entendemos por esta una enfermedad de carácter inflamatorio crónico la cual se produce por la acumulación de placa bacteriana o biofilm, y como consecuencia produce la destrucción lenta el sistema de inserción del diente, es decir el parodonto, en pocas palabras la enfermedad en cuestión implica la interacción de tres. (3)

- Patógenos bacterianos.
- Respuesta inmune del huésped.
- Factores ambientales.

Los elementos que constituyen la definición anteriormente mencionada revelan que la causa fundamental en la periodontitis se configura con la placa bacteriana o biofilm, ya que ese es el elemento que de forma mediata contribuye al desarrollo de la enfermedad, y por consiguiente el elemento que de forma inmediata contribuye al desarrollo de la enfermedad vendría a ser considerada la causa de la misma dicho elemento no es otro que el agente bacteriano y su actividad metabólica como se verá más adelante el mecanismo biológico de la enfermedad va a afectar gravemente el sistema de inserción del diente constituido por el cemento radicular el hueso alveolar y el ligamento periodontal generando como consecuencia que a largo data se produzca la pérdida de la pieza dentaria. (4)

Imagen 1
Enfermedad Periodontal



3.1.1.2 Prevalencia

La periodontitis junto a la caries son dos de las principales enfermedades que van a generar la pérdida de las piezas dentarias, en primer lugar la caries implica el deterioro y posterior destrucción del tejido duro mineralizado del diente lo que genera que si no se trata a tiempo tenga que optarse por un tratamiento no conservador y se proceda a extraer la pieza dentaria con el objetivo de que esta sea sustituida por una prótesis o implante. (5)

Por otra parte la periodontitis produce también la pérdida de la pieza dentaria pero por un mecanismo diferente ya que la periodontitis va a generar la alteración y destrucción del sistema de inserción dentario generando que progresivamente la movilidad fisiológica que tiene el diente dentro del alveolo gracias a la función amortiguadora de ligamento periodontal se vea alterada; al perderse la inserción ósea el diente queda cada vez más holgado hasta que finalmente la inserción es mínima y el diente se pierde. (6)

Lo anteriormente mencionado sucede a la larga data, pues la enfermedad periodontal inicia como un cuadro inflamatorio que posteriormente evoluciona a un cuadro inflamatorio osteológico; esto es lo que genera la reabsorción del hueso alveolar como consecuencia se pierde la inserción dentaria. (7)

Una vez se haya producido la pérdida del diente en boca por la caries o por la periodontitis lo que sucederá a continuación, es que gracias al mecanismo de erupción activa del diente vecino y antagonista se producirá una de configuración de los arcos de oclusión dando lugar a la tercera patología más común en boca que son las malas acciones, al producirse esta falta de alineamiento te deja expuesto a los dientes aún presentes a acumular más placa bacteriana debido a la configuración de nuevas zonas retentivas de esta forma agravando la salud de los dientes que aún no se han visto afectados por la periodontitis. Esto tomando en cuenta que la placa bacteriana obvio fin no tiene el mismo nivel de patogenicidad en toda la boca ya que la patogenicidad de dicho elemento se ve incrementado por el grosor, la zona, y el sustrato que contiene. (4)

La periodontitis entonces es una enfermedad que se va a presentar aproximadamente en un 11% de la población mundial mostrándose en un estadio severo, asimismo, se puede evidenciar que la mencionada enfermedad llega a tener una relación con otro tipo de enfermedades crónicas no transmisibles. (8)

Imagen 2
Triada de Miller

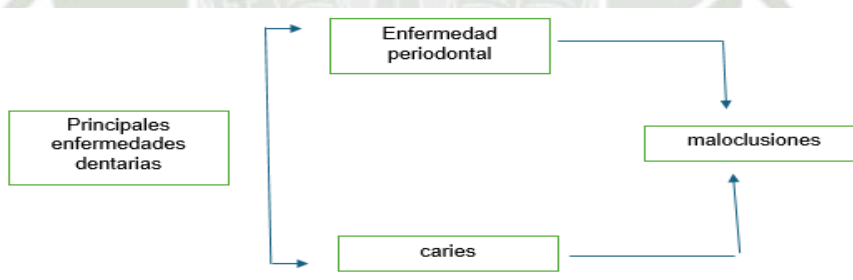
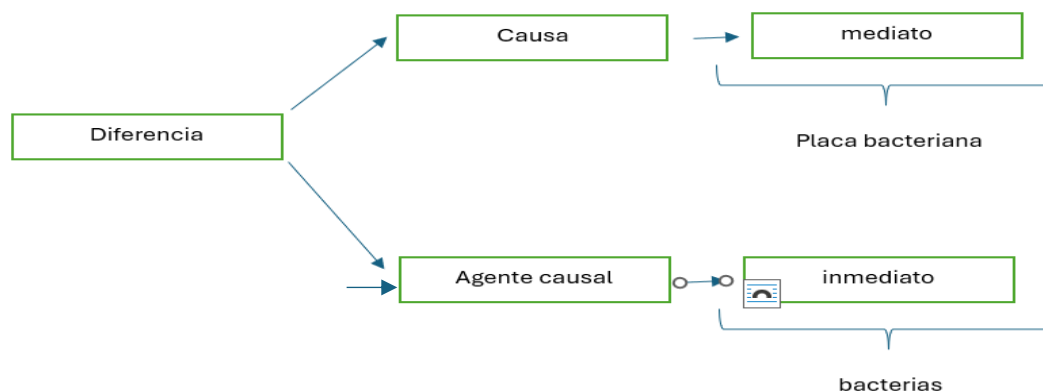
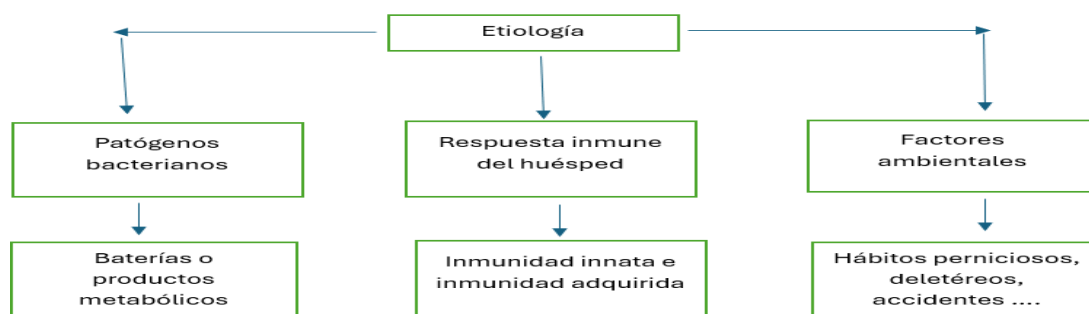


Imagen 3
Etiología de enfermedad periodontal



3.1.1.3 Etiología

Imagen 4
Factores determinantes de la enfermedad periodontal



En nuestra realidad existen aquellos fenómenos que se rigen por el principio de la imputación, los cuales hacen referencia, en pocas palabras en atribuir responsabilidades, por ende, hablamos de un término más antropológico; y por otra parte se encuentran los hechos causales, aquellos que se rigen por el principio de la causalidad, cuyo postulado es principalmente que una causa “x” va a generar un efecto “y”. (9)

Para poder tratar y estudiar una enfermedad nos tendremos que situar pues en el campo del principio de la causalidad y aplicando dicho postulado, el fenómeno tendrá su causa y su correspondiente efecto. (10)

Centrándonos en la enfermedad periodontal, y tomando en cuenta la definición que anteriormente se dio, hablemos de una enfermedad que va a tener como configuración a que se produzca la interacción de tres factores fundamentales, que como se dijo y recapitulando van a ser los siguientes: (11)

- Patógenos bacterianos.
- Inmunidad del huésped.
- Factores ambientales.

A modo de explicar brevemente cada uno de estos, comenzaré con la inmunidad del huésped, entendiendo que un ser vivo cuenta con dos sistemas de inmunidad separados por motivos didácticos únicamente, en la denominada inmunidad innata y la inmunidad adquirida; donde la primera es aquella que va a tener una respuesta genérica, nada específica frente a las noxas que busquen alguna injuria en el

huésped, en cambio la segunda, la inmunidad adquirida, es aquella que va a tener una respuesta más específica para poder combatir aquellas injurias que previamente ya han tenido una interacción con el organismo. (12)

Como se dijo esta división es más que todo didáctica, porque en realidad ambos sistemas funcionan de manera complementaria donde el primero se sirve del segundo y viceversa. (13)

Dicho sistema de defensa va a ser diferente en cada persona, esto básicamente dependiendo de los factores de salud, genéticos y demás que como se dijo son propios de cada persona. (14)

Los factores ambientales se refieren aquellas influencias exógenas que van a influir en el desarrollo de la enfermedad, estamos hablando principalmente pues de los hábitos perniciosos, lesiones como traumas oclusales, hábitos deletéreos y demás que van a afectar el microbioma oral de esta forma contribuyendo al desarrollo de la enfermedad. (14)

Y por último, el factor que es motivo del presente trabajo, me refiero a los patógenos bacterianos que de por sí o a través de sus desechos metabólicos van a generar la producción y progresión de la enfermedad, más en concreto me estoy refiriendo a aquellos microorganismos que van a conformar el complejo rojo de Socransky, las bacterias más patógenas y agresivas de la periodontitis que son:

- *Porphyromonas gingivalis*.
- *Tannerella forsythia*.
- *Treponema denticola*. (14)

Es pues así que la interacción de las bacterias, sus desechos metabólicos, el sustrato del biofilm o placa bacteriana, las superficies que contiene en dicha placa, el estado de estas superficies y la respuesta orgánica de defensa del huésped va a ser lo que determine el desarrollo de una reacción inflamatoria en evolución por la estimulación de citoquinas prostaglandinas factor de necrosis tumoral y de más agentes inflamatorios. (15)

3.1.1.4 Causa:

Es muy importante poder distinguir dos términos que gramaticalmente son

similares, pero que no significan lo mismo, en primer lugar, hablamos de la causa entendiendo que este término hace referencia a un punto de partida, o al origen de algo según como lo define La Real Academia española. De esta definición podemos extraer la idea central y es que la causa corresponde a una relación secundaria, extrapolando el término al presente tema, estaríamos hablando de un elemento que de manera mediata genera la aparición de la enfermedad, es decir estamos hablando de que la causa de la enfermedad periodontal es el biofilm o placa bacteriana. (16)

De manera muy superficial podremos afirmar que el biofilm es una estructura que se va a formar fisiológicamente, es decir, que de por sí no va a causar ningún daño; esa estructura se va a formar en un primer momento por un proceso de electroforesis, es decir una relación de cargas entre el tejido dentario y la saliva, en ese estadio se le va a dar el nombre de película adquirida; para posteriormente ser colonizada por microorganismos los cuales se van a servir de procesos de agregación y congregación bacteriana, ya ves en ese momento donde podemos decir que la placa bacteriana adquiere importancia patogénica. (17)

3.1.1.5 Agente Causal:

Habiendo definido qué es en sí la causa, es necesario desarrollar el segundo término, que si bien es parecido no es lo mismo que la causa; estamos hablando del agente causal, y por este se entiende a aquel elemento que de forma inmediata va a generar una respuesta en efecto o una alteración en un sistema. (18)

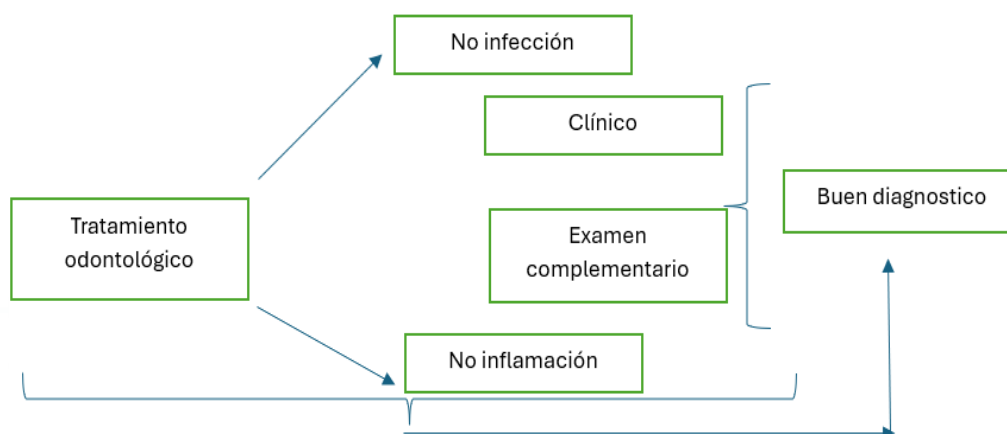
Nuevamente extrapolando los términos al presente trabajo vamos a poder afirmar que la gente causal de la enfermedad periodontal su progresión van a ser las bacterias que van a colonizar la placa bacteriana o el biofilm, esto es pues de colonizar la película adquirida que se formó en un primer momento, sin embargo es importante recalcar que al igual que en otras partes del cuerpo vamos a encontrar una microbiota nativa, la cual va a tener como principal función la de evitar que microorganismos patógenos colonicen estructuras de tal forma que su presencia o sus desechos metabólicos se conviertan en una noxa para el tejido. (19)

Cuando existe este equilibrio Microbiota nativa hablamos de que el sistema se

encuentra en eubiosis, sin embargo este equilibrio, o homeostasia en el biofilm se pierde con los restos alimenticios del huésped los cuales van a generar una proliferación de determinadas especies que van a comenzar a aumentar en número dentro de la placa bacteriana, por consiguiente este desorden o disbiosis va a generar que bacterias distintas a las que deberían estar colonizando dicha estructura comiencen a agregarse por procesos de agregación o de congregación, con esta sucesión bacteriana se configura la patogenicidad de la placa bacteriana. (20)

3.1.1.6 Diagnóstico:

Imagen 5
Diagnostico periodontal



El diagnóstico oportuno de la enfermedad en cuestión es muy importante dado que este va a en un primer momento ser una afección netamente de carácter inflamatorio, es decir estamos hablando de la inflamación de la encía en las gingivitis, posteriormente se va a dar una evolución en el comportamiento de la enfermedad coma ha es decir este cuadro inflamatorio va a progresar a un cuadro inflamatorio destructivo u osteolítico, lo que va a generar la destrucción de la articulación alveolo dentario. (21)

Es por esta razón que se tiene que recalcar la importancia de llevar a cabo un correcto diagnóstico periodontal, ya que para poder realizar cualquier tratamiento es imprescindible que la zona se encuentre libre de cualquier tipo de proceso infeccioso o inflamatorio, por lo tanto para poder llevar a cabo un correcto diagnóstico se requiere de realizar una correcta evaluación desde el punto de vista

clínico, el cual tendrá que ser correctamente complementado con exámenes auxiliares para de esta manera darnos una idea del estado de las estructuras que no se pueden ver a simple vista. (22)

A groso modo, podríamos decir que es desde un punto de vista clínico lo que tendrá que evaluarse es la presencia de placa bacteriana, tomando en cuenta que esta es la causa de la enfermedad; dicha evaluación tendrá que realizarse por medio de la aplicación de índices de placa, sea cualquiera de los criterios que para este efecto se elija, asimismo se tendrá que evaluar la profundidad del sondaje, es decir tendrá que tomar en cuenta que la profundidad fisiológica del surco gingival va a ser de 3 mm asimismo tomando como referencia esta medida se tendrá que detectar las bolsas periodontales y las pseudo bolsas periodontales. Por otro lado también será necesario evaluar el contenido de líquido crevicular el cual discurre por el surco gingival que como se tiene presente va a ser un líquido que transporta anticuerpos y por las características físicas del mismo va a favorecer la adhesión del epitelio de unión a la superficie del esmalte, dicho fluido no debe presentar sangrado al sondaje, esta es la regla general; sin embargo hay situaciones donde se presenta un sangrado y resumiendo hablamos de dos en concreto, una mala maniobra de sondaje o en su defecto la presencia de un proceso inflamatorio. (23)

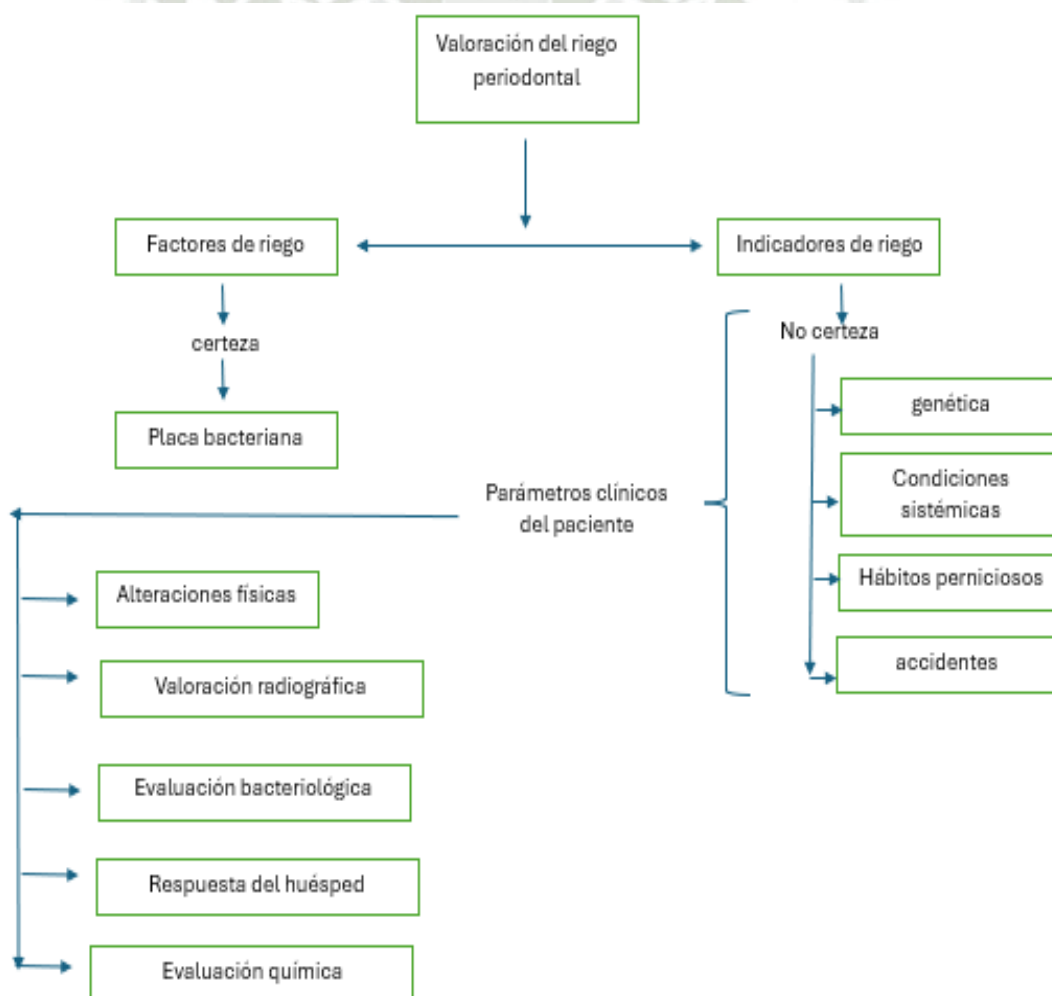
Clínicamente hablando también será necesario evaluar las características fisiológicas de una encía sana como por ejemplo el color, que en principio debería ser Rosa pálido, la consistencia que debe ser firme, la distancia del margen gingival que debe ser de 0.5 a 0.1mm tomando como referencia La Unión a menos comentario. (24)

Para poder complementar el diagnóstico clínico, de lo que se puede ver a simple vista, se debe hacer uso de exámenes auxiliares, básicamente hablamos de diagnóstico por imágenes qué puede ser la tomografía, o lo más utilizado que vendrían a ser las radiografías; sin embargo, el problema con las segundas radica en elegir el tipo de técnica radiográfica, dado que existen aquellas que son extra órales y las intra orales, desde un punto de vista del medio utilizado hablaríamos de las analógicas, es decir las tradicionales que utilizan la película radiográfica, el revelador... y el RBG que vendría a ser un sistema de diagnóstico digital. (24)

Lo correcto para poder utilizar correctamente un diagnóstico radiográfico es optar por las técnicas integrales, más específicamente las radiografías periapicales o byte Queen, ya que estás van a dar información sobre la reabsorción ósea, afecciones de los conductos radiculares, estado del cemento radicular y demás información que no podría conseguirse con una radiografía extra oral como la panorámica, debido a que la circunferencia de la cara a nivel posterior genera una distorsión que no va a poder mostrar la estructura que se quiere evidenciar, por consiguiente se debe de complementar ambos tipos de técnica radiográfica. (25)

3.1.1.7 Valoración del riesgo periodontal :

Imagen 6
Factores e Indicadores de riesgo periodontal



La valoración del riesgo periodontal se hará evaluando una serie de factores que van a estar agrupados dentro de los denominados indicadores y factores de riesgo de la enfermedad. (26)

Primeramente tenemos que diferenciar el término factura e indicador de riesgo, el primero hace referencia a un elemento que de manera inequívoca coma y con certeza y sin lugar a duda va a generar que se produzca la enfermedad, a diferencia del segundo término el cual hace referencia a una serie de elementos que puede que sí o puede que no se produzca la enfermedad, es decir no existe certeza sobre el hecho de que si se presentan sea motivo suficiente para que se produzca la enfermedad a continuación se desarrollarán cada uno de estos:

a. Factores de riesgo:

Hablar de factores de riesgo, como ya se explicó de manera precedente, es referirse a un elemento que de manera inequívoca y con certeza va a generar que se produzca la enfermedad periodontal, en este caso vamos a poder afirmar que la única causa que va a generar la enfermedad en cuestión va a ser la placa bacteriana la cual va a contener a las bacterias y a sus subproductos metabólicos que van a generar el cuadro inflamatorio que va a evolucionar de manera ulterior. (27)

b. Indicadores de riesgo:

Tratar de desarrollar el término indicador significa hacer referencia a una serie de elementos que van a coma sin tener certeza, tener la posibilidad d poder desencadenar el desarrollo de la enfermedad, estos obedecen a indicadores de naturaleza genética, condiciones sistémicas, hábitos perniciosos, accidentes... (28)

La evaluación de estos indicadores se realizará por medio de una revisión y entendimiento de los parámetros clínicos del paciente, los cuales van a englobar una serie de parámetros que procederé a explicar a continuación: (29)

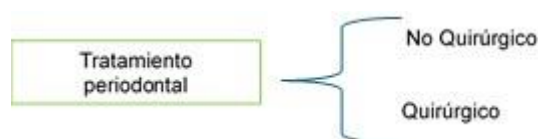
- **Las alteraciones físicas:** Estas hacen referencia a anormalidades de carácter atómico funcional que se van a presentar al momento de llevar a cabo el examen clínico, tendremos Así pues un sondaje irregular, es decir que la profundidad del mismo va a exceder el parámetro normal de los 3 mm, estaríamos hablando también por ejemplo del sangrado al momento de hacer el sondaje, la movilidad dentaria la cual excedería los parámetros fisiológicos, por lo cual tendríamos que ubicar dicha movilidad patológica en la escala de Miller o también hablar de la presencia de la encía que latinizada. (30)
- **Valoraciones radiográficas:** La valoración radiográfica hace referencia a

poder analizar la calidad de trabecular óseo por ejemplo, el nivel de reabsorción ósea, el estado de la cortical, es decir evaluar el estado del tejido duro, el cual no podría valorarse con un simple examen clínico ya que son estructuras que por su naturaleza no pueden ser evidenciadas a simple vista. (31)

- **Evaluación bacteriológica:** Esta evaluación implica poder determinar cuál es el microorganismo patógeno específico que está generando el proceso infeccioso, el mismo que desencadena la inflamación, en pocas palabras cuál es el agente responsable que está desencadenando la inflamación séptica, existen varias formas de poder llevar a cabo esta evaluación bacteriológica; por ejemplo, se puede más cultivos bacterianos, monitorizaciones microscópicas entre otros. (32)
- **Respuesta del huésped:** En esta evaluación se busca determinar cómo se reacciona el sistema inmune del huésped frente a la inflamación de carácter séptico que se produce como consecuencia de la enfermedad, al igual que casa anterior hay varias formas de poder llevar a cabo esta evaluación como por ejemplo un sondaje de ADN, test enzimáticos entre otros. (33)
- **Evaluación química:** Este tipo de evaluaciones de gente más que todo en el estudio y análisis de líquido radicular, porque como se dijo es aquel que va a discurrir por el surco gingival con el objetivo de poder suministrar anticuerpos y también potenciar la adhesión del epitelio de unión, lo anteriormente mencionado cuando hablamos de una estructura en condiciones de hemostasia; ya que en condiciones patológicas dicho líquido puede contener elementos ajenos a su composición como son colagenasa, prostaglandinas entre otros. (34)

3.1.1.8 Tratamiento

Imagen 7
Tipos de tratamiento periodontal



El tipo de tratamiento para esta enfermedad va a corresponder a las características de la misma, del paciente y sus hábitos:

- Tratamiento no quirúrgico:

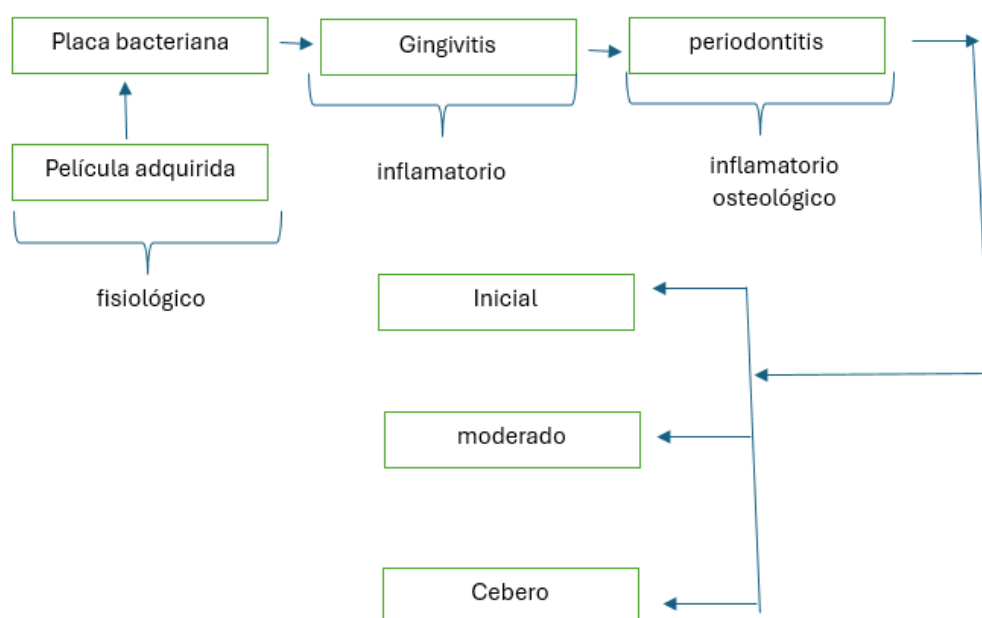
En este caso se podría optar por un raspaje para poder eliminar la placa supra gingival, es decir lo que se encuentra en la superficie del diente, también se podría optar por un alisado radicular que va a servir para poder remover y eliminar la placa subgingival, es decir aquella que se forma debajo de la encía, también podría optarse por una terapia antibiótica con el objetivo de poder combatir la infección. (35)

- Tratamiento quirúrgico:

El tratamiento quirúrgico podría darse por medio de una cirugía de colgajo, con lo que se buscaría reducir el tamaño de las bolsas periodontales, podría optarse también por un injerto de tejido blando, cuyo objetivo sería de poder revertir la retracción gingival, también podría elegirse como opción de tratamiento el injerto de tejido óseo, que por su nombre podemos deducir que va a buscar subsanar la retracción ósea, otra opción sería la regeneración tisular guiada que consiste en aplicar una membrana que va a estimular la regeneración ósea y por último se podría optar por proteínas estimulantes de tejido, que son soluciones que buscan estimular la creación de hueso. (36)

3.1.1.9 Progresión de la enfermedad:

Imagen 8
Progresión de la enfermedad



La enfermedad en cuestión tiene la característica de contar con estadios evolutivos, en concreto podemos decir que la enfermedad tiene dos fases:

- Gingivitis.
- Periodontitis. (37)

Para comenzar a tratar estos estadios evolutivos es necesario recordar la causa de dicha enfermedad que es una placa bacteriana la cual también tiene un proceso de formación comenzando por una película de mucina la cual tapiza las superficies gracias a un proceso de electroforesis, la misma que posteriormente va a ser colonizada por la microbiota nativa y subsecuentemente comenzarán a colonizar otros microorganismos, es decir hablamos de los colonizadores primarios y los colonizadores secundarios. (38)

El primer estadio de la enfermedad en cuestión es la gingivitis la cual no es sino un proceso inflamatorio del tejido gingival, la cual como consecuencia genera la formación de tejido hiperplásico a cual se le va a dar el nombre de bolsas periodontales, la cual tiene por causa el cúmulo de placa bacteriana a nivel subgingival, como ya se dijo esta placa bacteriana va a albergar bacterias que van a colonizar esta superficie después de que se haya formado la película adquirida por medio de mecanismo de agregación y con agregación bacteriana. (37)

Se puede decir que la gingivitis va a hacer un estativo de la enfermedad que se caracteriza netamente por ser un cuadro inflamatorio, el cual puede progresar a la siguiente estadio de la enfermedad periodontal, conocido como periodontitis, y eso dependiendo de la presencia o ausencia de los indicadores de riesgo; de esta forma la actividad inflamatoria no solo va a afectar el tejido blando, sino que también va a comenzar a extender su alcance al tejido duro, de esta forma afectando globalmente a toda la articulación alveolo dentaria o parodonto. (39)

La periodontitis consta de 3 fases: (40)

- **La fase inicial:** esta primera fase tiene la particularidad de que va a contar con características muy similares a los de la gingivitis con un sangrado ligero, pero sin movilidad dentaria importante.

- **La fase moderada:** en esta fase es donde comienzan a aparecer y a acentuarse los signos de la periodontitis, dicha progresión genera la pérdida de inserción del diente, que como consecuencia va a generar una pequeña movilidad dentaria y acompañando a esta un incremento en la profundidad de las bolsas periodontales.
- **La fase avanzada:** la última fase de la periodontitis implica la acentuación por completo de los signos de la misma, la cual se va a caracterizar por un alto grado de movilidad dentaria debido a una grave afectación de la articulación Alveolo dentaria, y por consiguiente un notable incremento en la profundidad de las bolsas periodontales.

3.1.1.10 Clasificación

Imagen 9
Clasificación de la enfermedad periodontal

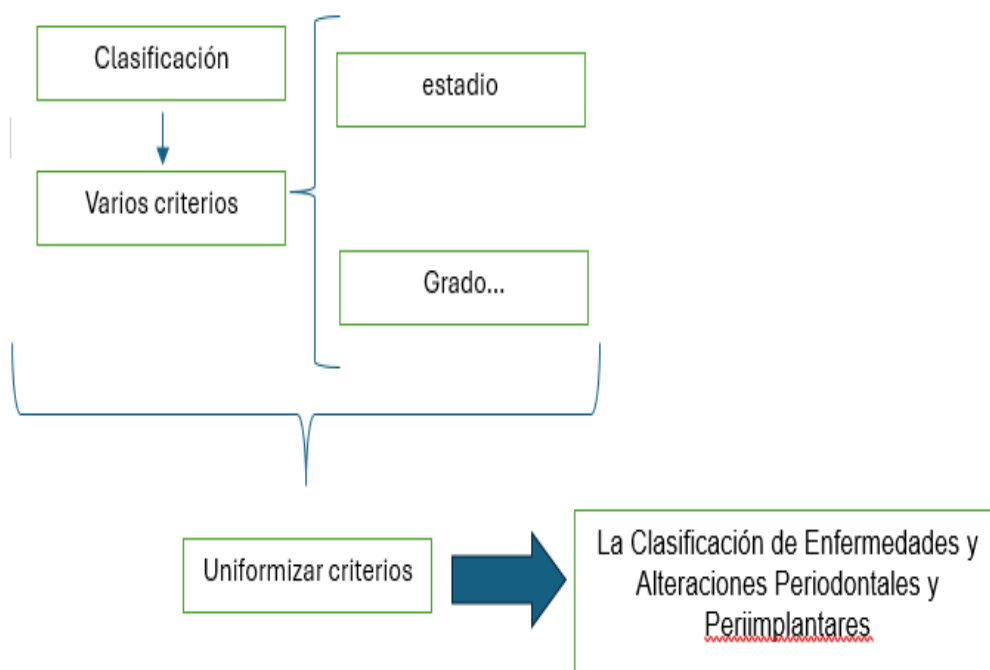


Imagen 10

Clasificación de las condiciones y enfermedades periodontales y periimplantarias 2017

CLASIFICACIÓN DE LAS CONDICIONES Y ENFERMEDADES PERIODONTALES Y PERIIMPLANTARIAS 2017									
CONDICIONES Y ENFERMEDADES PERIODONTALES									
SALUD PERIODONTAL, CONDICIONES Y ENFERMEDADES GINGIVALES			PERIODONTITIS			OTRAS CONDICIONES QUE AFECTAN AL PERIODONTO			
Salud Gingival y Periodontal	Gingivitis: inducido por biofilm dental	Enfermedades gingivales: No inducidas por biofilm dental	Enfermedades periodontales necrosantes	Periodontitis	Periodontitis como manifestación de enfermedades sistémicas	Condiciones o enfermedades sistémicas afectando los tejidos de soporte periodontal	Abscesos periodontales y lesiones endoperiodontales	Condiciones y deformidades mucogingivales	Fuerzas oclusales traumáticas
CONDICIONES Y ENFERMEDADES PERIIMPLANTARIAS									
Salud periimplantaria	Mucositis periimplantaria		Periimplantitis		Deficiencias de los tejidos duros y blandos periimplantarios.				

Para poder hablar de la clasificación, tenemos que considerar que a lo largo del tiempo se han propuesto varios criterios para poder ordenar y entender mejor la periodontitis sin el ánimo de profundizar en este apartado, dado que la enfermedad en cuestión es la que tiene como etiología a una inflamación de carácter séptico se mencionarán lo siguientes: (41)

- según el estadio: Podemos hablar de una enfermedad, que como el criterio le indica tiene varios estadios del primero al cuarto en razón de la acentuación de los signos de la misma.
- según el grado: Nos referimos a el nivel de, como el nombre del criterio lo indica, gravedad de la enfermedad pasando por leve moderada o rápido.

Hay que tomar en cuenta lo mencionado anteriormente, y también considerando la multitud de enfoques que se da para poder llevar a cabo una clasificación de la periodontitis, era necesario poder uniformizar criterios para poder entender mejor a la enfermedad.

Es esto una característica que va a definir al ser humano, la de poder buscar criterios incluyentes o excluyentes en un fenómeno para de esta manera agrupar o separar los elementos de un objeto de estudio con el objetivo de poder entenderlo mejor (abstracción), es decir es una actividad intrínseca del ser humano tratar de clasificar las cosas con el objetivo de poder tener una mejor comprensión de su naturaleza. (42)

En base a esto que en el año 2017 se realizó “La Clasificación de Enfermedades y Alteraciones Periodontales y Periimplantares” la cual establece los criterios de clasificación actuales en la enfermedad periodontal, abarcando el estadio sano y el estadio patológico con las dos fases de la enfermedad la gingivitis y la periodontitis. (43)

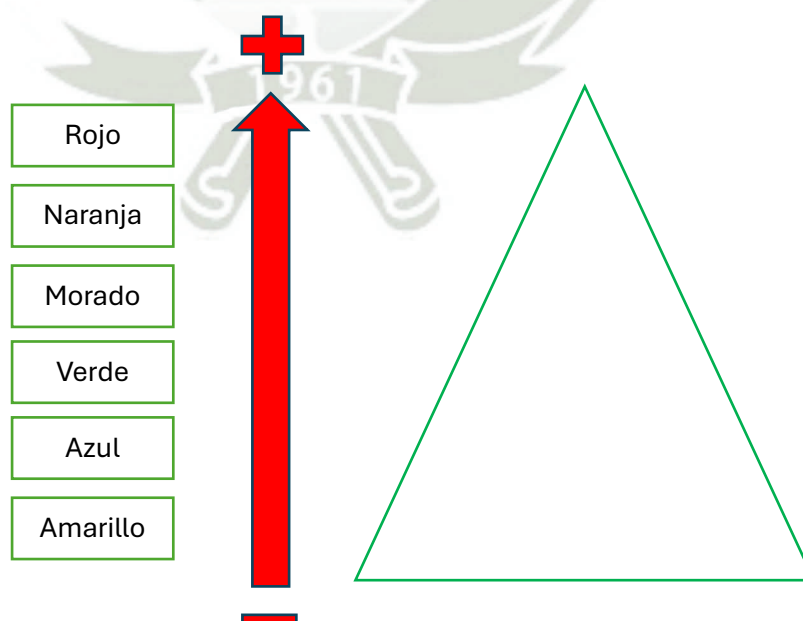
La clasificación antes mencionada se realizó en una reunión, un taller mundial que se llevó a cabo en Chicago en el 2017 cuyos resultados fueron publicados simultáneamente en el 2018 por la Academia Americana de Periodontología y la Federación Europea de Periodontología, el mencionado taller agrupó a los participantes en cuatro equipos los cuales se encargarían de puntos específicos, que sin el ánimo de entrar en detalles se encargarían de tratar: (44)

- Salud periodontal, enfermedad y alteraciones gingivales.
- Periodontitis.
- Manifestaciones periodontales de enfermedades sistémicas y alteraciones del desarrollo y adquiridas.
- Enfermedades y alteraciones para implantarles.

De la revisión del documento que contiene la clasificación en cuestión, se puede afirmar que existe dos tipos de enfermedad periodontal con una etiología que es similar, pero de distinta naturaleza; es decir estamos hablando de aquella que se va a producir por causa de una inflamación de carácter aséptica, es decir donde no hay una infección, el caso de aquellas situaciones donde la periodontitis es causada por fármacos, alteraciones hormonales, factores nutricionales o de desarrollo. Por otra parte encontramos a la que se produce por una inflamación de carácter séptico, es decir que la inflamación se produce con el objetivo de poder combatir una infección, y es en este caso que estamos hablando de las periodontitis que tienen como causa a la Placa bacteriana. (45)

3.1.2. Complejo de Socransky y Col

Imagen 11
Complejo de Socransky y Col



El complejo de Socransky y Col, fue elaborado en 1998 por medio de la técnica

de Checkboard que consiste en una técnica de hibridación de ADN, estamos frente a un esquema gráfico o que busca agrupar a las especies bacterianas que habitan en el biofilm; las cuales son agrupadas en base a criterios establecidos como son las condiciones de su microambiente, su capacidad de virulencia y la gravedad de la enfermedad. (46)

La razón de este complejo radica en que, la colonización de la placa no es un fenómeno que ocurre basándose en el criterio de aleatoriedad, sino que corresponde a una cadena de sucesos secuenciados, día dos por la naturaleza de las bacterias.

Como ya se dijo anteriormente, la formación de la película adquirida se va a llevar a cabo por medio de un proceso electroforético, lo que va a generar que está en forma de una película de mucina se pegue de tal forma que tapiza la superficie del diente, y de esta manera va a constituir una superficie la cual podrá ser colonizada por un conjunto de bacterias a las cuales se les va a dar la denominación de colonizadores primarios, las cuales se unen a esta por medio de un conjunto de proteínas denominadas adhesinas, estos colonizadores primarios tienen la particularidad de que son de naturaleza gram positiva y su metabolismo es aeróbico, es decir requieren de oxígeno para poder vivir, de estos últimos el género predominante es el tipo estreptococo; después de 7 días las bacterias que se van a observar con mayor prevalencia, y es decir las que están más presentes, serán los del tipo *Streptococcus mutans*. (47)

Transcurridas las dos semanas comenzarán a aparecer los colonizadores secundarios, adentro de sus características metabólicas serán categorizados como gram negativos y anaerobios ya que no requieren de oxígeno para poder vivir, es a estos últimos a los cuales se les va a dar el nombre de inductores de la enfermedad periodontal, ya que, por ejemplo el más destacable sería el *Fusobacterium Nucleatum*, el cual tiene como principal característica la capacidad de congregarse a gentes de la colonización secundaria, de esta manera se convierte en un nexo o puente entre los microorganismos que constituyen los colonizadores primarios y aquellos que corresponden a los colonizadores secundarios. (48)

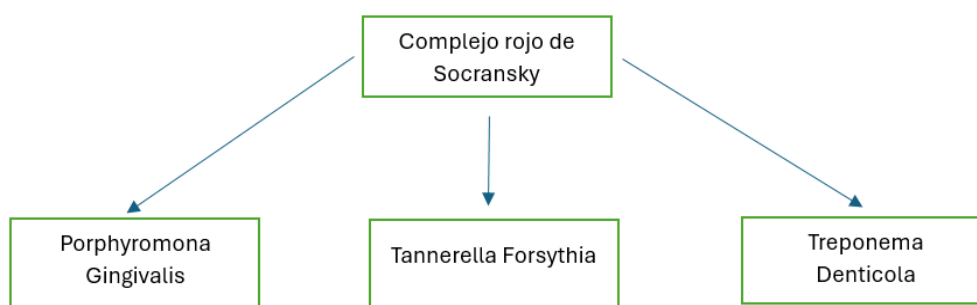
Como se mencionó de manera precedente, el complejo de Socransky busca

agrupar a las bacterias obedeciendo a una serie de parámetros y de esta forma se constituyen cinco complejos que de manera pedagógica van a agrupar determinadas características de los periodonto patógenos en relación a varios colores lo cual es procederé a describir a continuación: (1)

- Complejo rojo: Este está integrado por los periodontopatógenos caracterizados por presentar un mayor nivel de virulencia en el desarrollo de la periodontitis.
- Complejo naranja: en este caso el complejo va a estar conformado por los colonizadores secundarios que van a tener la particularidad de poder coa agregar a otros agentes de esta forma sirviendo de puente para la ocasión bacteriana.
- Complejo morado: En este lugar encontraremos a los colonizadores secundarios.
- Complejo verde: En ese apartado encontraremos a agentes bacteriano de la placa madura.
- Complejo azul: Lo más complejo se contiene a los colonizadores primarios que van a tener la capacidad de poder congregar a agentes bacterianos que forman parte de los colonizadores secundarios.
- Complejo amarillo: En este complejo amarillo encontraremos a los agentes bacterianos que forman parte de los colonizadores primarios.
- Sin agrupar: Y por último en esta categoría encontramos a bacterias atípicas, que obviamente no se encuentran dentro de los complejos anteriormente descritos.

2.1.2.1 Complejo rojo de Socransky:

Imagen 12
Periodontopatógenos del complejo rojo de Socransky



Como ya se mencionó en su momento el complejo rojo va a contener a los agentes bacterianos más agresivos, con mayor nivel de virulencia en la periodontitis este complejo rojo está constituido por tres bacterias en concreto que son *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema Denticola* y *Tannerella forsythia*. (49)

El *Porphyromonas gingivalis* es un bacilo gram negativo anaerobio que va a tener como hábitat el surco gingival y su comportamiento es patógeno tanto en cuadros agudos como en crónicos y su agresividad está en relación a sus factores de virulencia, los cuales serán desarrollados de manera ulterior. (50)

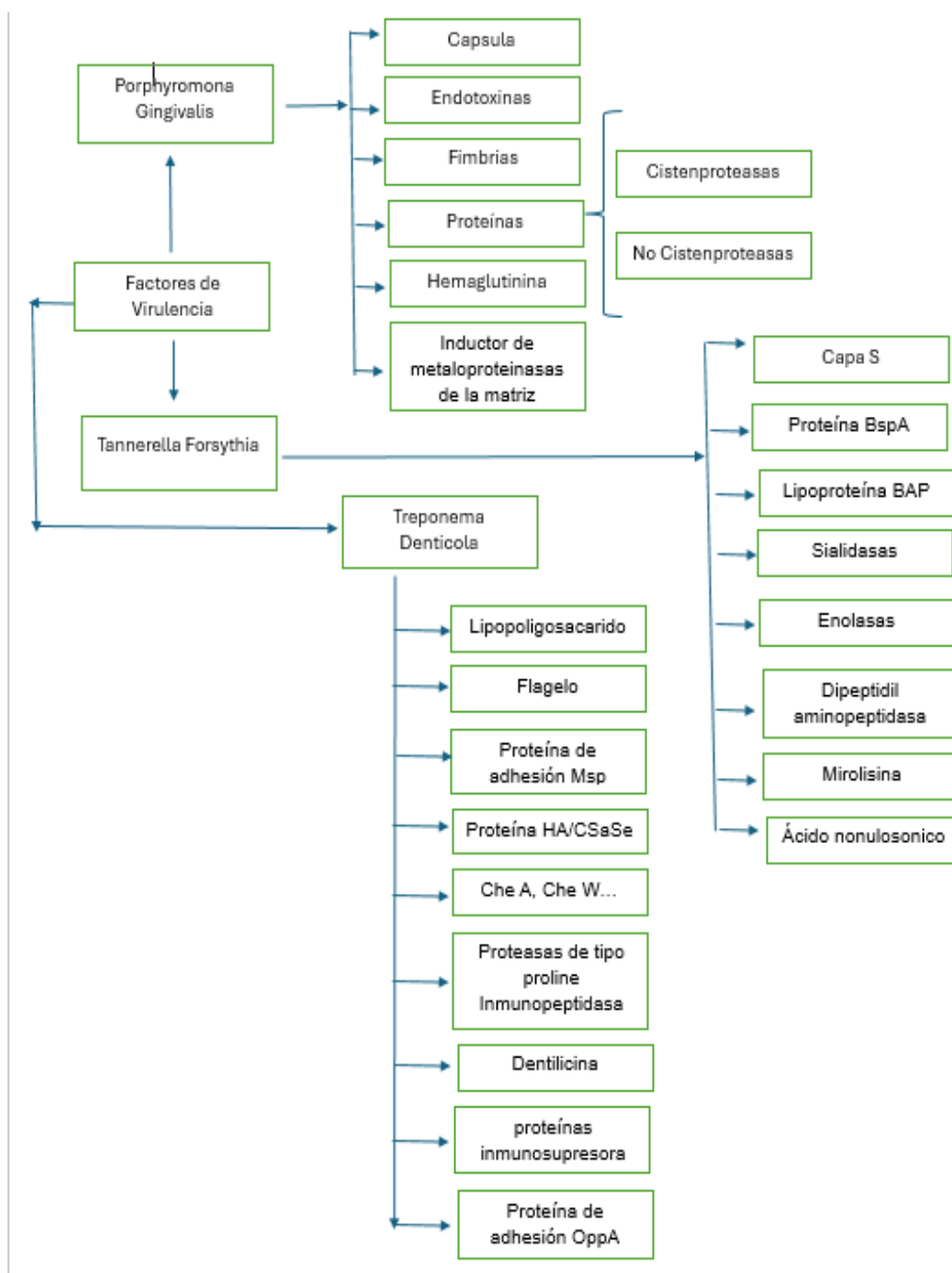
El *Tannerella Forsythia* es un bacilo anaerobio gramnegativo que va a habitar en la profundidad de las bolsas periodontales, las principales características de esta bacteria son su inmovilidad, la presencia de la capa “S” por fuera de la pared celular y que tiene un comportamiento comensal, es decir que va a generar sinergia con otros microorganismos de complejo rojo; esta bacteria puede diseminarse por vía hematógena lo que puede generar otras patologías como arterosclerosis, artritis reumatoide, entre otras, asimismo la bacteria en cuestión tiene mecanismos de evasión como la producción de enzimas y la modulación de la respuesta inmune. (51)

Por último *Treponema denticola* va a hacer una bacteria de tipo espiroqueta gram negativa anaerobia estricta que se va a caracterizar por su alto nivel de resistencia debido a sus factores de virulencia los cuales van a hacer principalmente la denticicina, las proteasas y proteínas inmunosupresoras; todos estos factores van a ser responsables de que se inhiba la fagocitosis así como también se va a inhibir los mecanismos de activación de la vía de complemento. (52)

Cada una de las bacterias mencionadas con anterioridad poseen sus factores de virulencia los cuales serán desarrollados a continuación.

3.1.3. Factores de virulencia

Imagen 13
Principales factores de virulencia de los periodontopatógenos del complejo rojo



Podemos entender que las bacterias al ser seres vivos tienen la capacidad de poder adaptarse con el objetivo de cumplir con la misión que tiene todo ser vivo que es la de perpetuar su especie como es decir la supervivencia por tal motivo obedeciendo a un principio evolutivo dichas bacterias van a desarrollar mecanismos para poder hoy adaptarse a su medio o no qué día es pasar este nivel

en este caso nos referimos a que las bacterias desarrollaran determinados mecanismos a los cuales se les denomina factores de virulencia. (53)

Se entiende entonces que estos son factores o elementos que van a favorecer a las bacterias patógenas en la invasión coma y reduciendo la resistencia biológica del huésped no favoreciendo la adherencia bacteriana, o reduciendo la respuesta antibiótica. A continuación, se procederá a describir los factores de virulencia de las bacterias que conforman el complejo rojo de Socransky, que como ya se dijo vendrían a ser los periodontopatógenos más agresivos, y dicha patogenicidad corresponde a los actores antes descritos. (54)

2.1.3.1 *Porphyromonas Gingivalis*:

En primer lugar, esta bacteria va a contar con los siguientes factores de virulencia:

- La cápsula: esa estructura está constituida por un conjunto de polisacáridos sintetizados por la epimerasa, su acción es la de evitar la fagocitosis así como también la de evitar la opsonización y la activación del sistema del complemento. (55)
- Las endotoxinas: en este caso hablamos de componentes de la membrana externa de la bacteria gram negativa, su principal acción es la de destruir el tejido conectivo así como también generar la lisis del hueso la patogenicidad de este factor radica en que es responsable de inhibir la respuesta inmune del huésped.
- Hemaglutininas: es un factor que coadyuva a la adhesión bacteriana por medio de la unión a receptores oligosacárido de la célula.
- Las fimbrias son proteínas de superficie que ayudan a la adherencia bacteriana y a las quimiotaxis. (56)
- Proteínas cistenproteasas: Es un conjunto de enzimas que es un conjunto de enzimas entre otras cosas son responsables del recambio de proteínas, la activación hormonal y el remodelado óseo; la principal es la gingipaina.
- Proteínas no cistenptoteasas: La principal es la periodontaina y su función es la de degradar proteínas y polipéptido. (57)
- Inductor de metaloproteinasas de la matriz: en este caso no hablamos de un producto de la bacteria, sin embargo la presencia de esta va a inducir a la

segregación de metaloproteinasas, esta sustancia va a inactivar a los inhibidores de metaloproteinasas lo que va a generar la destrucción del colágeno y la fibronectina. (58)

2.1.3.2 *Tannerella forsythia*:

En este caso vamos a poder evidenciar una serie de factores de virulencia que van a ser desarrollados de manera breve:

- La capa S, que es una cubierta de la membrana externa de la bacteria la cual va a tener como función principal la de permitir la adhesión de esta forma facilita la invasión y colonización por parte de la misma, así como también va a reducir la respuesta del huésped.
- Proteína BspA, hablamos de un componente que se va a unir a la matriz extracelular Iba a inducir a la producción de citocinas pro inflamatorias lo que influye bastante en el proceso osteológico de reabsorción, así como también en los procesos de coagulación. (59)
- Lipoproteína BAP, este componente tiene como función la de aumentar el potencial oxidativo de las mitocondrias Así mismo se encarga de la degradación del epitelio gingival e induce a la inflamación.
- Sialidasas, esta sustancia se encarga de modificar la respuesta inmune del huésped de esa forma facilitando la colonización bacteriana lo que la larga generara que se produzca la destrucción de tejido del huésped.
- Enolasas, estas se encargan de llevar a cabo un proceso de degradación del fibrinógeno e inducen a la inflamación. (60)
- Dipeptidil aminopeptidasa, esta es una sustancia que va a degradar el colágeno tipo 1 y 2, es fundamental en la progresión de la enfermedad.
- Mirolisina, esta es responsable de cortar las vías de activación del complemento y de llevar a cabo un proceso de degradación de péptidos.
- Molécula chaperona Gro EL, esta molécula va a ser responsable de incrementar la producción de la prostaglandina E2, incrementar la reabsorción

ósea, por lo que es una gente que va a agravar el proceso inflamatorio.

- Ácido nonulosónico, este factor de virulencia va a ser responsable de llevar a cabo un proceso de evasión de la respuesta inmune del huésped. (61)

2.1.3.3 *Treponema denticola:*

En el caso de *Treponema Denticola* vamos a encontrar también una serie de factores de virulencia los cuales van a determinar la patogenicidad de la mencionada bacteria:

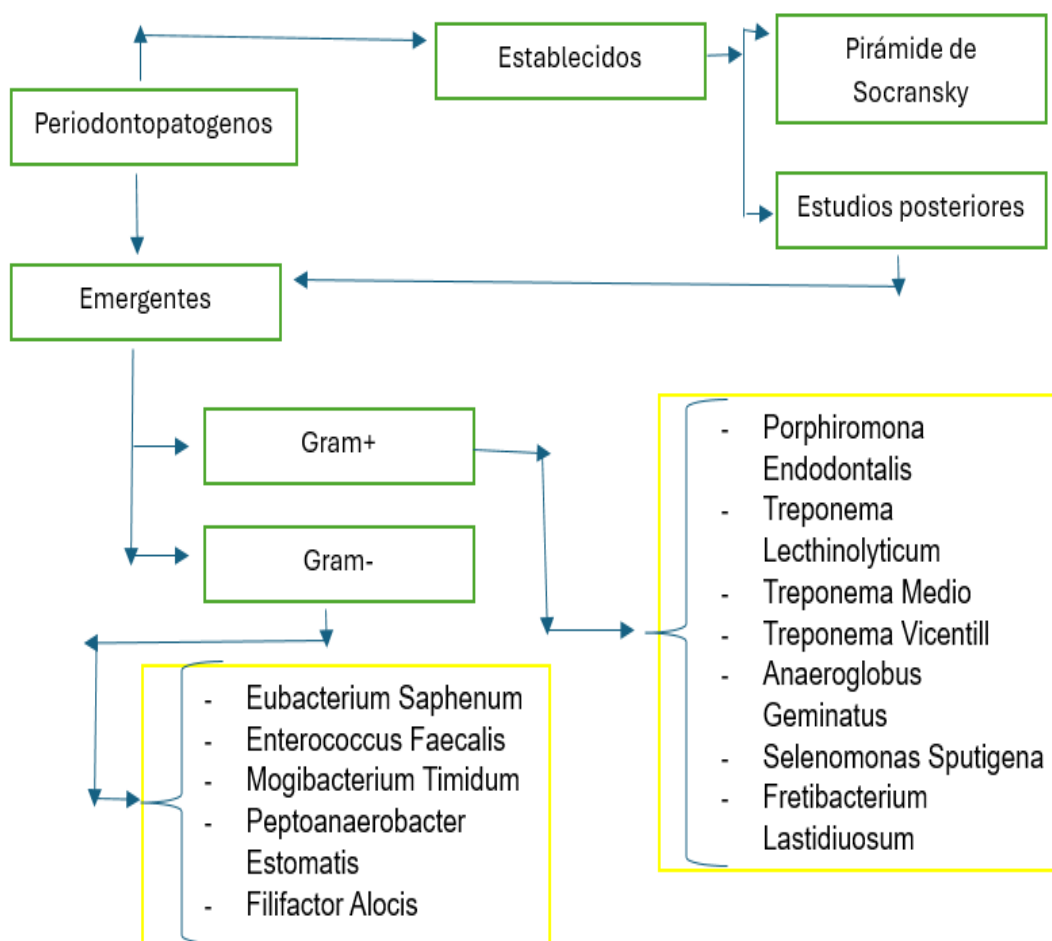
- Lipopoligosacárido, este es un componente de membrana externa el cual va a tener confusión inducir a la maduración de los osteoclastos como y es decir la osteoclastogénesis lo que influye en el incremento de la reabsorción.
- Flagelo, hablamos de un elemento estructural que va a permitir la movilidad de la bacteria y aumentar la capacidad de invasión de la misma; así mismo es un elemento que va a permitir que la misma se adapte al ambiente. (52)
- Proteína de adhesión Msp, estaba a potenciar la congregación y también va a generar citotoxicidad.
- Proteína de adhesión OppA, estaba a participar en la colonización ya que va a permitir que se lleve a cabo una unión a la fibronectina y plasminógeno.
- Denticina, es una proteasa que va a tener un efecto citopático, va a inducir a la contracción celular y por consiguiente va a generar un aumento de la permeabilidad de la misma; así mismo va a generar una facilidad para la adhesión al fibrinógeno. (62)
- Proteína HA/CSaSe, Esta proteína es responsable de llevar a cabo un incremento en la permeabilidad del tejido conectivo.
- Proteasas de tipo proline Inmunopeptidasa, Estas enzimas van a generar la producción de su producto fermentativos como es sulfuro de hidrógeno asimismo van a generar un efecto citotóxico induciendo a la apoptosis celular.
- Actividad quimiotáctica, es decir la parte de va a tener la capacidad de poder adaptarse a los cambios de su entorno gracias a la presencia de una serie de

proteínas como son Che A, Che W, entre otras.(63) Vesículas de membrana externa, son elementos que van a facilitar la penetración en los tejidos así como también bueno facilitar la agregación bacteriana y van a modular atenuando la respuesta del huésped.

- Resistencia a péptidos antimicrobianos naturales, esto por la ausencia del lipopolisacárido.
- Modulación de la respuesta inmune del huésped, debido a la presencia de proteínas inmunosupresora. (64)

3.1.4. Periodontopatógenos establecidos

Imagen 14
Periodontopatógenos establecidos y emergentes



Hablar de los periodontos patógenos, implica necesariamente hablar de la pirámide Socransky la cual fue desarrollada con el objetivo de poder agrupar a los

mencionados microorganismos en categorías en base principalmente a su nivel de virulencia y el papel que juegan en la la enfermedad periodontal. Dicho estudio se llevó a cabo en 1998, por lo que ya ha pasado un largo tiempo, en este tiempo se le ha dado un importante estudio a las bacterias que son parte de este esquema; de esta forma se encuentra una gran cantidad de información sobre los mencionados microorganismos desde muchas perspectivas. (65)

3.1.5. Periodonto patógeno emergentes:

En este segmento, sin la intención de redundar, es necesario considerar que los microorganismos ubicados en la pirámide de Socransky han tenido una gran tratativa y estudios que permiten identificar su comportamiento factores de virulencia entre otras cosas, como ya se ha visto líneas arriba al describir a los microorganismos del complejo rojo, como ya se dijo este es que además tiene su origen en 1998. (66) En el 2004 se hicieron nuevos estudios y es aquí donde se identifica al *Fusobacterium nucleatum* como un elemento puente en la sucesión bacteriana de los colonizadores de la placa bacteriana, por ende, se concluyó que es un indicador del aumento de riesgo. Así mismo se determinó la agresividad de la enfermedad en presencia del *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* y por lo tanto se establece una relación de sinergia con las bacterias del complejo rojo. (67) Con el paso del tiempo fue posible identificar otros patógenos periodontales que tienen una participación en la producción y evolución de la enfermedad tratada los cuales corresponden a especies gram positivas y gram negativas qué son las siguientes. (68)

2.1.5.1 Gram negativas:

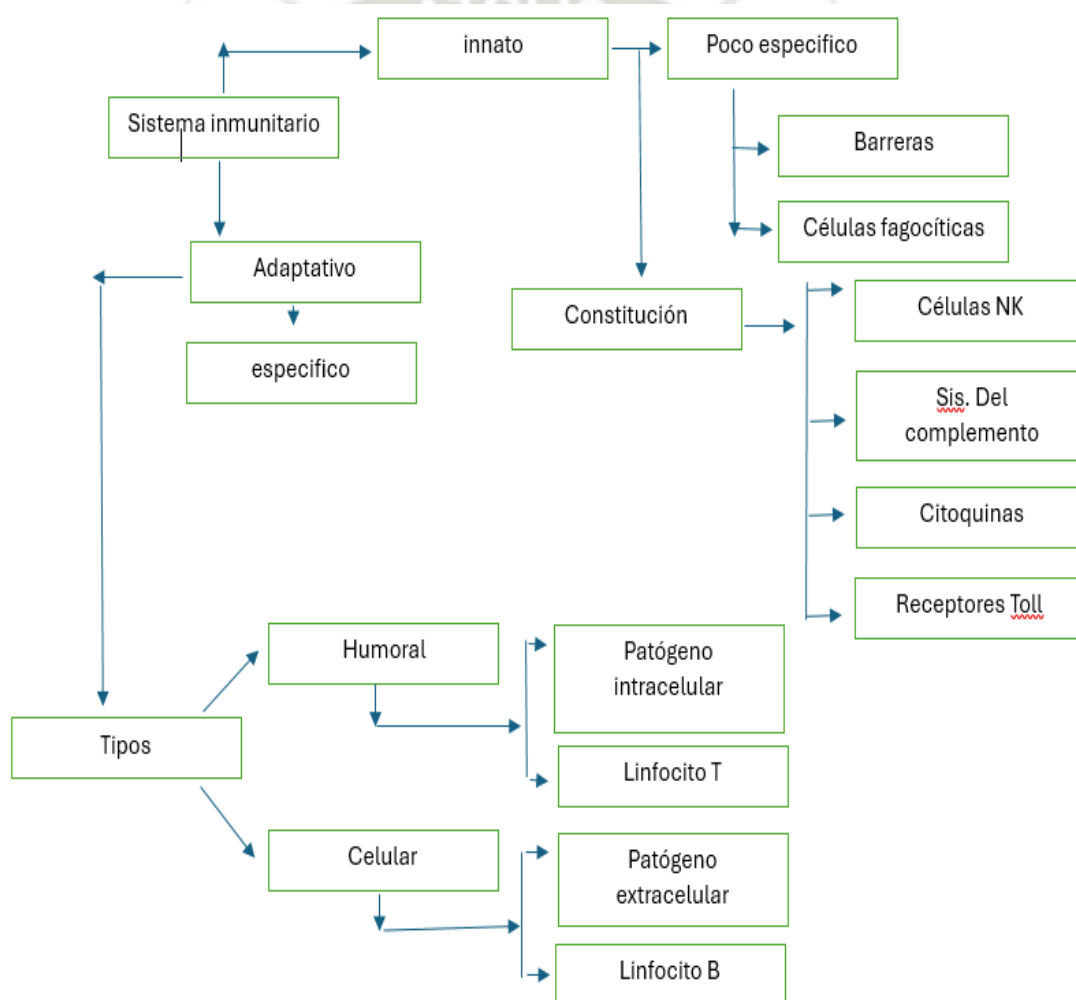
- *Porphyromonas endodontalis*.
- *Treponema lecithinolyticum*.
- *Treponema médium*.
- *Treponema vincentii*.
- *Anaeroglobus geminatus*.
- *Selenomonas sputigena*.
- *Fretibacterium fastidiosum*.

2.1.5.2 Gran positivas:

- *Eubacterium saphenum*.
- *Enterococcus faecalis*.
- *Mogibacterium timidum*.
- *Peptoanaerobacter stomatis*.
- *Filifactor alocis*.

3.1.6. Respuesta inmune:

Imagen 15
Sistema inmunitario



Para poder hablar de la respuesta inmune es necesario tener una noción de qué es el sistema inmunitario, este es un sistema que va a tener como función principal la de defender al organismo frente a injurias o noxas que pueden ser microorganismos o células infectadas, en este último caso estaríamos hablando de

una función de inmunovigilancia.

El sistema inmune va hacer de dos tipos, sin embargo, cabe recalcar que esta división se hace más por motivos didácticos, para un mejor entendimiento, ya que el funcionamiento de ambos tipos de inmunidad no se da por separado sino más bien que se da de manera complementaria donde primero se va a servir del segundo y el segundo del primero. Hablamos pues de la inmunidad innata y la inmunidad adquirida. (69)

Hablando en primer lugar de la inmunidad innata, tendremos que decir que esta constituirá la primera línea de defensa la cual va a servirse y utilizar mecanismos preexistentes los cuales fueron obtenidos a través de la inmunidad adquirida para hacer frente a las noxas o injurias, por tal motivo vamos a poder afirmar que la respuesta este sistema inmune va a tener una especificidad muy limitada; dentro de los principales componentes de este sistema inmunitario innato vamos a encontrar barreras físicas y químicas, células fagocitadas, células asesinas o natural killer, el sistema de complemento, citoquinas y los receptores tipo Toll, a continuación se desarrolla brevemente cada uno de ellos: (70)

- Las barreras físicas y químicas están constituidas por los epitelios que van a evitar el ingreso de agentes agresores.
- El sistema del complemento, este es un sistema que va a estar constituido por proteínas inactivas circulantes que van a hacer sintetizadas en el hígado o los macrófagos que entre otras funciones van a tener llevar a cabo una actividad lítica, optimización, producción de péptidos pro inflamatorios y activación de los linfocitos. Existen varias vías para activar este sistema vamos a encontrar pues la vía clásica que se va a dar por la unión a anticuerpos vamos a encontrar la vía alterna, que se va a dar por la unión a microorganismo y por último encontramos la vía de las lectinas donde va a producirse la unión a las monosas.
- Dentro de lo que corresponde a las células fagocitarias encontraremos a los neutrófilos que van a hacer la primera línea de defensa contra microorganismos siendo su función la de llevar a cabo la fagocitosis; en esta parte debemos hablar también de los macrófagos, células que pueden encontrarse en dos estados, pueden encontrarse con monocitos circulantes o

como los macrófagos tisulares y sus principales funciones serán llevar a cabo la fagocitosis, la presentación de antígeno, y la segregación de citoquinas.

- Dentro de las células asesinas o las denominadas natural killer debemos destacar que son un tipo especial de linfocito que va a tener la función de eliminar células infectadas o células alteradas porque perdieron moléculas de histocompatibilidad o en su defecto perdieron considerables cantidades de interferón gama.
- las citoquinas o también denominadas interleucinas van a hacer un conjunto de proteínas secretadas por las células inmunitarias las cuales van a generar células efectoras su función principal es la de convertir linfocitos y macrófagos en células efectoras tienen otras funciones como la de estimular o inhibir a las células hematopoyéticas, estas citoquinas van a generar efectos locales como por ejemplo la activación del endotelio, la quimiotaxis, la producción de anticuerpos, la activación de macrófagos o de las natural killer; asimismo tendrán efectos sistémicos como el de producir fiebre o shock sépticos.
- Los receptores tipo Toll, son receptores estructurales para los patrones moleculares microbianos a estos los vamos a encontrar en las células inmunitarias y tienen la característica de que son la unión entre el sistema innato y el adquirido.

Habiendo descrito el primer sistema inmune, es decir el sistema inmune innato, como aquel que va a tener una respuesta poco específica frente a las injurias, es necesario hablar del segundo que es el sistema inmune adaptativo.

Este sistema inmune adaptativo se va a caracterizar por su gran efectividad frente a varias exposiciones injuriosas, asimismo va a tener una respuesta específica para cada agresor; los principales elementos de este sistema van a ser los linfocitos T y los linfocitos B, de la misma manera podemos dividir a este sistema en dos tipos el sistema inmune adaptativo humoral y el sistema inmune adaptativo celular. (71)

El sistema inmune adaptativo humoral va a ser nuestro mecanismo de defensa para hacer frente a los patógenos extracelulares a diferencia del sistema inmune adaptativo celular que va a ser la forma en la que nuestro organismo se va a defender de patógenos intracelulares. La inmunidad celular va a tener como

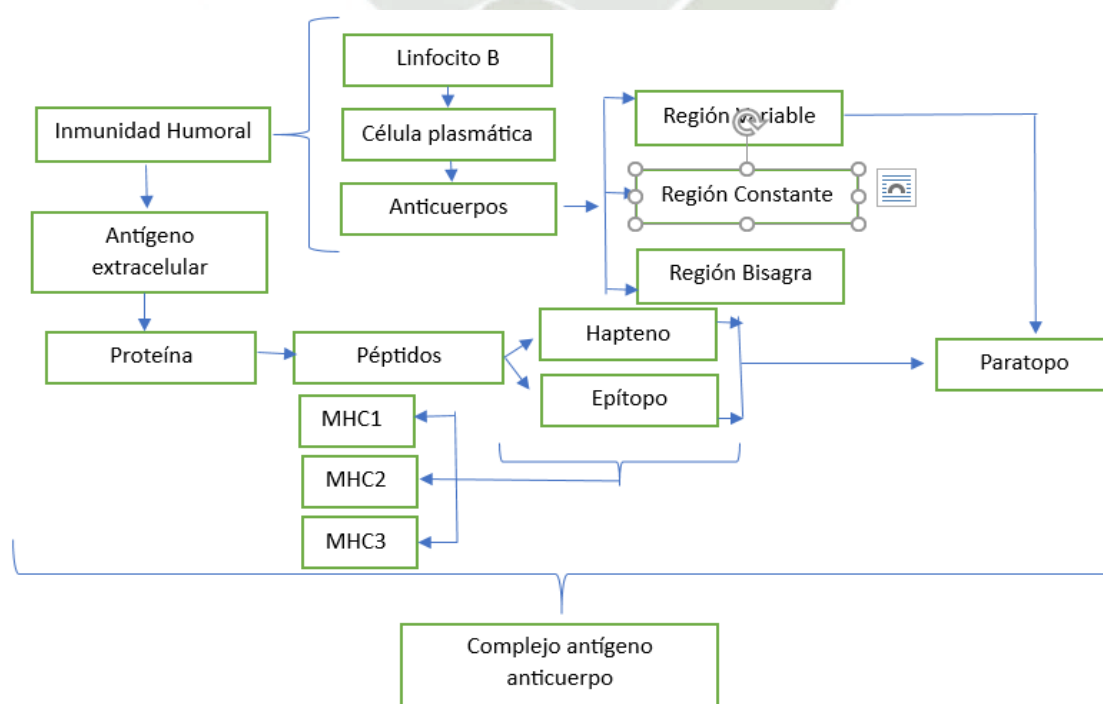
principal agente a los linfocitos T que van a llevar a cabo la lisis de células infectadas o tumorales, así como también la de llevar a cabo la lisis de los microorganismos fagocitados, es así que encontramos dos tipos de linfocitos los TCD4 y los TCD8, los cuales se encargan de las funciones descritas anteriormente. (72)

Los linfocitos TCD4 pueden ser a su vez de dos tipos los TH1 y los TH2, donde los primeros se van a diferenciar por las interleucinas doce y el interferón gama y los segundos se van a diferenciar por la interleucina cuatro en presencia de alérgenos. (73)

En lo que se refiere a la inmunidad humoral esta va a estar mediada por los anticuerpos o inmunoglobulinas que van a ser sintetizados por los linfocitos B con el objetivo de combatir patógenos extracelulares. Es importante entender que en la estructura de esta inmunoglobulina vamos a encontrar una región constante que va a determinar el tipo de inmunoglobulina y otra parte que es la región variable que va a determinar el tipo de antígeno al que se va a unir. (74)

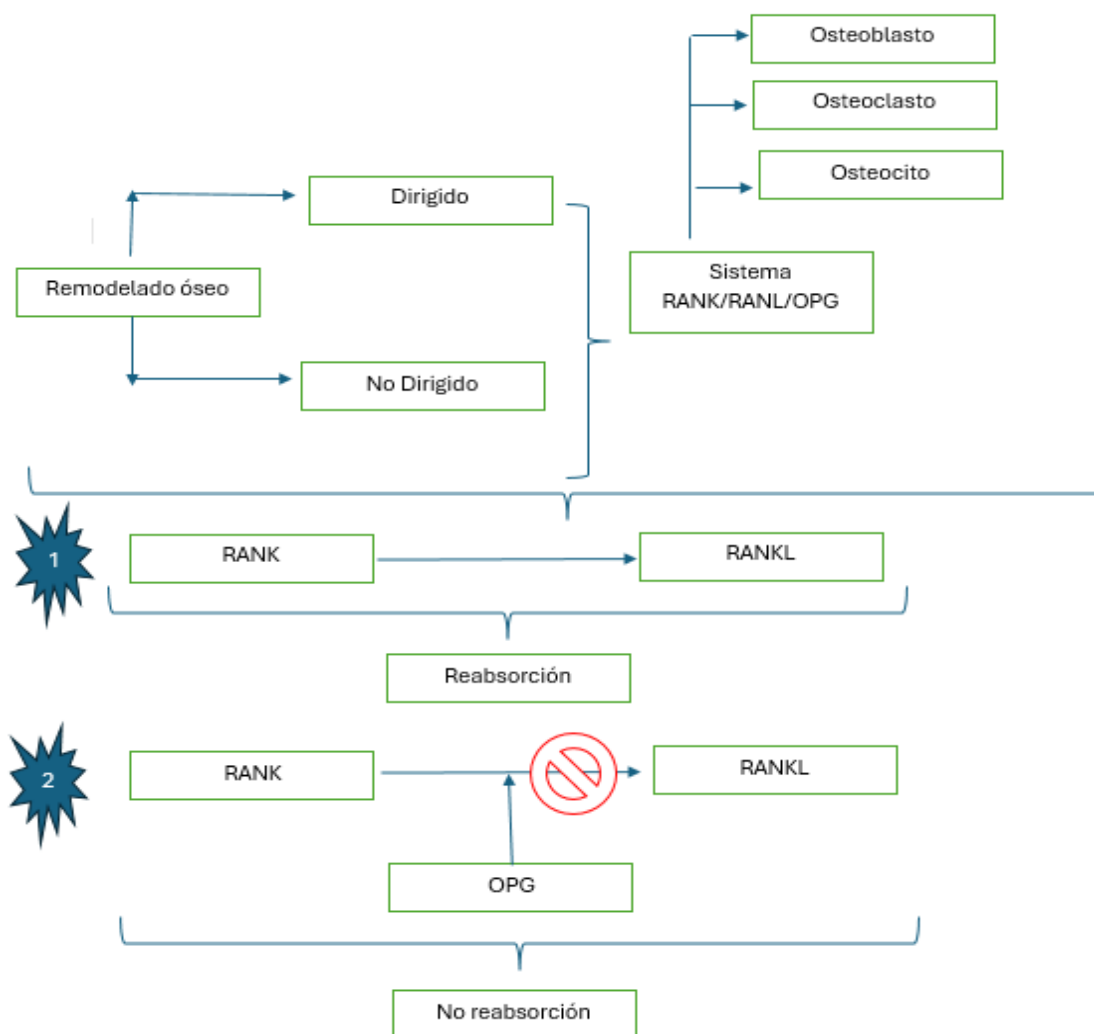
3.1.7. Complejo Antígeno anticuerpo

Imagen 16
Complejo antígeno-anticuerpo



3.1.8. Sistema RANK/RANKL/OPG:

Imagen 17
Sistema RANK/RANKL/OPG



En esta parte tendremos que hablar del tejido óseo, comenzando por decir que este es un tejido muy especial ya que va a tener como principal característica una intensa y alta actividad metabólica para que de esta manera el tejido se encuentre en las condiciones óptimas para cumplir con su función te agrandes rasgos podremos señalar que son: (75)

- Soporte.
- Protección.
- Homeostasis.

También es necesario recalcar que existe una clasificación de tejido óseo en base a distintos criterios, sin embargo no me basare en un criterio de carácter anatómico sino más bien en un criterio enfocado en el aspecto histológico y fisiológico. (76)

Por tanto estamos refiriéndonos aquí dentro del hueso encontramos dos clases el tejido óseo compacto o también llamado cortical, o tejido corticalizado el cual tiene la principal característica de que va a tapizar la superficie externas de una estructura ósea, y por sus características físicas va a proveer a dicha estructura para que de una mayor estabilidad; por otra parte vamos a poder encontrar dentro de la estructura ósea un tipo de hueso que a diferencia de lo anteriormente descrito va a tener como principal característica la formación es celdillas que van a estar delimitada por trabéculas, y es por esta razón obvia que se le va a dar el nombre de hueso trabecular, el cual va a albergar dentro de las celdillas a la médula ósea, desde un punto de vista funcional y en contraste con el hueso compacto, este se va a encargar de cumplir una función amortiguadora, lo que va a generar que la estructura ósea tenga más resistencia a las tensiones a la que se va a exponer por el ejercicio de su función. (77)

Aplicando un criterio de abstracción, podemos darnos cuenta que el hueso va a estar constituido por un gran porcentaje de hidroxapatita, pero ser más específico en 60%, asimismo dentro de sus componentes encontraremos también 30% de colágeno y aproximadamente un 10% de agua. (78)

Como se dijo anteriormente el tejido óseo tener la particularidad de que va a tener una intensa actividad metabólica, y eso se traduce en el hecho de que dicho tejido va a estar sujeto a un proceso de remodelado óseo, entendiendo por éste un proceso que va a buscar, que tiene como objetivo mantener la integridad del hueso. En este proceso van a participar un conjunto de células que van a tener una función estructural y de mantenimiento. Nos estamos refiriendo a los osteoblastos, osteoclastos, y los osteocitos. (79)

Debemos entender algunas cuestiones generales sobre las células antes mencionada, es así pues que comenzaré con los osteoblastos, estas células tienen un origen mesénquimal, las cuales van a tener la capacidad de expresar proteínas como la fosfatasa alcalina o el colágeno, también van a expresar moléculas reguladoras como la osteocalcina, ligando del receptor activador del factor nuclear o RANKL y también van a mostrar la osteoprotegerina u OPG. (80)

En segundo lugar, hablamos de los osteoclastos los cuales van a ser el resultado de la maduración de unas células precursoras denominadas preosteoclastos y su función principal es la de llevar a cabo una actividad osteolítica, que se traduce en la reabsorción

ósea, la cual se produce por la acidificación y proteólisis de la matriz del tejido. (81)

Y por último hablamos de los osteocitos, a diferencia de los anteriores cuya función se puede traducir en un mantenimiento de la estructura, en este caso las células en cuestión van a encargarse de llevar a cabo una función netamente estructural. Los osteocitos pues, en resumen, serán los osteoblastos que van a estar rodeados de la matriz ósea y su importancia radica en que van a expresar el receptor RANK. (82)

Es necesario recalcar existen varios tipos de remodelado, a grandes rasgos hablaremos de un remodelado dirigido o fisiológico que se va a dar a consecuencia del ejercicio de la función el hueso es decir se da por factores mecánicos; este se da debido a la destrucción de los osteocitos lo que como consecuencia va a generar la liberación de factor estimulante de colonias de monocitos y también la liberación de RANKL. Así mismo el remodelado no dirigido no obedecer a factores mecánicos, sino más bien que va a ser guiado por factores hormonales como por ejemplo hablaríamos de la parathormona, calcitonina, hormona del crecimiento entre otras. (83)

Después de todo lo anteriormente mencionado, la pregunta radica en que tiene que ver el sistema RANK/RANKL/OPG con la integridad del hueso, y la respuesta es lógica en el sentido de entender que el sistema antes mencionado va a ser el encargado de gobernar el remodelado en muchos aspectos. (84)

Por tal motivo es necesario comprender, y entender cada componente de este sistema; comenzando por una idea de qué es en realidad, es así que diré que es un sistema que va a buscar el equilibrio en el remodelado óseo por medio de la diferenciación y activación de los osteoclastos y osteoblastos. (85)

El receptor activador del factor nuclear RANK es miembro de una familia de receptores que corresponden al factor de necrosis tumoral y el cual va a estar ubicado en la membrana de los osteoclastos y también en la superficie de los linfocitos B y T los fibroblastos y las células dendríticas, El antes mencionado al ser un receptor requiere de un ligando para de esta forma constituir el complejo ligando receptor, el ligando de receptor activador del factor nuclear kB o RANKL es una proteína transmembrana que va a expresarse en los osteoblastos y las células mesenquimales, y al igual que el anterior también va a formar parte de la familia del factor de necrosis tumoral; finalmente la osteoprotegerina a la cual se le denomina también inhibidor de la diferenciación de osteoclastos, va a ser una

proteína que va a ser secretada por los osteoblastos y las células de la médula ósea. (86)

En cuanto al funcionamiento del sistema, el ligando y el receptor se van a unir como y como resultado va a generarse la diferenciación de los osteoclastos a partir de los preosteoclastos lo que va a generar que se active el mecanismo de osteólisis en el hueso ya que esa es la función de los osteoclastos; paralelamente la osteoprotegerina va a ocupar los lugares de ligando por medio de un mecanismo competitivo o de receptor señuelo lo que va a evitar que se forme el complejo ligando receptor impidiendo de esta forma a la diferenciación de los osteoclastos y por consiguiente la reabsorción de hueso. La importancia de conocer este sistema radica en que alteraciones en alguno de los componentes va a generar un desarreglo en el equilibrio del remodelado óseo. (87)

Ahora extrapolando todo lo que anteriormente se ha tratado a materia de la enfermedad periodontal es necesario recordar qué está se produce a consecuencia de un cuadro inflamatorio de naturaleza séptica, que se caracteriza porque no puede ser encapsulada por lo que se va a llevar a cabo una extensión desde el tejido blando hasta el hueso generando la lisis del último. (88)

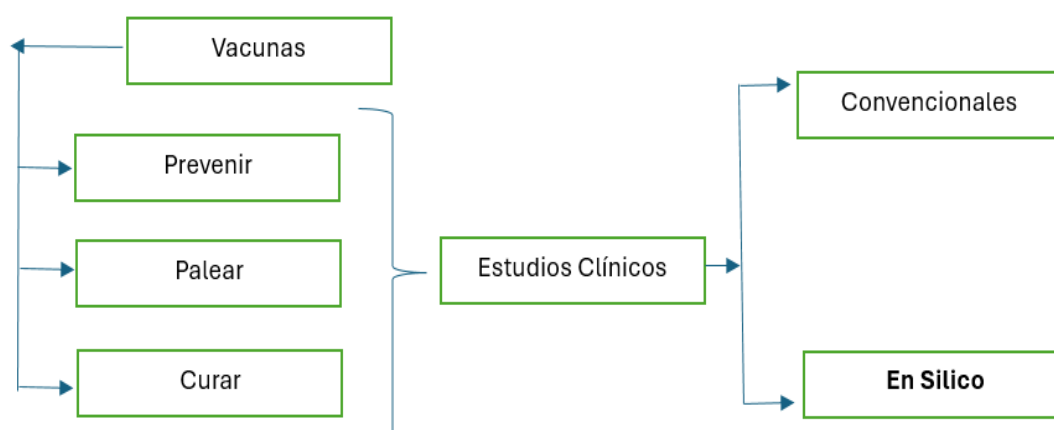
Es así que se establece la relación antagónica entre el complejo RANK/RANKL y OPG ya que la última va a bloquear el efecto de osteólisis o reabsorción ósea, en condiciones de inflamación vamos a encontrar una mayor cantidad de el complejo RANK/RANKL y en menor proporción encontraremos OPG; asimismo en condiciones donde hay ausencia de inflamación vamos a poder encontrar una mayor cantidad de OPG en relación a la cantidad del complejo RANK/RANKL. (89)

Haciendo una revisión bibliográfica vamos a poder percatarnos de que el receptor RANK va a estar presente principalmente en los osteoclastos, pero también va a estar presente en células de la médula, el vaso, el intestino y los linfocitos TCD4. Así mismo bajo el mismo criterio vamos a encontrar que el ligando RANKL va a tener funciones aparte la de llevar a cabo el proceso de diferenciación de los preosteoclastos manteniendo el endotelio, así como también a las células dendríticas y por último va a reforzar la acción de los linfocitos T. En otros estudios se pudo determinar que el receptor RANK va a tener una mayor cantidad en comparación al OPG en las bolsas periodontales, por otra parte el ligando RANKL de los osteocitos solo se va a expresar en el remodelado óseo fisiológico, por otra parte el receptor RANK va a expresarse en la membrana de los linfocitos T y los

linfocitos B lo que va a favorecer la reabsorción ósea y de la misma forma esta cantidad va a aumentar cuando tanto los linfocitos T van a verse expuestos a bacterias que conforman el complejo rojo de Socransky y finalmente vamos a poder evidenciar que hay estudios que muestran que los receptores de complejo RANK no solo se van a expresar in situ, es decir en el sitio de la inflamación sino que también se van a expresar en mayor cantidad en los tejidos vecinos. (90)

3.1.9. Vacunas:

Imagen 18
Estudio de vacunas



Para poder hablar de manera general de las vacunas tendremos que tomar en cuenta los criterios determinados por la Organización Mundial de la Salud para poder definir que es una vacuna, y se entiende por la misma que va a hacer una preparación que va a tener como finalidad la de poder generar inmunidad contra una enfermedad. (91)

De esta forma podemos inferir que las vacunas van a tener como principal propósito el de poder prevenir determinadas enfermedades que puedan generar un daño en la integridad de la persona que puede traducirse en una discapacidad, de cualquier índole y en el peor de los casos la muerte.

Desde un punto de vista histórico podemos encontrar los antecedentes de las vacunas en China por ejemplo, donde si bien no se logró obtener una sustancia que pueda ser inoculada al paciente, si se logró un mecanismo para poder crear una sustancia que pueda evitar la enfermedad coma y utilizándose una técnica denominada variolacion que consistía en pulverizar las costras de personas que mostraba la enfermedad de manera

leve y posteriormente hacer qué personas sanas las aspiren; de esta manera logrando la inmunidad de las personas sanas que insuflaron dicha sustancia. (92)

Más adelante nos encontramos con lo que se denomina la era de las vacunas la que inicia con el médico Jenner, que inoculó el fluido de las postulas de la viruela bovina en niños con el objetivo de poder generar inmunidad, esto debido a que notó que las personas que tenían como actividad la de ordeñar a dichos animales presentaban inmunidad frente a la enfermedad antes mencionada. (93)

En el siglo XIX Luis Pasteur desarrollo la segunda generación de vacunas que van a combatir enfermedades como el cólera coma y la rabia entre otras, dicho proceso sigue aún hasta nuestros días. (93)

Es así que podemos recalcar la importancia de las vacunas en este mundo actual dado que la forma de vida, las actividades humanas, las ideologías y otros factores determinan que existan cambios importantes en la biodiversidad, cambios climáticos y la aparición de fenómenos que generan un ambiente cada vez más hostil para la vida humana lo que se traduce en la aparición de enfermedades con un potencial de poder convertirse en una pandemia, tal y como lo que ocurrió con la crisis sanitaria del COVID-19 hace algunos años. (94)

Existen varios tipos de vacunas dentro de los cuales vamos a poder considerar a los siguientes:

- **Vacunas vivas atenuadas:**

En esta modalidad de vacuna vamos a poder comprender que el principio utilizado va a ser el de utilizar a los gérmenes que van a causar la enfermedad para poder elaborar las mismas sin embargo estos gérmenes se van a encontrar debilitados o atenuados de tal forma que van a generar una respuesta inmunitaria fuerte coma que va a ser de larga duración, es el caso por ejemplo de la vacuna contra enfermedades como la rubeola, paperas entre otras. (95)

- **Vacunas inactivas:**

En este caso estaremos haciendo referencia a un tipo de vacuna que va a utilizar como principio activo a un germen muerto en su elaboración, de tal forma que vamos a poder ver que la respuesta inmune que se va a generar va a ser una respuesta

relativamente fuerte que va a requerir de varias dosis para poder tener el efecto deseado, en este caso estaríamos hablando de las vacunas contra enfermedades como la polio coma a la rabia entre otros. (96)

- **Vacunas de subunidades:**

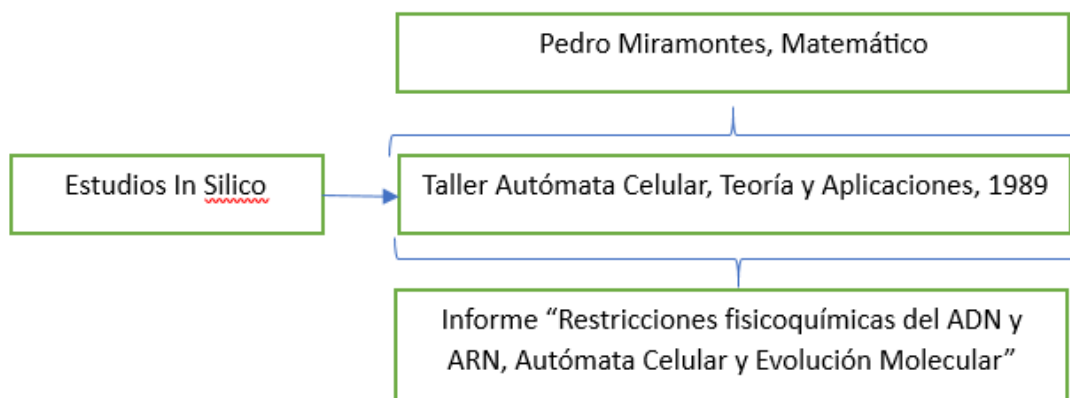
Para poder hablar de las vacunas de subunidades es necesario recordar que los patógenos van a tener una de estructura definida, y cada uno de los componentes de dicha estructura va a tener una función siendo que varios de ellos se constituirán en factores de virulencia. De esta forma podemos señalar que para poder llevar a cabo la realización de este tipo de vacunas se van a utilizar partes específicas del patógeno como por ejemplo podrían ser las proteínas o podríamos hablar de los polisacáridos entre otros, lo que va a generar que se produzca una respuesta inmune que va a requerir de refuerzos continuos como es el caso de la hepatitis B, la tosferina entre otras. (97)

- **Vacunas con toxoides:**

En este tipo de vacunas vamos a poder hablar de una en la que los patógenos que causan la enfermedad no van a ser el principio activo como tal sino más bien que los principios activos van a ser las toxinas liberadas es el caso; por ejemplo, de vacunas contra el tétanos entre otros. (98)

3.1.10. Pruebas in silico:

Imagen 19
Estudios in Silico



Hablar de las pruebas in silico es hablar de un tipo de estudio clínico cuyo objetivo va a

ser reducir las pruebas coma y reducir los costos y también reducir el tiempo y el número de participantes en los estudios coma lo que indirectamente va a generar que se obtenga un medicamento mucho más personalizado. (99)

Entonces podemos definir estos estudios in Silico como el método por el cual se va a llevar a cabo el uso de computadoras para poder modelar simular y visualizar procesos biológicos, así como el efecto de los productos biomédicos en la prevención diagnóstico y tratamiento y posteriormente el pronóstico de las enfermedades. (100)

La utilización de este tipo de estudios clínicos se ha venido realizando en los últimos años, pero a raíz de la pandemia del COVID-19 así como también del impulso en la utilización de la inteligencia artificial es que el empleo de este tipo de estudio clínico se masificó al poder evidenciar las grandes ventajas que ofrecía en relación a estudios clínicos tradicionales como son los mencionados anteriormente líneas de arriba. El gran apoyo que ofrecen bases de investigación en cuanto a lo que es la estructura de los patógenos va a permitir poder llevar a cabo la simulación de interacción de variables que van a servirnos para poder hacer por otro tipo de medicamentos y de vacunas con el objetivo de cumplir con la finalidad de las mismas que es la de prevenir las enfermedades. (101)

En la actualidad se van a utilizar técnicas como es el uso de modelos generativos qué van a hacer recreaciones digitales de un individuo o de una determinada población qué va a hacer el objeto de prueba de los estudios realizados como por ejemplo vendría a ser el humano digital que es utilizado por la Unión Europea para poder llevar a cabo las pruebas de los estudios realizados a un nivel epidemiológico, genético entre otros. (102)

3.2. Antecedentes investigativos

- **Porphyromonas gingivalis Vaccine: Antigens and Mucosal Adjuvants**

Abstract

Porphyromonas gingivalis (Pg), a Gram-negative anaerobic bacterium found in dental plaque biofilm within periodontal pockets, is the primary pathogenic microorganism responsible for chronic periodontitis. Infection by Pg significantly impacts the development and progression of various diseases, underscoring the importance of eliminating this bacterium for effective clinical treatment. While antibiotics are commonly used to combat Pg, the rise of antibiotic resistance poses

a challenge to complete eradication. Thus, the prevention of Pg infection is paramount. Research suggests that surface antigens of Pg, such as fimbriae, outer membrane proteins, and gingipains, can potentially be utilized as vaccine antigens to trigger protective immune responses. This article overviews these antigens, discusses advancements in mucosal adjuvants (including immunostimulant adjuvants and vaccine-delivery adjuvants), and their application in Pg vaccine development. Furthermore, the review examines the advantages and disadvantages of different immune pathways and common routes of Pg vaccine immunization. By summarizing the current landscape of Pg vaccines, addressing existing challenges, and highlighting the potential of mucosal vaccines, this review offers new insights for the advancement and clinical implementation of Pg vaccines. (103)

- DOI: 10.3389/fimmu.2022.806825
- PMID: 35250977

- **Computational Design of a Multi-Epitope Vaccine Against *Porphyromonas gingivalis***

Abstract

Porphyromonas gingivalis is a Gram-negative pathogenic bacterium associated with chronic periodontitis. The development of a chimeric peptide-based vaccine targeting this pathogen could be highly beneficial in preventing oral bone loss as well as other severe gum diseases. We applied a computational framework to design a multi-epitope-based vaccine candidate against *P. gingivalis*. The vaccine comprises epitopes from subunit proteins prioritized from the *P. gingivalis* reference strain (*P. gingivalis* ATCC 33277) using several reported vaccine properties. Protein-based subunit vaccines were prioritized through genomics techniques. Epitope prediction was performed using immunoinformatic servers and tools. Molecular modeling approaches were used to build a putative three-dimensional structure of the vaccine to understand its interactions with host immune cells through biophysical techniques such as molecular docking simulation studies and binding free energy methods. Genome subtraction identified 18 vaccine targets: six outer-membrane, nine cytoplasmic membrane-, one periplasmic, and two extracellular proteins. These proteins passed different vaccine checks required for the successful development of a vaccine candidate.

The shortlisted proteins were subjected to immunoinformatic analysis to map B-cell derived T-cell epitopes, and antigenic, water-soluble, non-toxic, and good binders of DRB1*0101 were selected. The epitopes were then modeled into a multi-epitope peptide vaccine construct (linked epitopes plus adjuvant) to enhance immunogenicity and effectively engage both innate and adaptive immunity. Further, the molecular docking approach was used to determine the binding conformation of the vaccine to TLR2 innate immune receptor. Molecular dynamics simulations and binding free energy calculations of the vaccine-TLR2 complex were performed to highlight key intermolecular binding energies. Findings of this study will be useful for vaccine developers to design an effective vaccine for chronic periodontitis pathogens, specifically *P. gingivalis*. (103)

- PMID: 35250977
- DOI: 10.3389/fimmu.2022.806825

- **Potential *Treponema denticola*-based periodontal vaccine to resolve a global public health challenge: a narrative literature review**

Abstract

Introduction: Periodontitis is a diseased condition of the gum which imposes considerable costs on healthcare systems. It progresses further beyond the inflammation of supportive tissues of the teeth, and the collateral damages are closely associated with Alzheimer's disease, cardiovascular disease, and diabetes mellitus.

Areas covered: A comprehensive literature review was performed to summarize published studies in English during the period of 1990-2021 to discuss the rationales for developing periodontal vaccine, cost-effectiveness analyses on the prevention of periodontitis, *Treponema denticola*-based vaccine candidates, as well as immunological mechanisms in animal models.

Expert opinion: Preventive strategies against periodontitis may halt the onset of gum inflammation and the consequent chronic diseases. Considering the multi-microbial condition of periodontitis, an ideal periodontal vaccine should target multiple pathological pathways. Preventive approaches compared to surgical treatments evidently have significant impact on the healthcare budget and long-term health of the individuals in different communities. Despite many advances in periodontal vaccine research, there are still significant hurdles to overcome in

developing a vaccine. Investment in research and development activities on key periodontal pathogens including *Treponema denticola* and *Porphyromonas gingivalis* in the foreseeable future is a worthy and cost-effective approach for the policymakers to prevent deleterious impacts of periodontitis. (104)

- PMID: 35195497
- DOI: 10.1080/14760584.2022.2044798

- **Una vacuna conjugada en cápsula de *Porphyromonas gingivalis* protege de la pérdida ósea oral experimental**

Abstracto

Las enfermedades periodontales son enfermedades inflamatorias crónicas del periodonto que resultan en la destrucción progresiva de los tejidos blandos y duros que sostienen los dientes, y es la causa más común de pérdida de dientes entre los adultos. Sólo en Estados Unidos, se estima que más de 100 millones de personas padecen enfermedad periodontal. Las bacterias subgingivales inician y mantienen la inflamación y, aunque varias bacterias se han asociado con la periodontitis, *Porphyromonas gingivalis* ha surgido como el organismo etiológico clave que contribuye significativamente a la enfermedad. Actualmente, se implementan estrategias intensivas de mantenimiento clínico para mitigar la progresión adicional de la enfermedad en los individuos afectados; sin embargo, estos tratamientos a menudo no logran detener la progresión de la enfermedad y, como tal, el desarrollo de una vacuna eficaz para la enfermedad periodontal es muy deseable. Generamos una vacuna conjugada, compuesta por el polisacárido capsular purificado de *P. gingivalis* conjugado con eCRM®, una versión patentada y mejorada de la proteína transportadora CRM197 con sitios de conjugación predeterminados (Pg-CV). Los ratones inmunizados con Pg-CV adyuvado con alumbre desarrollaron niveles séricos sólidos de IgG específica de todo el organismo en comparación con los animales inmunizados solo con polisacárido capsular no conjugado. Utilizando el modelo murino de pérdida ósea oral, observamos que los ratones inmunizados con la vacuna conjugada en cápsula estaban significativamente protegidos de los efectos de la pérdida ósea oral provocada por *P. gingivalis*. Empleando un modelo preclínico de pérdida ósea oral provocada por infección, nuestros datos respaldan que una vacuna conjugada que incorpora antígeno polisacárido capsular es eficaz para reducir el principal criterio

de valoración clínico de la enfermedad periodontal: la destrucción ósea oral. Se apoya el desarrollo futuro de una vacuna conjugada basada en cápsulas de *P. gingivalis* para prevenir las enfermedades periodontales. (105)

- PMID: 35048031
- DOI: 10.3389/froh.2021.686402

- **Estudio de vacuna intranasal utilizando vesículas de membrana de *Porphyromonas gingivalis*: método de aislamiento y aplicación a un modelo de ratón**

Abstracto

Las bacterias liberan nanocuerpos esféricos, conocidos como vesículas de membrana (MV), durante varias fases de crecimiento. Los MV han ido ganando reconocimiento como vehículos estructuralmente estables en las últimas dos décadas porque suministran una amplia gama de antígenos, factores de virulencia e inmunomoduladores al huésped. Estas funciones sugieren no sólo la posible contribución de las MV a la patogenicidad sino también la posible aplicabilidad de las MV en dosis bajas para su uso como vacunas. Aquí, describimos una serie de métodos para aislar MV de *Porphyromonas gingivalis*, que es una especie importante entre las bacterias periodontopáticas. El presente capítulo también presenta un modelo de ratón de inmunización intranasal utilizando MV de *P. gingivalis*. (106)

- PMID: 32815136
- DOI: 10.1007/978-1-0716-0939-2_15

- **Vacuna de ADN funcionalizada/diseñada por *rgpA* como una nueva vacunación profiláctica para prevenir la periodontitis inducida por *Porphyromonas gingivalis*: un estudio in vivo**

Abstracto

Antecedentes: Arg-gingipain A (*rgpA*) y Arg-gingipain B (*rgpB*) son factores de virulencia cruciales asociados con *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*) y han sido reconocidos como objetivos prometedores para vacunas antibacterianas. Aunque las vacunas que contienen *rgpA* han demostrado eficacia, la incorporación de *rgpB*, que carece del dominio hemaglutinina adhesina (HA), disminuye la eficacia de la vacuna. Este estudio tiene como objetivo evaluar la

inmunogenicidad del dominio HA funcional de rgpA en modelos de periodontitis de ratón.

Métodos: Un total de 24 ratones se dividieron aleatoriamente en cuatro grupos, cada uno de los cuales recibió diferentes inyecciones inmunes: el grupo A recibió solución salina tamponada con fosfato (PBS) como control vacío; el grupo B recibió pVAX1 como control negativo (NC); el grupo C recibió pVAX1-HA; y el grupo D recibió pVAX1-rgpA. Los ratones fueron sometidos a inyecciones intramusculares cada dos semanas durante un total de tres administraciones. Antes de cada inmunización, se recogieron muestras de sangre para la detección de anticuerpos bajo anestesia con isoflurano. Después de la inmunización final, se indujo periodontitis dos semanas después mediante el uso de suturas empapadas en una solución de *P. gingivalis*. Los ratones fueron sacrificados después de un período adicional de dos semanas. Para evaluar la seguridad del procedimiento, se examinaron los órganos principales mediante tinción con hematoxilina-eosina (HE). Posteriormente, se cuantificaron los niveles de IgG, IgG1 e IgG2a en el suero mediante un ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA). Además, se determinó la expresión de factores inflamatorios en la encía, incluida la interleucina-6 (IL-6), la interleucina-1 β (IL-1 β) y el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), utilizando una transcripción inversa cuantitativa en tiempo real. PCR (qRT-PCR). El grado de pérdida ósea en los tejidos periodontales se evaluó mediante tomografía microcomputarizada (micro-CT) y tinción HE.

Resultados: La tinción HE de los órganos confirmó la ausencia de toxicidad inducida por la vacuna in vivo. Después de la segunda inmunización, tanto el grupo rgpA como el HA mostraron títulos de IgG específicos significativamente más altos en comparación con los grupos NC y PBS ($p < 0,05$). Además, los grupos rgpA y HA mostraron un predominio notable de anticuerpos IgG1 después de tres dosis de inmunización, mientras que se observó una reducción notable en los niveles de IgG2a después de la ligadura con suturas de *P. gingivalis*, a diferencia de los grupos NC y PBS ($p < 0,05$). . Además, tanto el grupo HA como el grupo rgpA mostraron una disminución significativa en la expresión de factores inflamatorios como IL-6, IL-1 β y TNF- α , así como una reducción en la pérdida ósea alrededor de los dientes afectados por periodontitis, en comparación con los grupos NC y PBS ($p < 0,05$).

Conclusiones: Los resultados de este estudio demuestran que la vacuna del gen

HA funcionalizada/diseñada con rgpA es capaz de provocar una potente respuesta inmune profiláctica contra la periodontitis inducida por *P. gingivalis*, sirviendo eficazmente como un agente inmunogénico y protector in vivo. (107)

- PMID: 38409840
- DOI: 10.24976/Discov.Med.202436181.33

4. HIPÓTESIS:

Dado que existen herramientas computacionales para el diseño in silico de candidatos a vacunas para los microorganismos emergentes,

- **Hipótesis nula:** es posible realizar el diseño de una vacuna multiepítopo para la periodontitis.
- **Hipótesis alternativa:** no es posible realizar el diseño de una vacuna multiepítopo para la periodontitis.





CAPÍTULO II: PLANTEAMIENTO OPERACIONAL

1. TÉCNICAS, INSTRUMENTOS Y MATERIALES DE INVESTIGACIÓN:

1.1. Técnica

En este estudio se diseñará un prototipo de vacuna multiepítopo contra periodontitis abarcando los periodontopatógenos establecidos y emergentes. Para este cometido se procederá a utilizar herramientas computacionales donde se obtendrán los epítomos con alta capacidad antigénica además de estudiar su toxicidad y acoplamiento a la molécula MHC-2. Seguidamente los epítomos más antigénicos serán unidos por linkers y adheridos a una molécula coadyuvante para luego ser presentados por algoritmos a moléculas inmunes para el reconocimiento por células inmunes.

1.2. Instrumentos

1.2.1. Documentales:

Ficha de tabulación.

1.2.2. Mecánicas

Ordenador tipo gamer.

1.3. Materiales:

- Software Pymol.
- Softwares libres de predicción.

2. CAMPO DE VERIFICACIÓN

2.1. Ubicación espacial:

Núcleo de Inmunoinformática de la UCSM.

2.2. Ubicación Temporal:

Mes de Julio a Setiembre.

2.3. Unidades de estudio:

Epítomos.

2.4. Procedimiento:

2.4.1. Herramienta básica de búsqueda de alineación local (BLAST)

Proteóma de los periodontopatógenos y sus respectivos factores de virulencia, serán estudiadas a nivel computacional el software DNASTAR Lasergene (Wisconsin, EE. UU.) Para proteínas similares. La alineación de la secuencia se realizó utilizando el servidor Clustal Omega con los parámetros predeterminados. (108)

2.4.2. Predicción de epítomos de células B, linfocitos T citotóxicos (CTL) y linfocitos T auxiliares (HTL)

Los epítomos de células B se predijeron utilizando el servidor BepiPred y el servidor Elliprot para examinar la posición del epítomo en una estructura 3D. Los epítomos HTL se predijeron utilizando las herramientas de predicción de unión de MHC II (<http://tools.iedb.org/mhcii>). Las propiedades antigénicas de los epítomos se estudiaron utilizando el servidor Vaxijen 2.0 a un umbral de 0,4. La toxicidad de los péptidos se predijo desde el servidor ToxinPred (<http://crdd.osdd.net/raghava/toxinpred/>), y la alergenidad se predijo desde el servidor AllegenFP 1.0 (<http://ddg-pharmfac.net/AllergenFP/>). Todos estos análisis se tuvieron en cuenta para seleccionar los epítomos. (109)

2.4.3. Análisis de proteínas hidrofóbicas y antigénicas

El análisis hidrofóbico y antigénico se realizó utilizando el algoritmo Kyte-Doolittle y Jameson-Wolf de proteína viral. Para determinar si el epítomo encontrado estaba ubicado en la superficie externa de la proteína donde ocurre la formación de antígeno-anticuerpo, se realizó una superposición de los epítomos predichos y los resultados del análisis hidrófobo y antigénico. Para este método se utilizó el programa DNASTAR Protean (Wisconsin, EE. UU.). (110)

2.4.4. Modelado de proteínas y acoplamiento molecular

El modelado tridimensional de los epítomos seleccionados se modeló con el servidor PEPFOLD 3. El acoplamiento molecular de los péptidos se realizó utilizando el servidor CABS-dock (<http://212.87.3.12/CABSdock/>) para el alelo

HLA-DR52c de MHC clase II (PBD: 3C5J). El servidor HawKRank se utilizó para obtener puntos. (111)

2.4.5. Construcción in sílico de la vacuna multiepítopo

El modelado tridimensional del multiepítopo se realizó utilizando el servidor en línea I-TASSER (<https://zhanglab.ccmb.med.umich.edu/I-TASSER/>), mientras que el Z-score se utilizó para verificar la calidad del Modelado de proteínas 3D para seleccionar el mejor modelo. Los epítomos en cuestión fueron unidos entre sí usando el link EAAAK y el conjunto fue unido a la coadyuvante beta actina (GIINTLQKYYCRVRGGRCVLSCLPKKEEQIGKCSTRGRKCCRRKK). (112)

2.4.6. Predicción del acoplamiento de la vacuna multiepítopo a receptores TLR2, TLR4 y B

Una vez diseñada la vacuna, esta será sometida a métodos predictivos de unión con receptores como TLR2 (PDB ID: 2Z7X), TLR4 (PDB ID: 4G8A) y receptor de células B (BCR) (PDB ID: 3KG5). Este paso se usará el servidor HAADOCK (113).

3. ESTRATEGIA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

3.1. Recursos

a. Recursos económicos

Propios de investigador.

b. Recursos humanos

- Investigador: Bachiller Ronald Mendoza.
- Asesor: Dr. Gustavo Obando Pereda.

c. Recursos físicos

Núcleo de Inmunoinformática.

d. Recursos Institucionales:

Laboratorio de Química de Proteínas-VRI, UCSM.

3.2. Estrategias de recolección de datos

3.2.1. Preparación de las unidades de estudio

Al ser un experimento in sílico, se usará el proteóma los periodontopatógenos y epítomos escogidos.

3.2.2. Estrategias para obtener resultados

a. Nivel de sistematización:

Hojas de tabulación con los epítomos analizados.

b. Estudio de los datos:

Se realizarán por medio de herramientas computacionales descritas en la metodología.

c. Cronograma:

Mes	Actividad
Junio	Planificación
Agosto	Obtención de epítomos
Septiembre	Análisis computacional
Octubre	Culminación de tesis
Noviembre	Sustentación de tesis

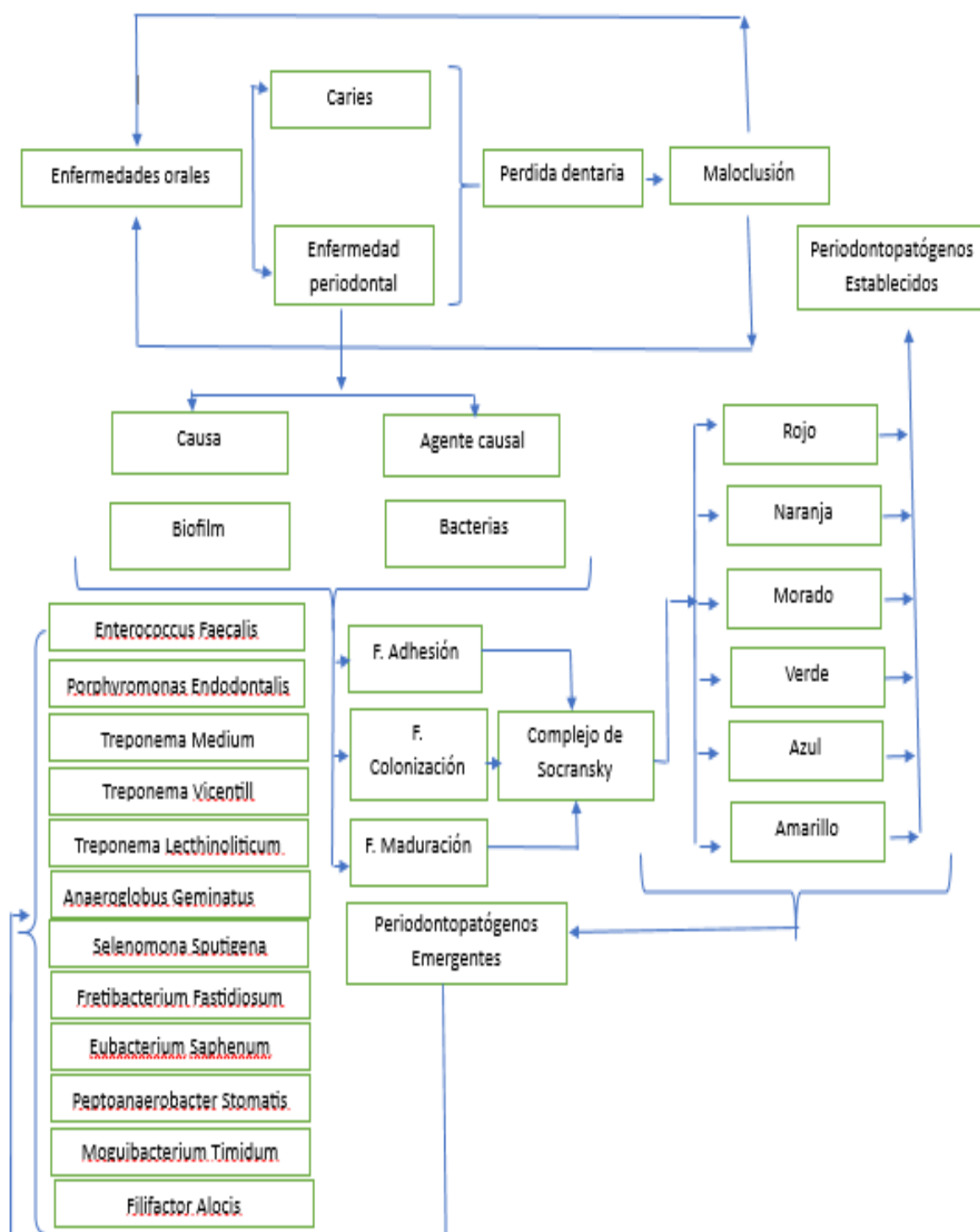


CAPÍTULO III: RESULTADOS

1. RESULTADOS

1.1 Justificación

Imagen 20
Determinación de los periodontopatógenos



1.1.1 Factores de virulencia de Periodontopatógenos establecidos y emergentes

Imagen 21
Factores de virulencia de Anaeroglobus geminatus

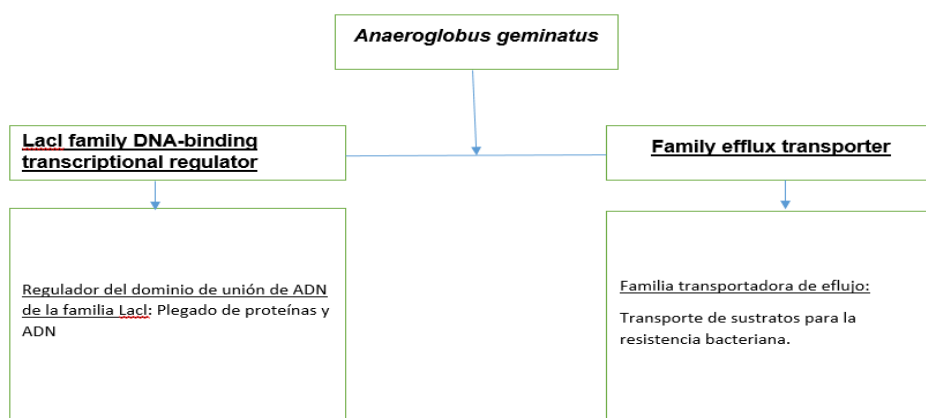


Imagen 22
Factores de virulencia de Enterococcus faecalis

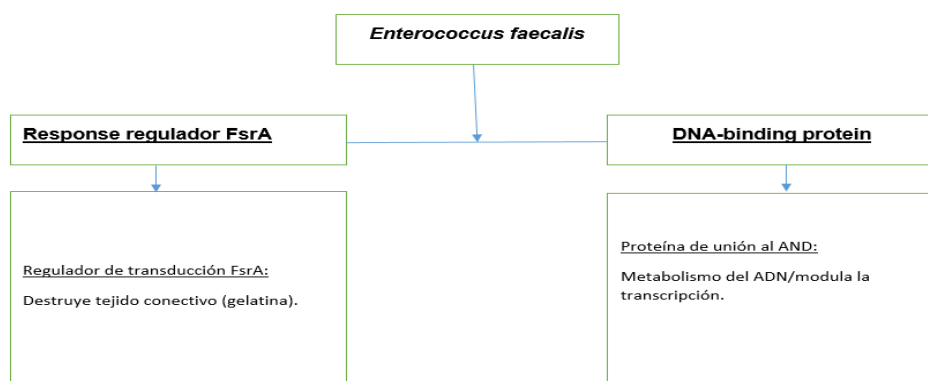


Imagen 23
Factores de virulencia de Eubacterium saphenum

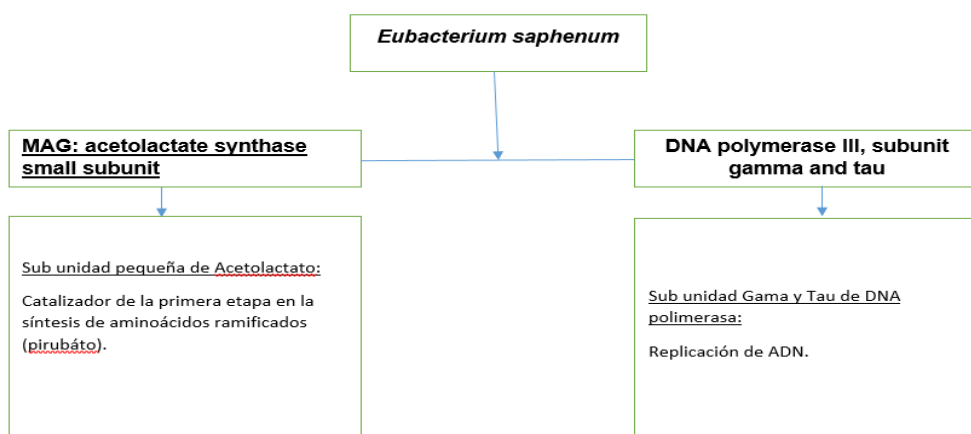


Imagen 24
*Factores de virulencia de *Filifactor alocis**

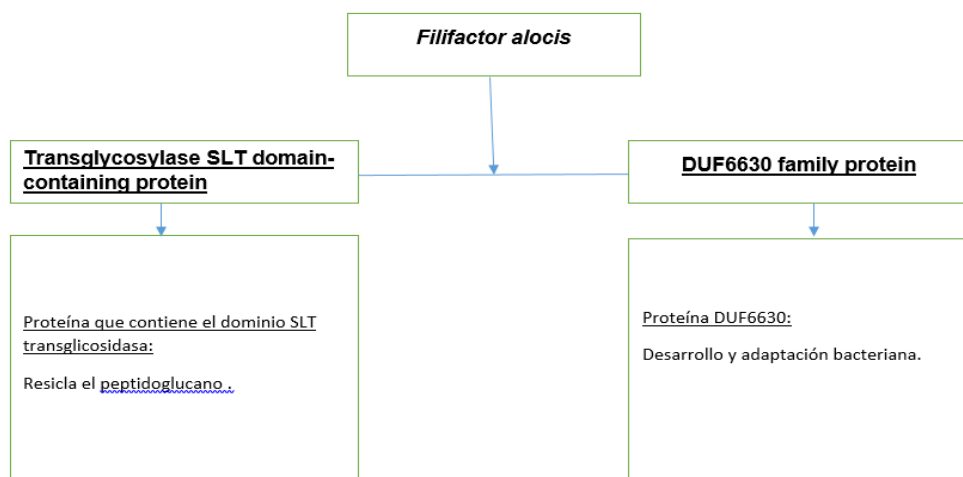


Imagen 25
*Factores de virulencia de *Fretibacterium fastidiosum**

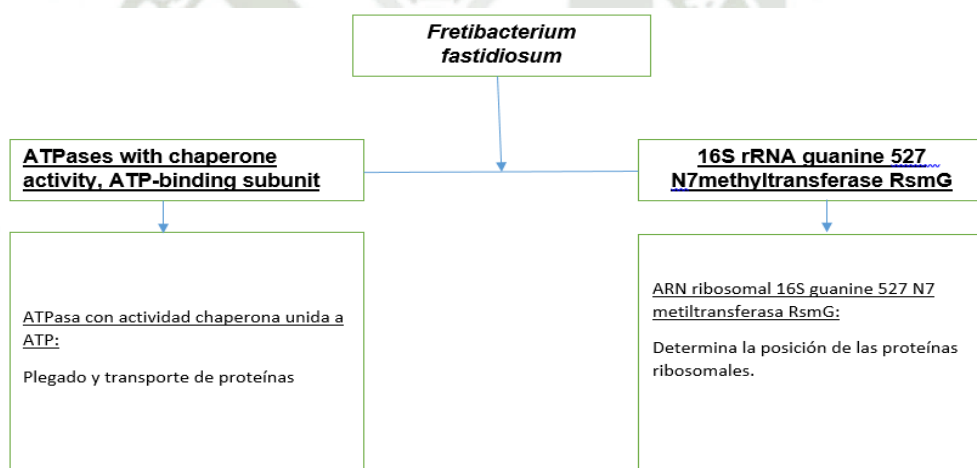


Imagen 26
*Factores de virulencia de *Mogibacterium timidum**

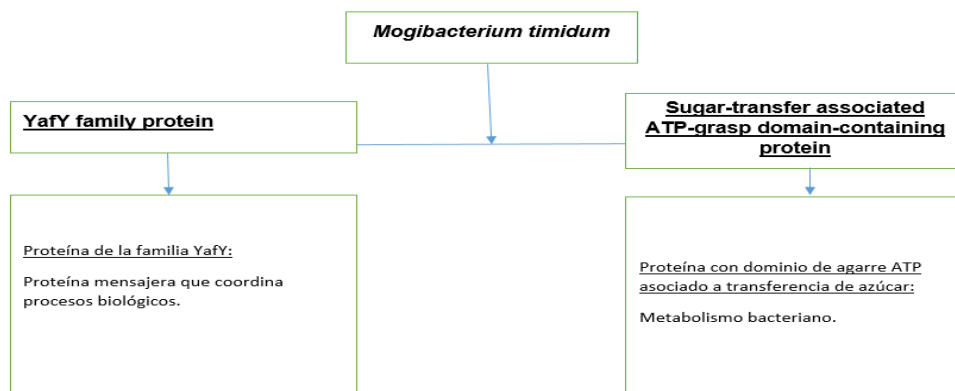


Imagen 27
*Factores de virulencia de *Peptoanaerobacter stomatis**

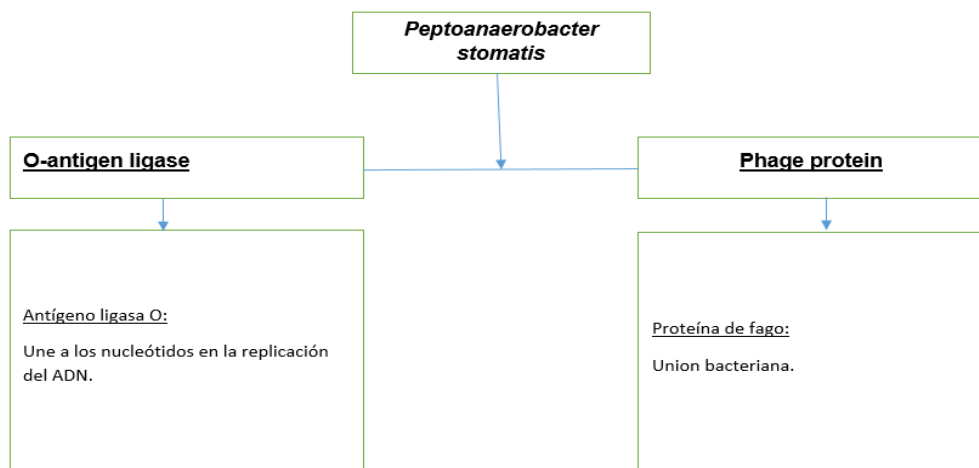


Imagen 28
*Factores de virulencia de *Porphyromonas gingivalis**

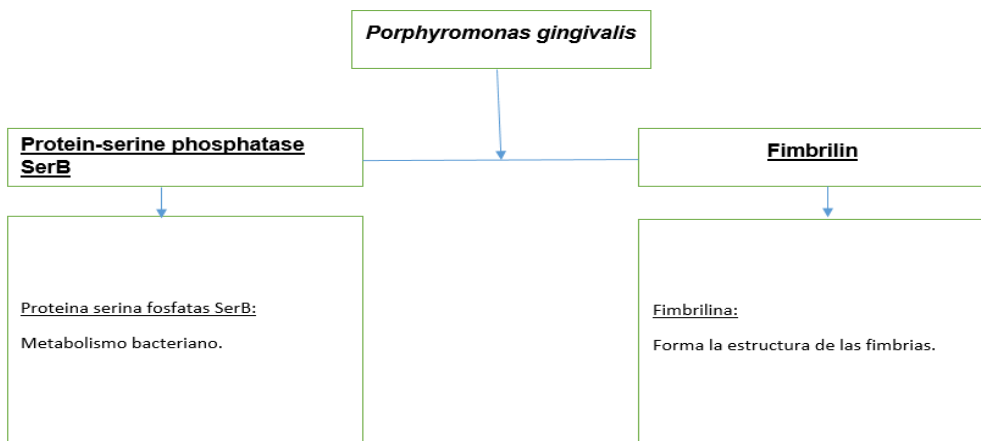


Imagen 29
*Factores de virulencia de *Porphyromonas endodontalis**

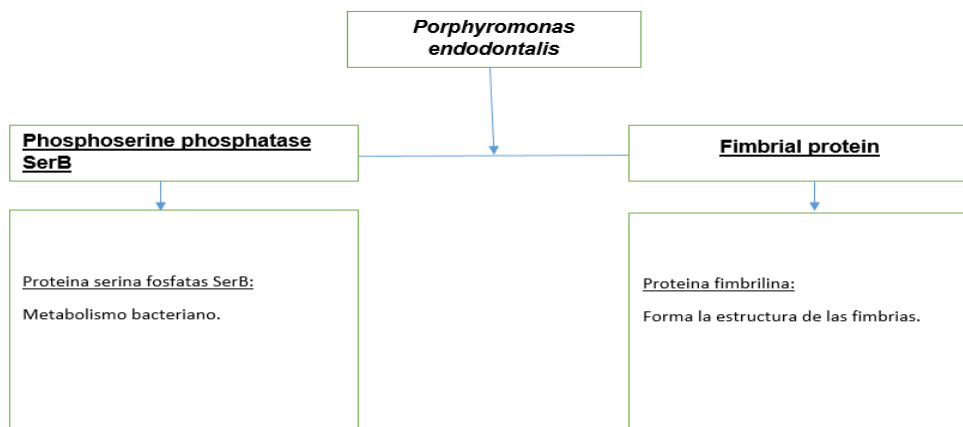


Imagen 30
Factores de virulencia de Selenomonas sputigena

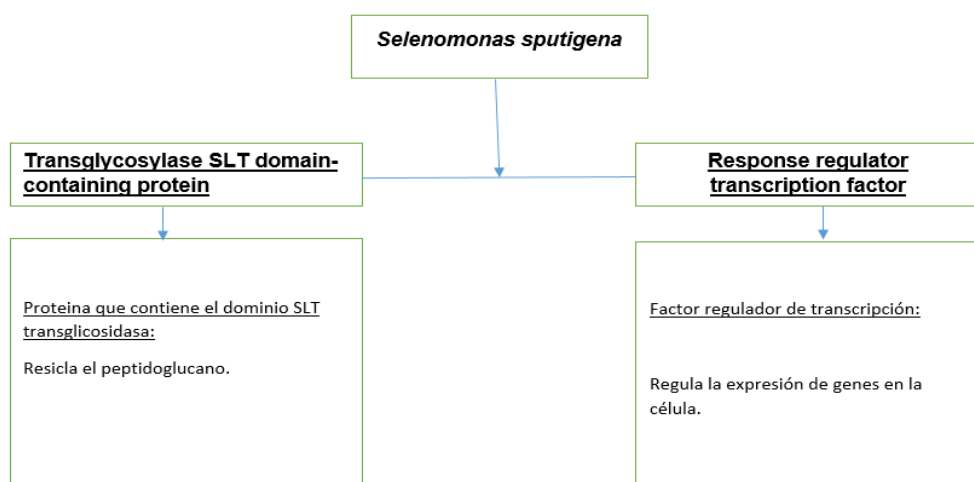


Imagen 31
Factores de virulencia de Tannerella forsythia

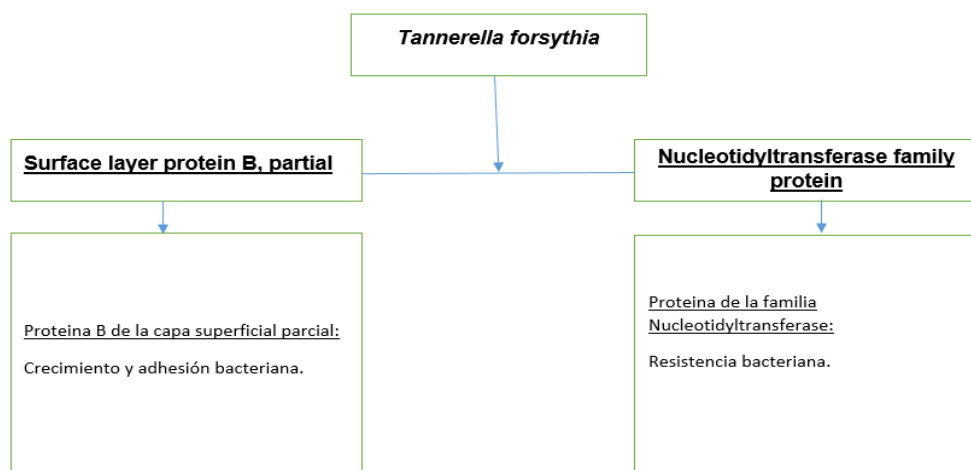


Imagen 32
Factores de virulencia de Treponema denticola

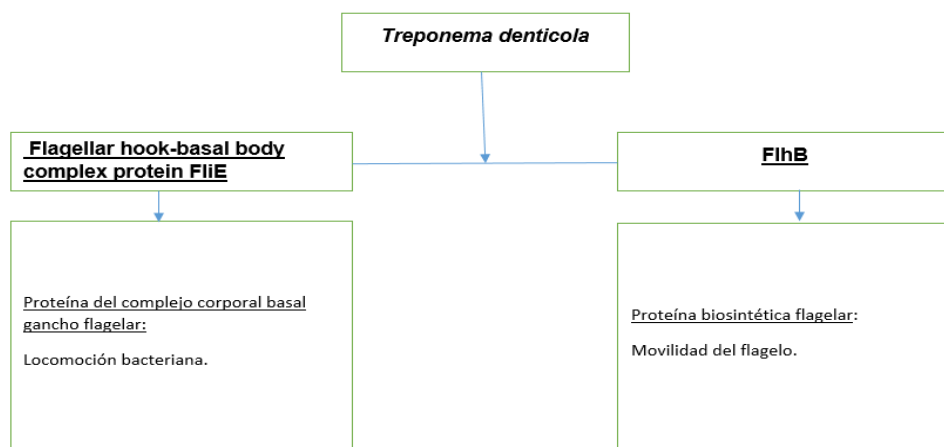


Imagen 33
*Factores de virulencia de *Treponema vincentii**

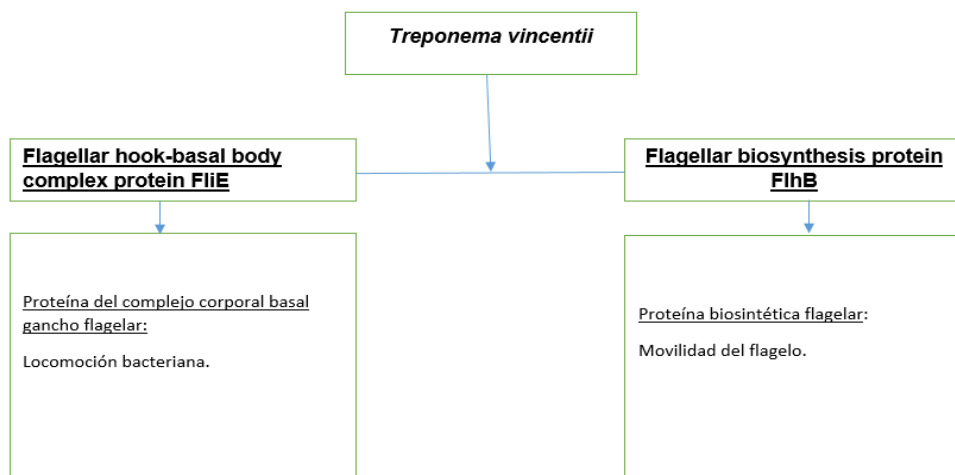


Imagen 34
*Factores de virulencia de *Treponema medium**

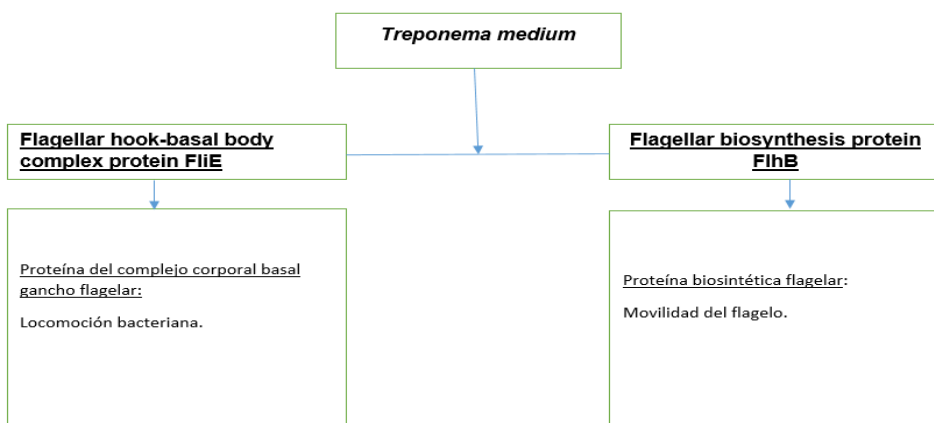
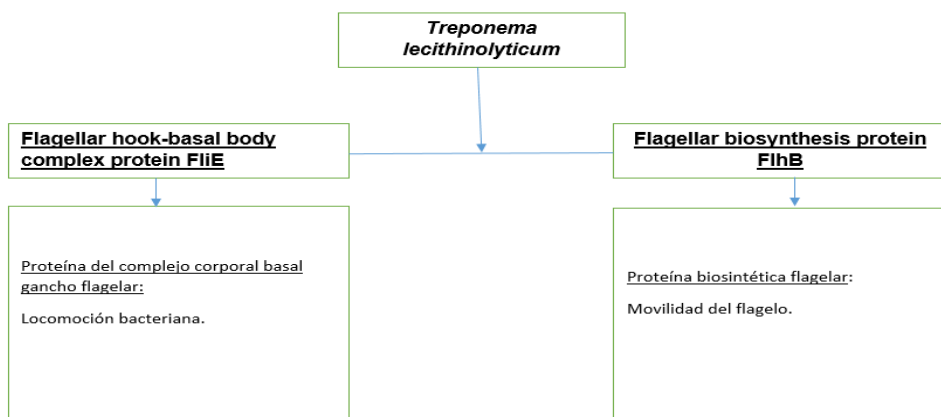


Imagen 35
*Factores de virulencia de *Treponema lecithinolyticum**



1.1.1.1 Procesamiento:

a. WP_245527176.1 LacI family DNA-binding transcriptional regulator [Anaeroglobus geminatus]

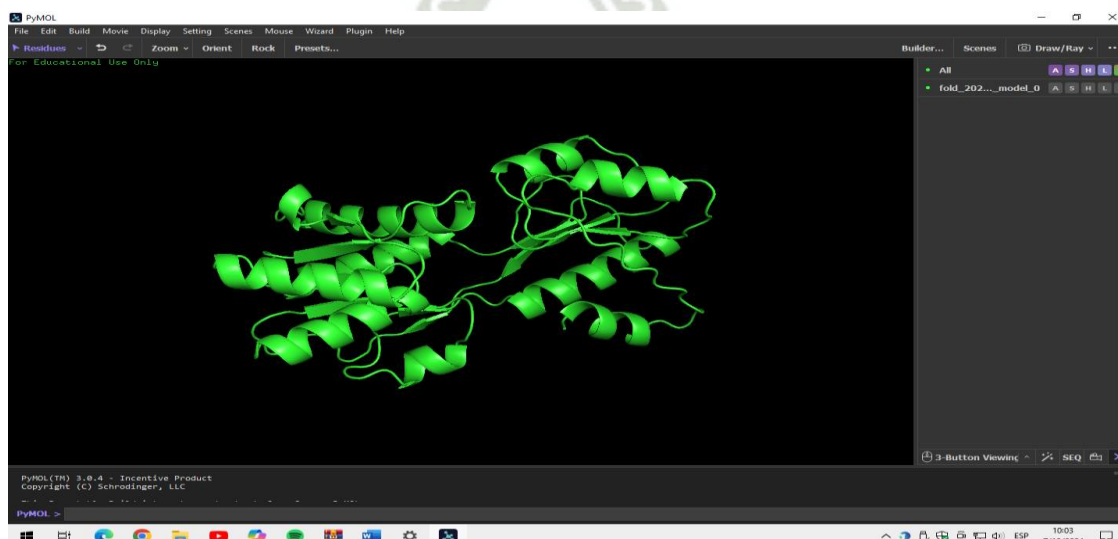
Para comenzar con el estudio de los epítomos, previamente se debe de entender la naturaleza del término, un epítomo es parte de un antígeno, entendiéndose por esta toda estructura ajena al organismo que tiene la posibilidad de desencadenar una respuesta inmune, este es diferente a un inmunógeno (que es lo que se obtuvo en el presente trabajo), un agente ajeno al organismo que siempre va a generar una respuesta inmune, al unirse con la región variable de un anticuerpo formando el paratopo.

El procedimiento implica obtener, en primer lugar, las estructuras proteínicas de los factores de virulencia del periodonto patógenos, los cuales se pudieron conseguir con una ardua y prolongada revisión bibliográfica en plataformas de investigación científica.

>WP_245527176.1 LacI family DNA-binding transcriptional regulator [Anaeroglobus geminatus]

MGLQREIMRQEKPVHLLTVVPYKVDELQKQLEREQNKFFNGIIANMSDKDMEY
LEKASFPCPVVLFNRTSDKYGCVTMDNYEIGRNVRHFIKKGCYHTGVLTHDT
SFPIMRMWMKGFLDVFAEAGHPAAEDIILCNTSSASAVEVCEDLYRRGKMPQ
ALFCESDVLAHGVLYACHNLGLIIPNDLEVFTIGITMPELNDFAIPSLSRIDIPMGL
IGEECMRLITALIEKKKTVPPTVIYIDGKKIIAQSSPEK
EKPVHLLTVVPY

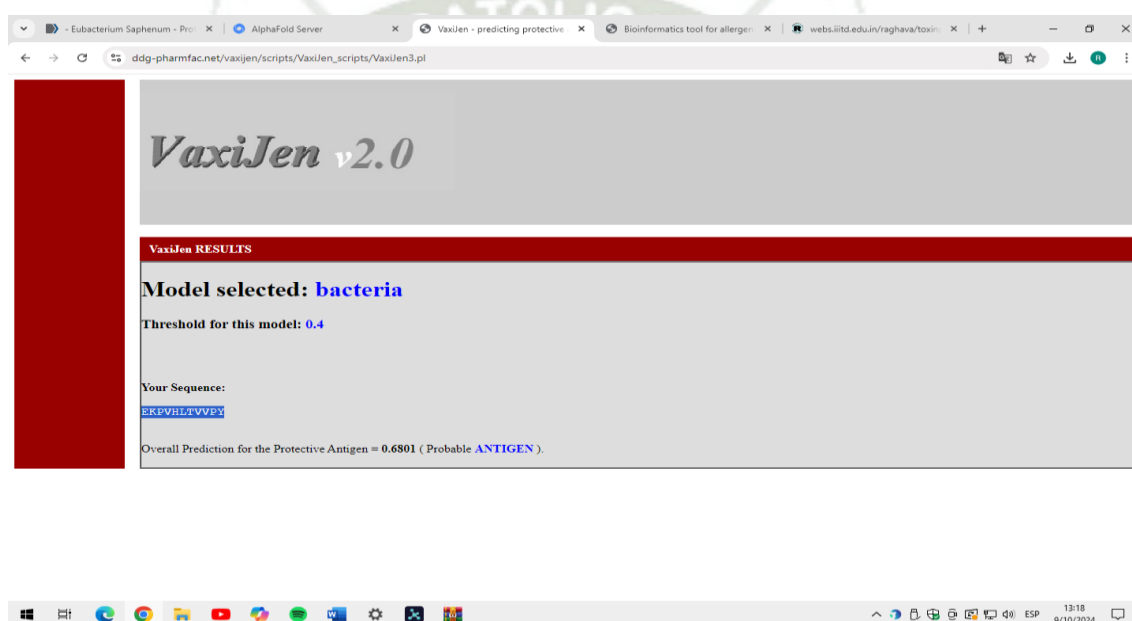
Imagen 36
Modelado 3D de LacI family DNA-binding transcriptional regulator



Posteriormente se procede a realizar el alineamiento de proteínas y encontrar estructuras comunes, de esta manera se logra obtener la secuencia de aminoácidos que constituyen el epítipo del factor de virulencia del periodontopatógenos.

Seguidamente, se procedió a llevar a cabo el testeo de dicho epítipo, en primer lugar, determinar si el mismo, realmente es un epítipo, y para ello se utilizó el servidor VAXIJEN, que por medio de un algoritmo contratado con los datos obtenidos arroja un resultado en el sentido de que si la secuencia de aminoácidos es o no es un antígeno.

Imagen 37
prueba de antigenicidad de EKPVHLTVVPY

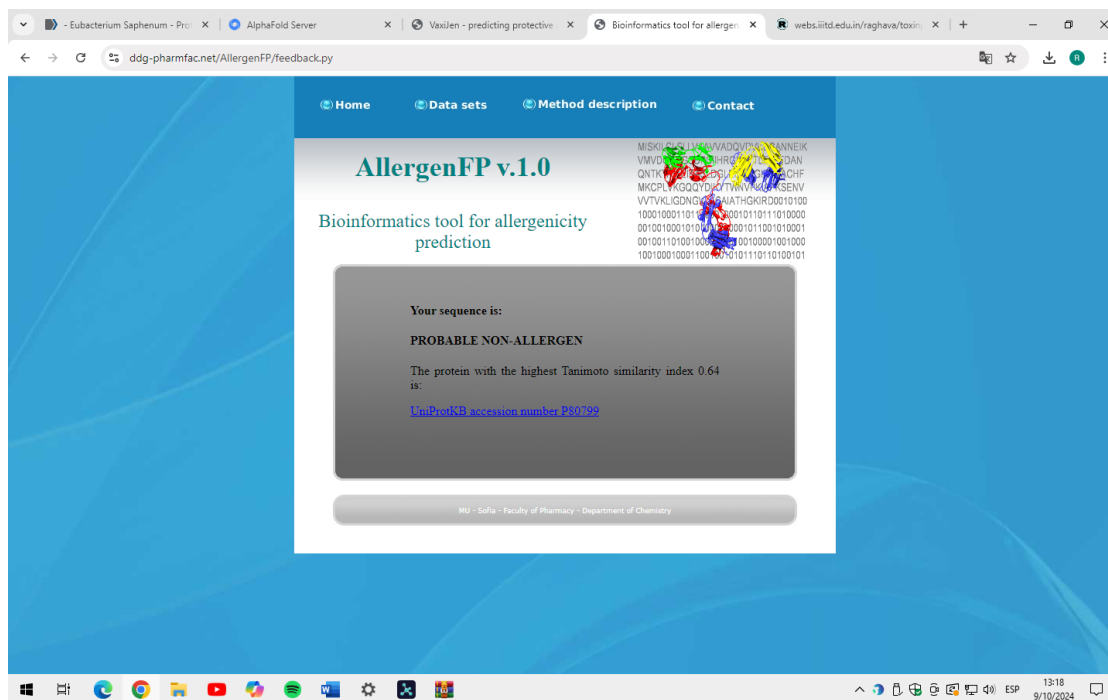


Cabe resaltar que, dichos antígenos, tienen como finalidad formar el complejo antígeno – anticuerpo, para lo cual tienen que unirse a este último, y para cumplir su función biológica deben tener afinidad por el complejo mayor de histocompatibilidad de tipo I (MHC I) o de tipo II (MHC II). En el primer caso, la unión a membrana del linfocito generara citotoxicidad, es decir, que la célula atacara y eliminara a aquellas que hayan sido infectadas o de alguna manera se hayan visto afectadas por un antígeno intracelular, por otro lado, en el segundo caso se producirá la unión a linfocitos Helper, lo que implica que la célula responderá frente a antígenos extracelulares.

El siguiente paso es llevar a cabo el testeo del posible epítipo, puesto que este debe cumplir con la particularidad de no tener potencial para generar reacciones alérgicas ni tampoco debe poder ser capaz de generar efectos tóxicos, dicho testeo se llevó a cabo en

el servidor AllergenFP y ToxinPred especialmente.

Imagen 38 Prueba de alergenicidad de EKPVHLTVVPY



AllergenFP v.1.0

Bioinformatics tool for allergenicity prediction

Your sequence is:

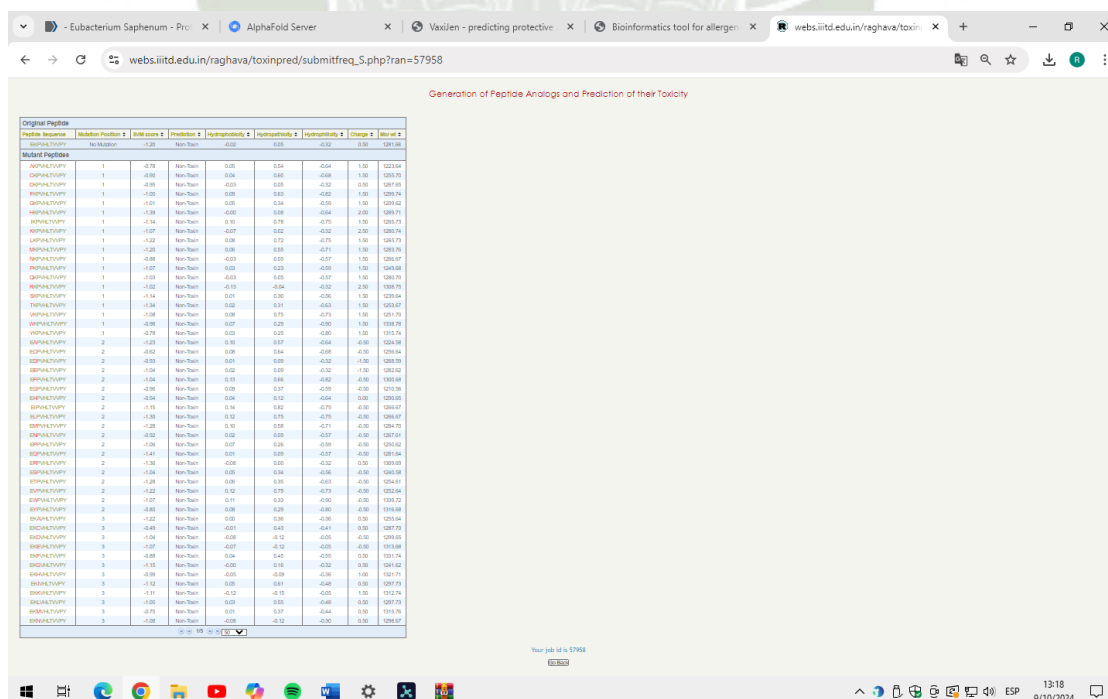
PROBABLE NON-ALLERGEN

The protein with the highest Tanimoto similarity index 0.64 is:

[UniProtKB accession number P80799](#)

MU - Sella - Faculty of Pharmacy - Department of Chemistry

Imagen 39 Prueba de toxicidad de EKPVHLTVVPY



ToxinPred

Bioinformatics tool for toxicity prediction

Your sequence is:

PROBABLE NON-TOXIC

The protein with the highest Tanimoto similarity index 0.64 is:

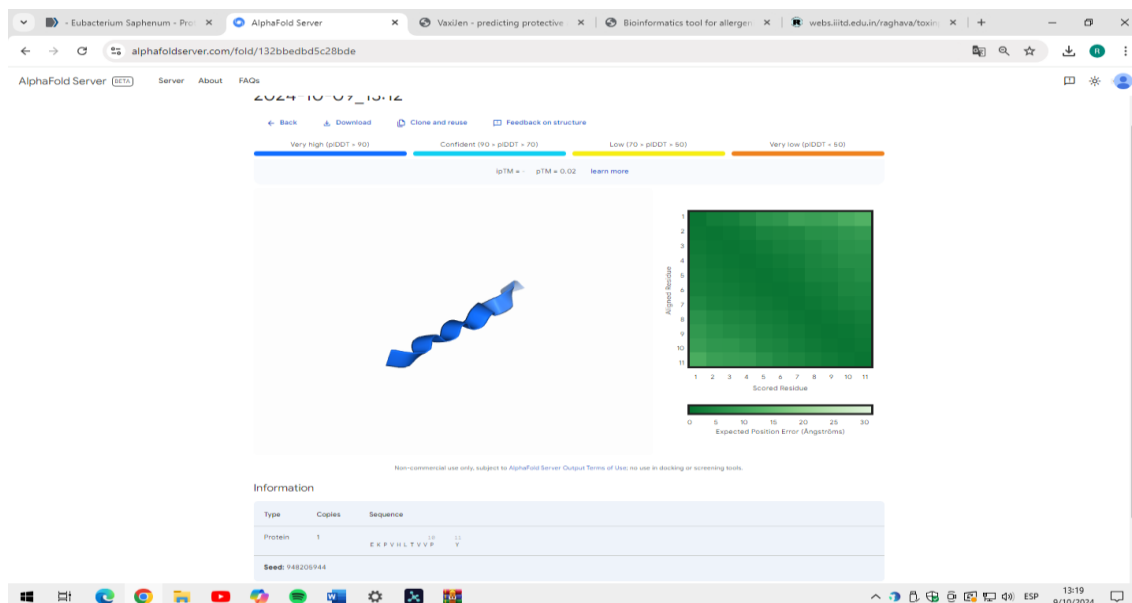
[UniProtKB accession number P80799](#)

MU - Sella - Faculty of Pharmacy - Department of Chemistry

Una vez completado el testeo y abiendo optenido un epitopo optimo, se procede a realizar el plegado de la estructura para lo cual se utilizo el algoritmo de AlphaFold Server, como

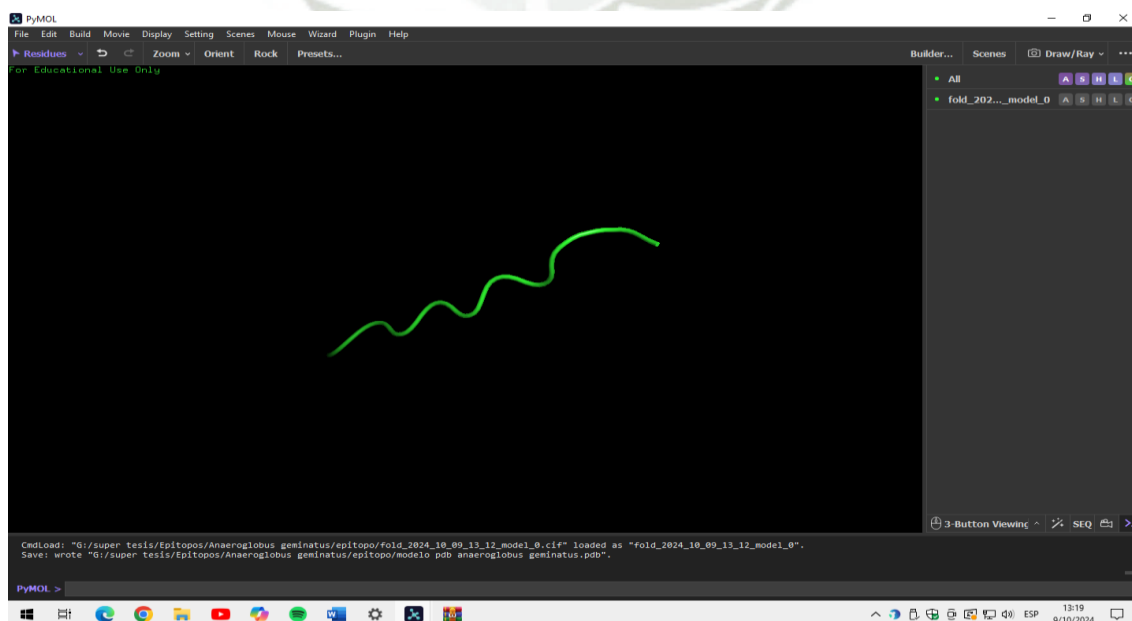
resultado se obtiene modelos 3d de la estructura en cuestion en formato CIF.

Imagen 40
Plegado de EKPVHLTVVPY



De los modelos proporcionados por AlphaFold Server, se elige el más óptimo, en relación a la estructura tridimensional, el mismo se procede a someterlo a un programa especializado en la generación de modelos 3D de estructuras proteínicas. El software PyMOL; este convierte el archivo CIF antes mencionado en un archivo de tipo PDB.

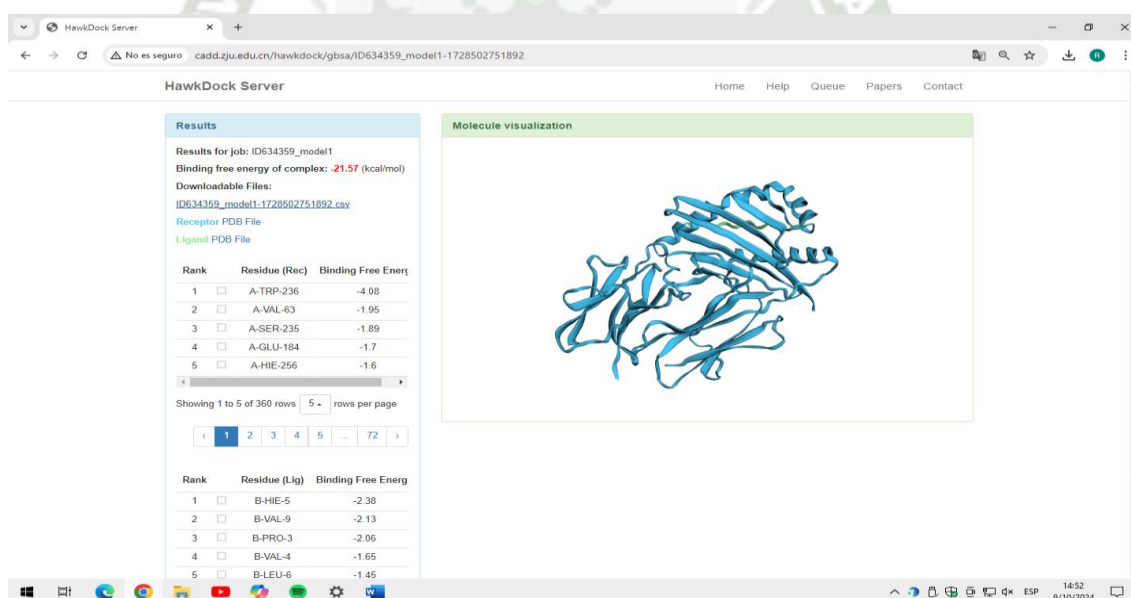
Imagen 41
Modelado 3D de EKPVHLTVVPY



Habiendo obtenido el modelo 3D del epítipo, se procede a realizar el Doking, es decir a acoplar dicho epítipo a la molécula de MHC1 o MHC2, en el presente trabajo, el acople se realiza a la molécula MHC2, dado que la presentación de antígenos por vía de acople a MHC2 permitirá que sean los linfocitos TCD4 quienes actúen contra el antígeno extracelular con el objetivo de poder neutralizarlo.

La mencionada operación se realizó en HawkDock Server, este software, permite determinar la afinidad en la unión de las estructuras antes mencionadas, es preciso señalar que en base a los principios de la termodinámica, cuando la unión entre dos elementos es positivo implica un gasto de energía para poder concretar la unión, por el contrario, si el valor es negativo, esto significa que la unión no requiere de energía y esta falta de requerimiento energético es mayor mientras más se aleje de la unidad 0, ya que el último valor mencionado implica un estado de equilibrio en el sistema.

Imagen 42
Doking con MHC2 de EKPVHLLTVVPY



b. >WP_342610079.1 MATE family efflux transporter [Anaeroglobus geminatus]

Para se debe de entender la naturaleza del término, un epítipo es parte de un antígeno, entendiéndose por esta toda estructura ajena al organismo que tiene la posibilidad de desencadenar una respuesta inmune, este es diferente a un inmunógeno (que es lo que se obtuvo en el presente trabajo), un agente ajeno al organismo que siempre va a generar una respuesta inmune, al unirse con la región variable de un anticuerpo formando el paratopo.

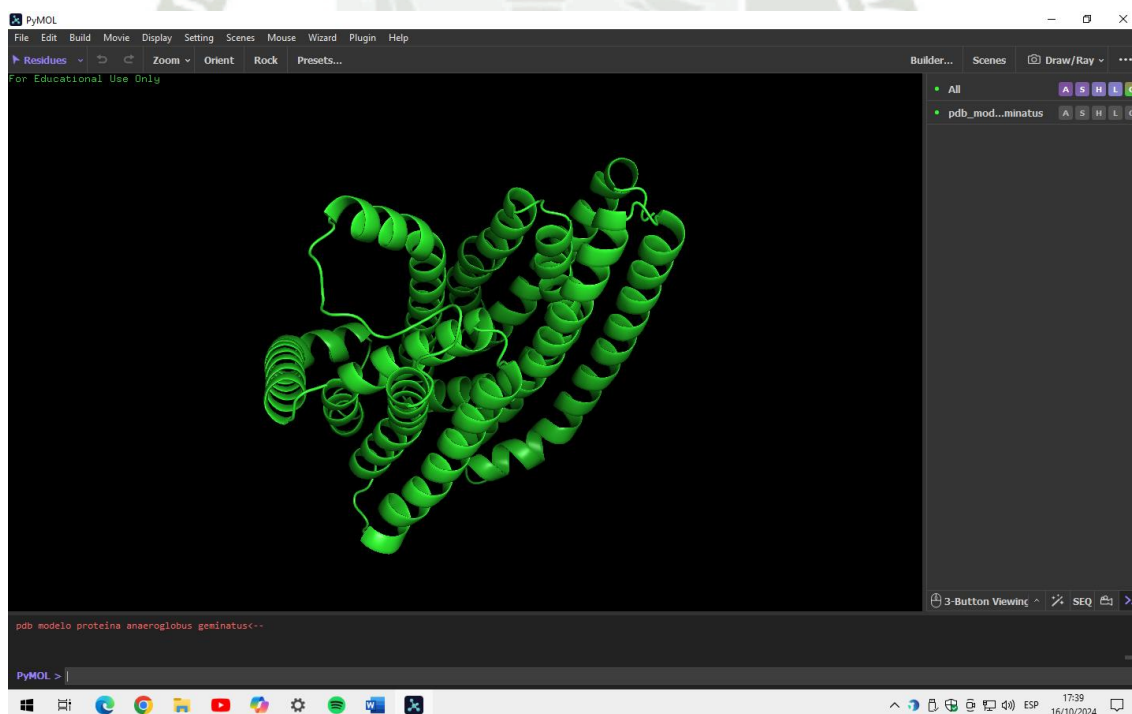
El procedimiento implica obtener, en primer lugar, las estructuras proteínicas de los factores de virulencia del periodonto patógenos, los cuales se pudieron conseguir con una ardua y prolongada revisión bibliográfica en plataformas de investigación científica.

>WP_342610079.1 MATE family efflux transporter [Anaeroglobus geminatus]

MCPAEFLASCRCCLCCTQYITCRFGTAFFHPLLYGLGADDVLYPFCAAYAVPLFLA
TPFTMAGLILDIFLVTAGQPRLALLSSLIGGIVNIVLDYVTLFVFEWGLSGAAVAT
GIGYSVSAFVGIWYFTTQQHRILRLTRPAWRPRAVLMAMGNGASEMVTQLSMS
VVIIVINNTMMRLAGAEGVAAISITQYMAELFAAVYLGYAEGVAAALTSFCYGRK
DMAELRGIFRRSLKLIGAFALFTTALSILIAVPVTSVFVPAGSRVYELAVYGFRIYA
AGFLFVGFKTYGSSFFTALGDGRTSALLSFCHTMLFLLGFLYILPRIFGVDGVFM
ATPAADFCGACMAFVFFWQKRKVYQYG

LDYVTLFVFEWGLSGAA

Imagen 43
Modelado 3D de MATE family efflux transporter



Posteriormente se procede a realizar el alineamiento de proteínas y encontrar estructuras comunes, de esta manera se logra obtener la secuencia de aminoácidos que constituyen el epítipo del factor de virulencia del periodontopatógenos.

Seguidamente, se procedió a llevar a cabo el testeo de dicho epítopo, en primer lugar, determinar si el mismo, realmente es un epítopo, y para ello se utilizó el servidor VAXIJEN, que por medio de un algoritmo contratado con los datos obtenidos arroja un resultado en el sentido de que si la secuencia de aminoácidos es o no es un antígeno.

Imagen 44
Prueba de alergenicidad de LDYVTLFVFEWGLSGAA

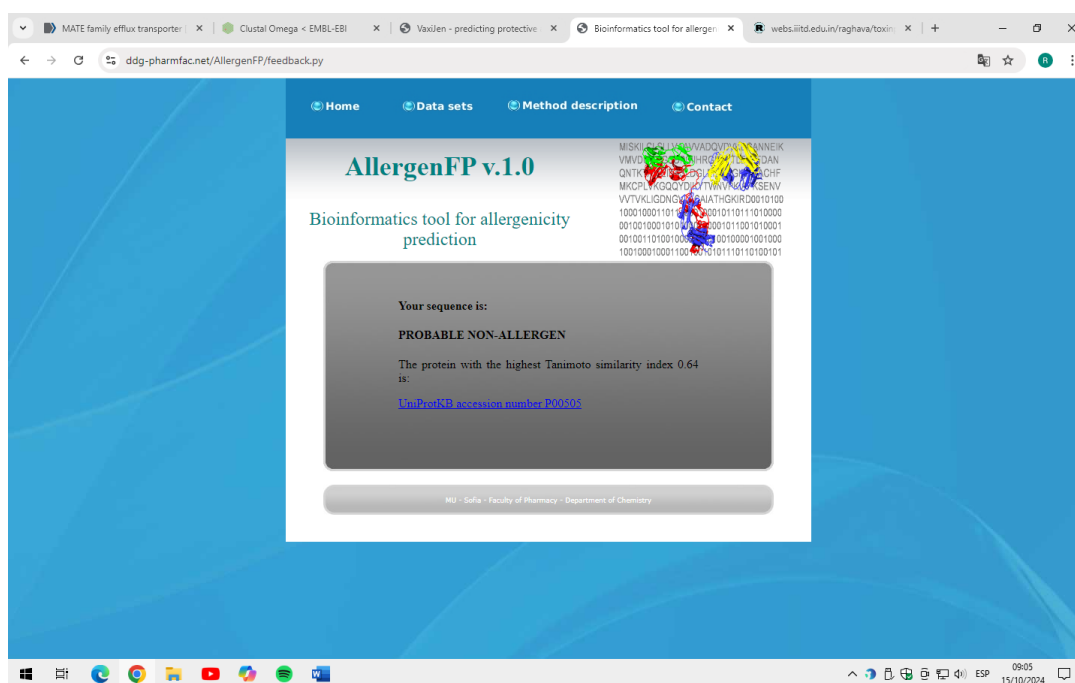
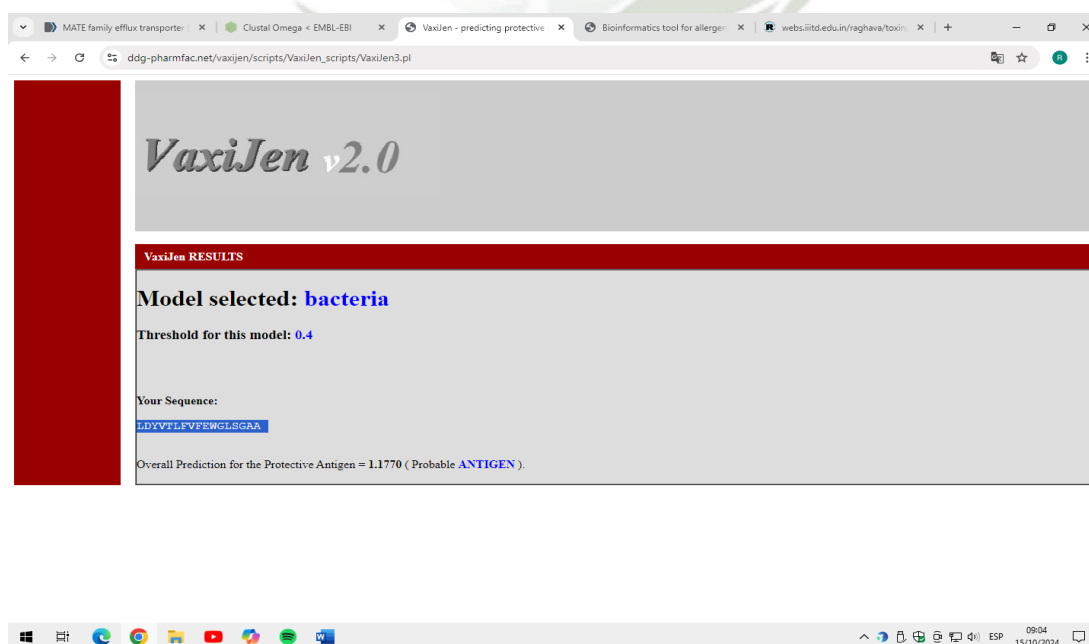


Imagen 45
Prueba de antigenicidad de LDYVTLFVFEWGLSGAA



Una vez completado el testeo y abiendo optenido un epitopo optimo, se procede a realizar el plegado de la estructura para lo cual se utilizo el algoritmo de AlphaFold Server, como resultado se obtiene modelos 3D de la estructura en cuestion en formato CIF.

Imagen 46
Prueba de toxicidad de LDYVTLFVFEWGLSGAA

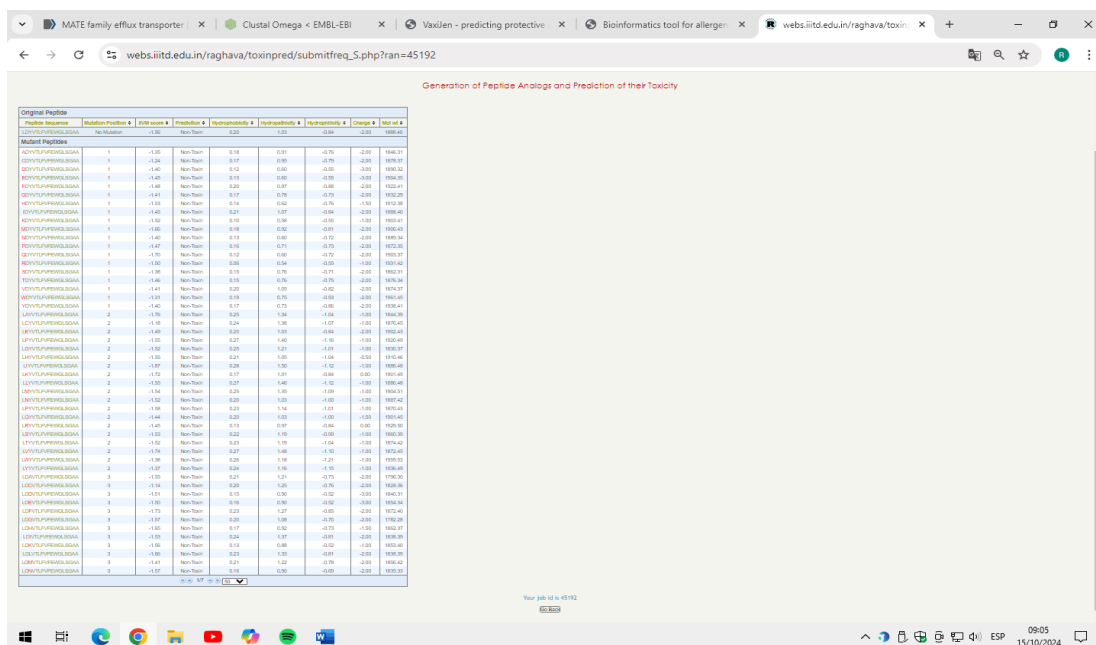
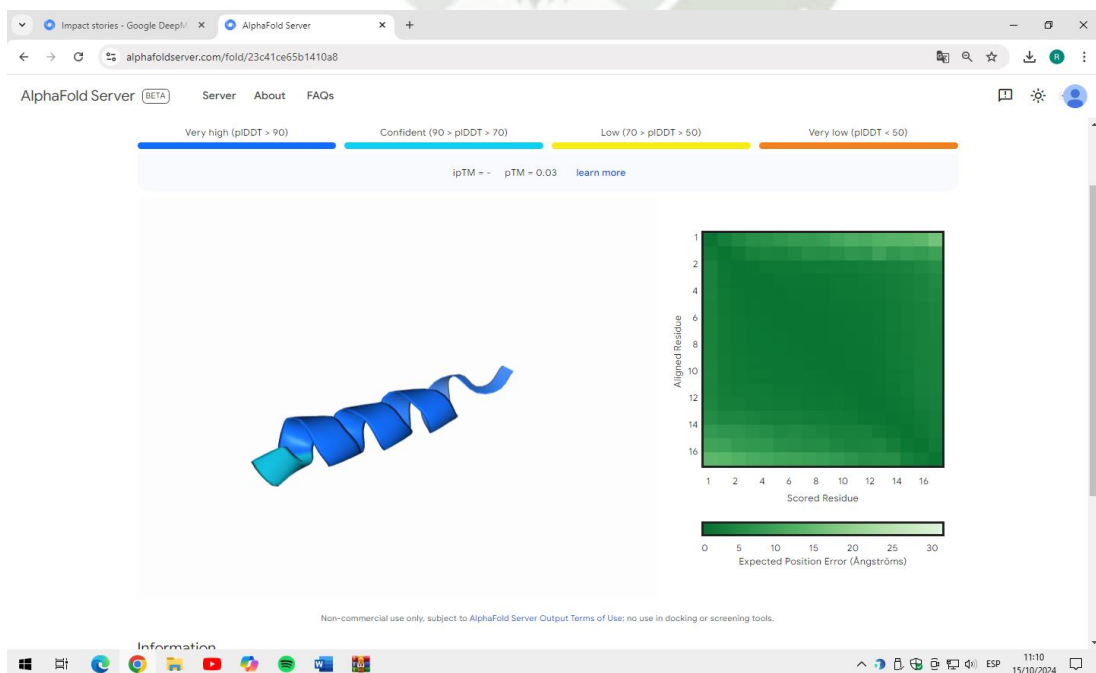
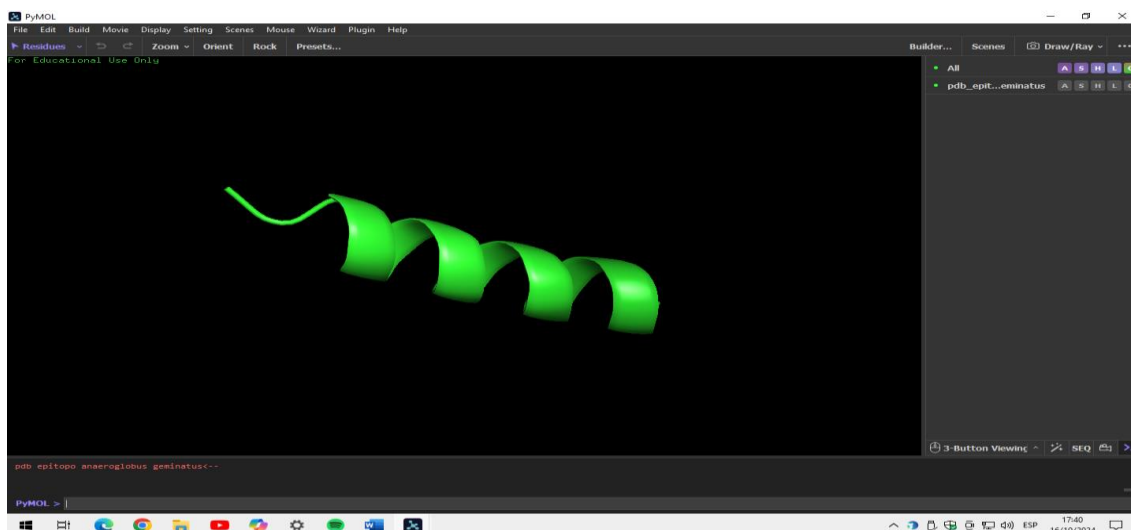


Imagen 47
Plegado de LDYVTLFVFEWGLSGAA



De los modelos proporcionados por AlphaFold Server, se elige el más óptimo, en relación a la estructura tridimensional, el mismo se procede a someterlo a un programa especializado en la generación de modelos 3D de estructuras proteínicas. El software PyMOL; este convierte el archivo CIF antes mencionado en un archivo de tipo PDB.

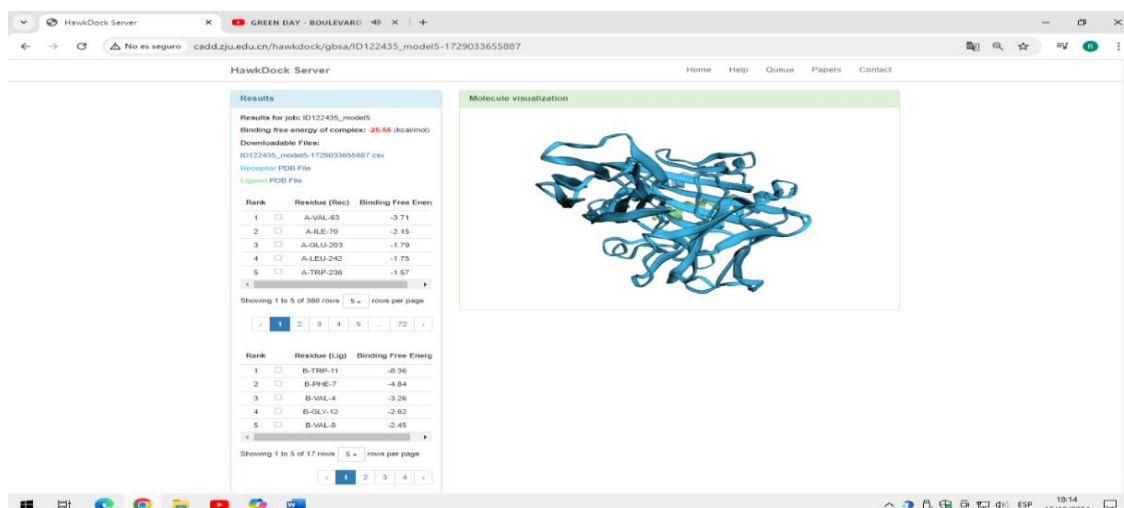
Imagen 48
Modelado 3d de LDYVTLFVFEWGLSGAA



Habiendo obtenido el modelo 3D del epítipo, se procede a realizar el Doking, es decir a acoplar dicho epítipo a la molécula de MHC1 o MHC2, en el presente trabajo, el acople se realiza a la molécula MHC2, dado que la presentación de antígenos por vía de acople a MHC2 permitirá que sean los linfocitos TCD4 quienes actúen contra el antígeno extracelular con el objetivo de poder neutralizarlo.

La mencionada operación se realizó en HawkDock Server, este software, permite determinar la afinidad en la unión de las estructuras antes mencionadas, es preciso señalar que en base a los principios de la termodinámica, cuando la unión entre dos elementos es positivo implica un gasto de energía para poder concretar la unión, por el contrario, si el valor es negativo, esto significa que la unión no requiere de energía y esta falta de requerimiento energético es mayor mientras más se aleje de la unidad 0, ya que el último valor mencionado implica un estado de equilibrio en el sistema.

Imagen 49
Docking con MHC II de LDYVTLFVFEWGLSGAA



c. >WP_338350101.1 response regulator FsrA [Enterococcus faecalis]

Prosiguiendo con el estudio de los epítomos, previamente se debe de entender la naturaleza del término, un epitopo es parte de un antígeno, entendiéndose por esta toda estructura ajena al organismo que tiene la posibilidad de desencadenar una respuesta inmune, este es diferente a un inmunógeno (que es lo que se obtuvo en el presente trabajo), un agente ajeno al organismo que siempre va a generar una respuesta inmune, al unirse con la región variable de un anticuerpo formando el paratopo.

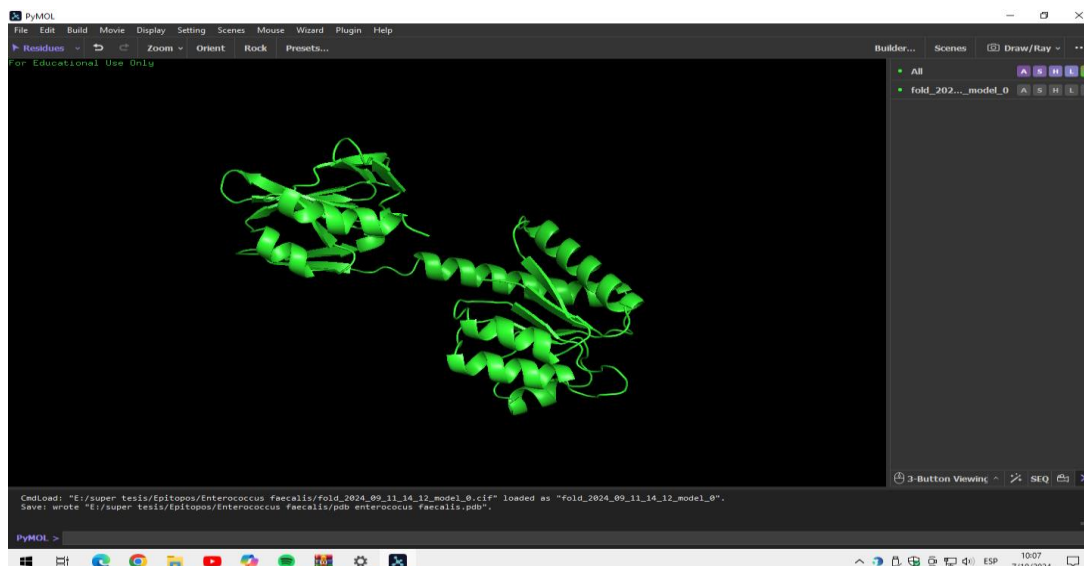
El procedimiento implica obtener, en primer lugar, las estructuras proteínicas de los factores de virulencia del periodonto patógenos, los cuales se pudieron conseguir con una ardua y prolongada revisión bibliográfica en plataformas de investigación científica.

>WP_338350101.1 response regulator FsrA [Enterococcus faecalis]

MAIYILEDQIIQAKALEALVTNILHSRNIYNETIHLFSRDELLQVAHQDAQLNIF
FLDIQMNNHIQAGFEVAKEIRKTDSESLIVSTHTELVLTSYKYMVSALQFIQKNV
DFLDFQKEVETCVDAYIIQQKENIKTKSEFIIINLKASSIKMDINDIYFFQTEYDHR
VSMVGKNFKREFYGTLSKIEQLHPDLIRVHQSIINKKYASKLNYKTHLLTMRD
GTEVPVSRRYYTQVKALFLT

IYILEDQIIQAK

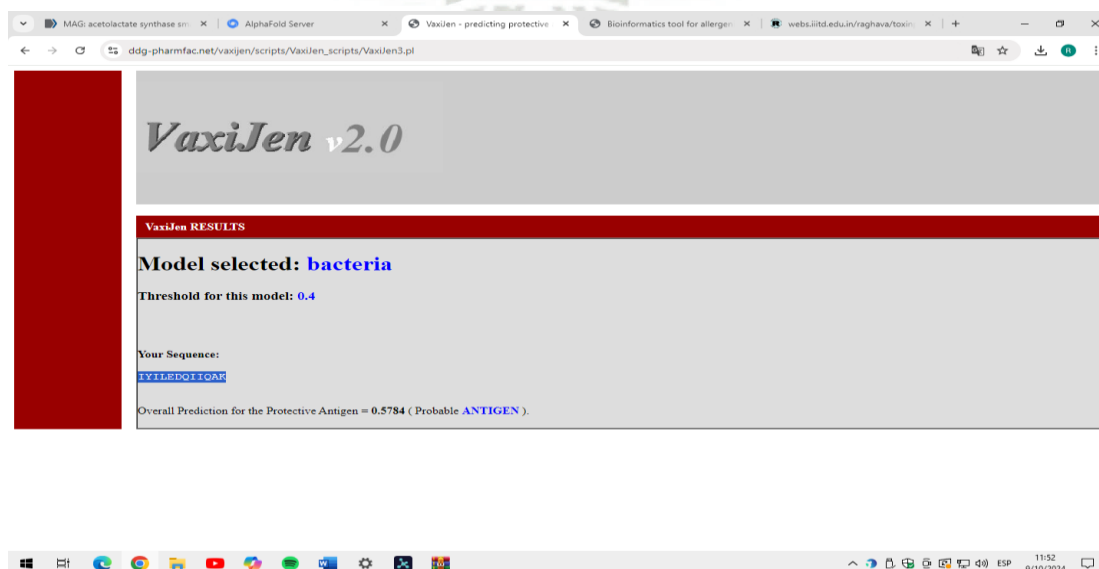
Imagen 50
modelado 3D de response regulator FsrA



Posteriormente se procede a realizar el alineamiento de proteínas y encontrar estructuras comunes, de esta manera se logra obtener la secuencia de aminoácidos que constituyen el epítopo del factor de virulencia del periodontopatógenos.

Seguidamente, se procedió a llevar a cabo el testeo de dicho epítipo, en primer lugar, determinar si el mismo, realmente es un epítipo, y para ello se utilizó el servidor VAXIJEN, que por medio de un algoritmo contratado con los datos obtenidos arroja un resultado en el sentido de que si la secuencia de aminoácidos es o no es un antígeno.

Imagen 51
Prueba de antigenicidad de IYILEDQIIQAK



VaxiJen v2.0

VaxiJen RESULTS

Model selected: bacteria

Threshold for this model: 0.4

Your Sequence:
IYILEDQIIQAK

Overall Prediction for the Protective Antigen = 0.5784 (Probable **ANTIGEN**).

Cabe resaltar que, dichos antígenos, tienen como finalidad formar el complejo antígeno – anticuerpo, para lo cual tienen que unirse a este último, y para cumplir su función biológica deben tener afinidad por el complejo mayor de histocompatibilidad de tipo I (MHCI) o de tipo II (MHCII). En el primer caso, la unión a membrana del linfocito generara citotoxicidad, es decir, que la célula atacara y eliminara a aquellas que hayan sido infectadas o de alguna manera se hayan visto afectadas por un antígeno intracelular, por otro lado, en el segundo caso se producirá la unión a linfocitos Helper, lo que implica que la célula responderá frente a antígenos extracelulares.

El siguiente paso es llevar a cabo el testeo del posible epítipo, puesto que este debe cumplir con la particularidad de no tener potencial para generar reacciones alérgicas ni tampoco debe poder ser capaz de generar efectos tóxicos, dicho testeo se llevó a cabo en el servidor AllergenFP y ToxinPred respectivamente.

Imagen 52
Prueba de alergenidad de IYILEDQIIQAK

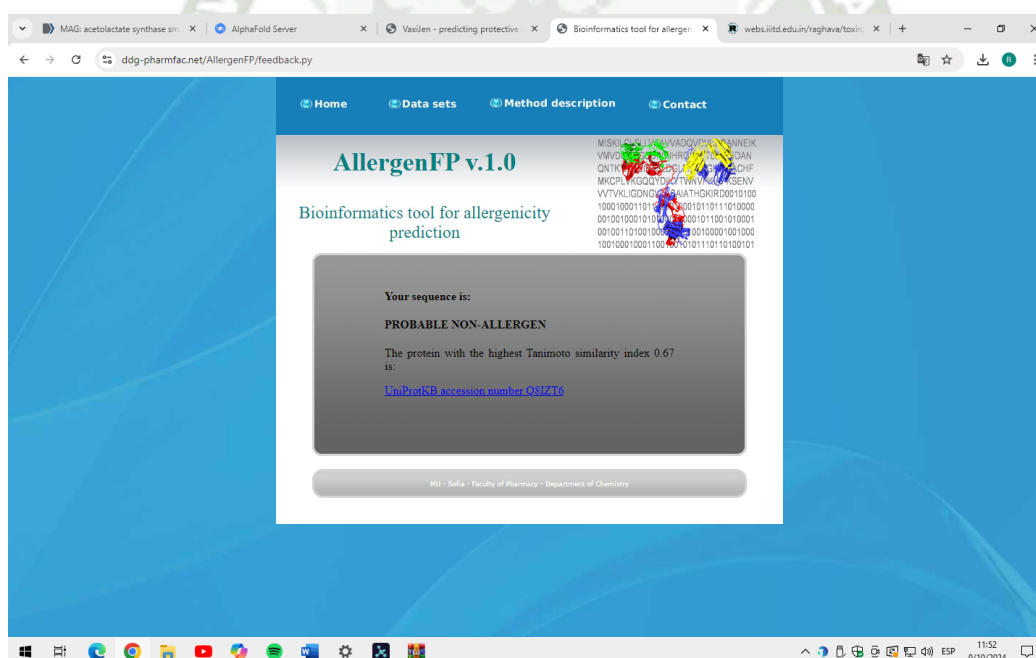
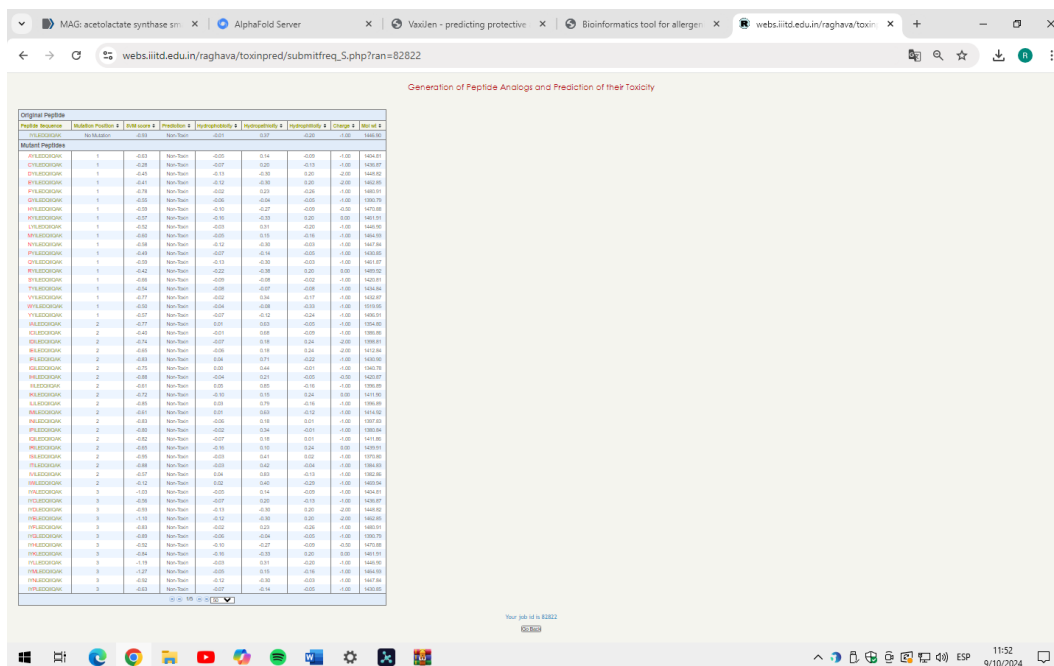


Imagen 53

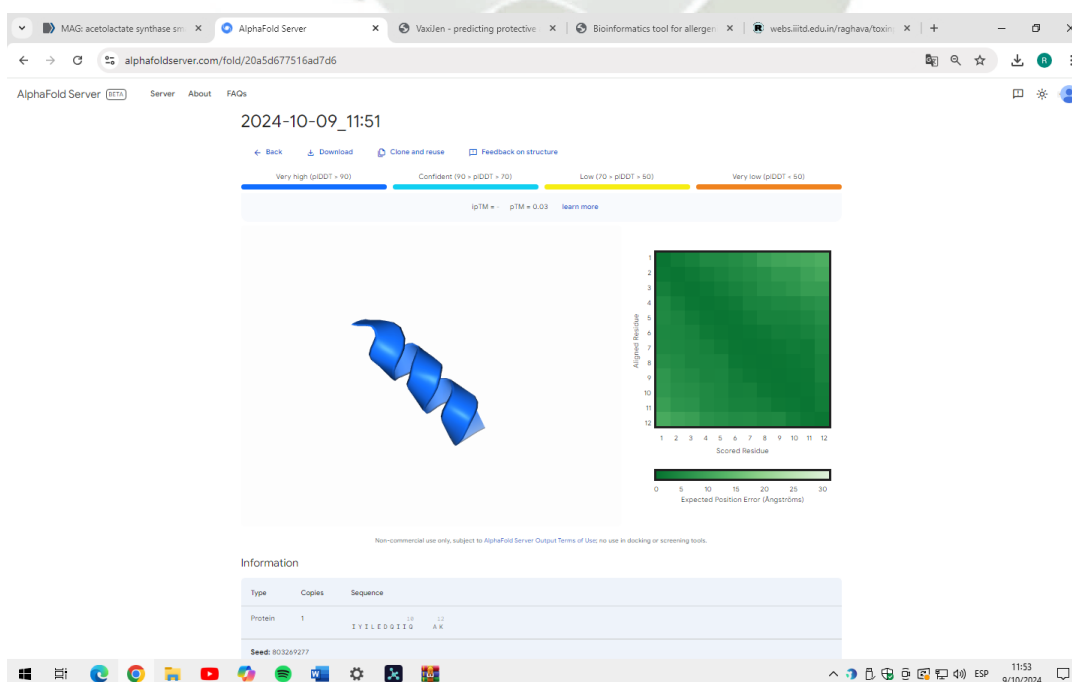
Prueba de toxicidad de IYILEDQIIQAK



Una vez completado el testeo y abiendo optenido un epitopo optimo, se procede a realizar el plegado de la estructura para lo cual se utilizo el algoritmo de AlphaFold Server, como resultado se obtiene modelos 3d de la estructura en cuestion en formato CIF.

Imagen 54

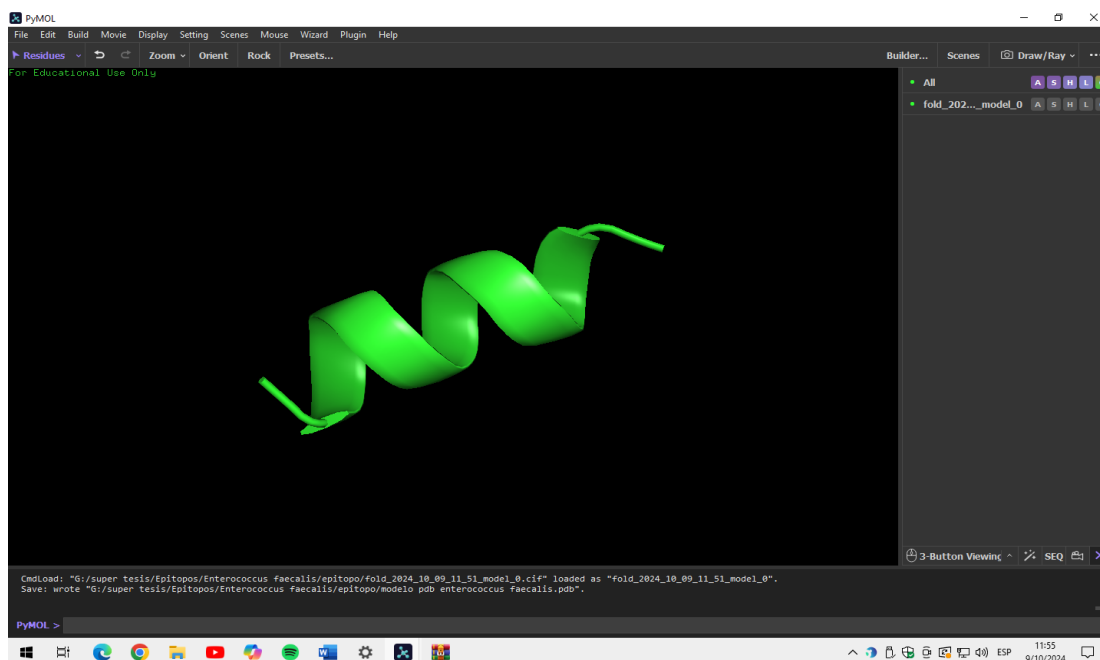
Plegado de IYILEDQIIQAK



De los modelos proporcionados por AlphaFold Server, se elige el más óptimo, en relación

a la estructura tridimensional, el mismo se procede a someterlo a un programa especializado en la generación de modelos 3D de estructuras proteínicas. El software PyMOL; este convierte el archivo CIF antes mencionado en un archivo de tipo PDB.

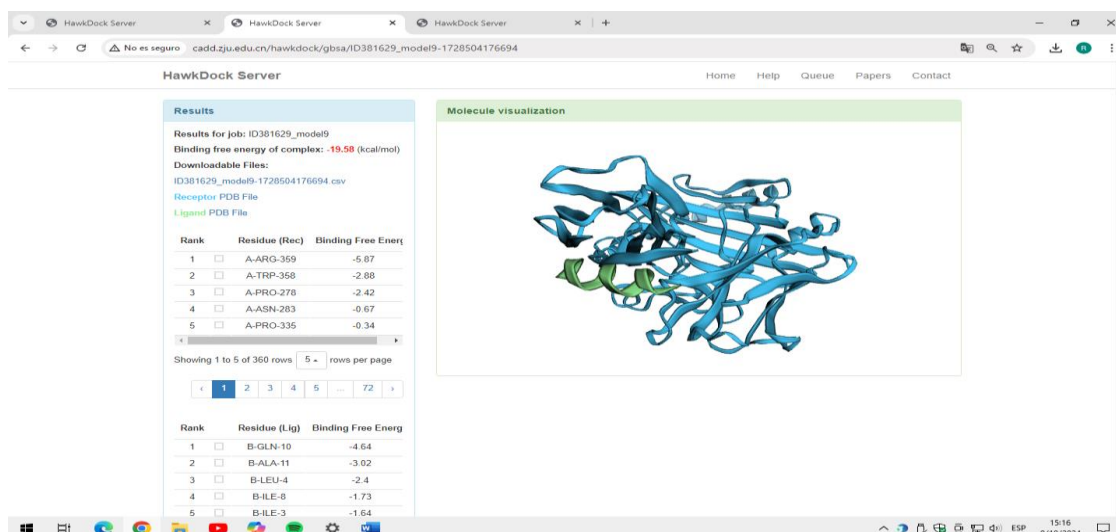
Imagen 55
Modelado 3D de IYILEDQHIQAK



Habiendo obtenido el modelo 3D del epitopo, se procede a realizar el Doking, es decir a acoplar dicho epitopo a la molécula de MHC1 o MHC2, en el presente trabajo, el acople se realiza a la molécula MHC2, dado que la presentación de antígenos por vía de acople a MHC2 permitirá que sean los linfocitos TCD4 quienes actúen contra el antígeno extracelular con el objetivo de poder neutralizarlo.

La mencionada operación se realizó en HawkDock Server, este software, permite determinar la afinidad en la unión de las estructuras antes mencionadas, es preciso señalar que en base a los principios de la termodinámica, cuando la unión entre dos elementos es positivo implica un gasto de energía para poder concretar la unión, por el contrario, si el valor es negativo, esto significa que la unión no requiere de energía y esta falta de requerimiento energético es mayor mientras más se aleje de la unidad 0, ya que el último valor mencionado implica un estado de equilibrio en el sistema.

Imagen 56
Docking con MHC II de IYILEDQIIQAK



d. >GAU72619.1 DNA-binding protein [Alcaligenes faecalis subsp. faecalis NBRC 13111]

Prosiguiendo con el estudio de los epítomos, previamente se debe de entender la naturaleza del término, un epitopo es parte de un antígeno, entendiéndose por esta toda estructura ajena al organismo que tiene la posibilidad de desencadenar una respuesta inmune, este es diferente a un inmunógeno (que es lo que se obtuvo en el presente trabajo), un agente ajeno al organismo que siempre va a generar una respuesta inmune, al unirse con la región variable de un anticuerpo formando el paratopo.

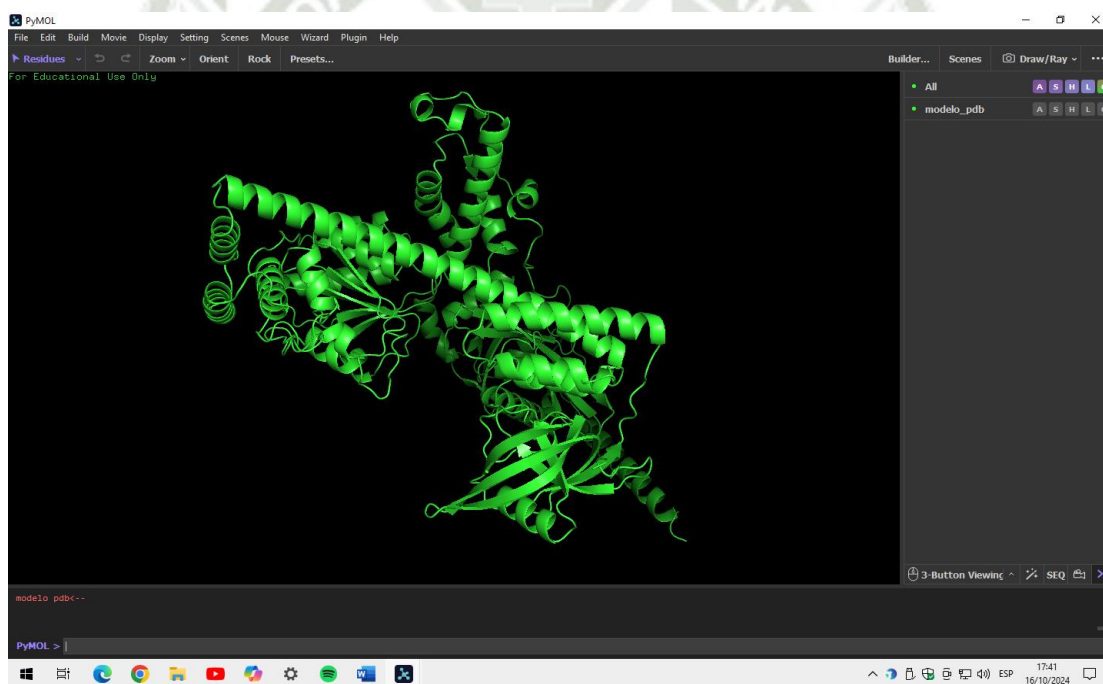
El procedimiento implica obtener, en primer lugar, las estructuras proteínicas de los factores de virulencia del periodonto patógenos, los cuales se pudieron conseguir con una ardua y prolongada revisión bibliográfica en plataformas de investigación científica.

>GAU72619.1 DNA-binding protein [Alcaligenes faecalis subsp. faecalis NBRC 13111]

MSA **SQILSTEPIELP**LLPLRDVVVFPHMVIPLFVGRPRSIKALELAMESGNNIMLV
AQKSAGKDDPAPEDLYEIIACAASILQMLKLPDGTVKVLVEGLQRARITQVQDAE
THFMASVVEVPGDAGDAAETEALRRAVLGQFEQYVKLNKKIPQEILTSLTGIDD
AGRLADTIAAHLPLKLEQKQGMLETPKALERLEGLLSQLEGEIDILQVEKRIRGR
VKKQMEKSQRDYLYNEQVKAIQKELGEGEDGADVEELEKRIEQAQLSKEALK
KAEMMKKLKLMSPMSAEATVVRNYIETLVGLPWRKKSRINNSLSNAEEVLDA
DHFGLKVKERIVEYLAVQQRVDKLLKAPILCLVGPPGVGKTSLGQSIKATNRK

FIRMALGGVRDEAEIRGHRRTYIGSMPGKVVQNMSKVGVRNPLFLLEIDKMG
ADFRGDPSSALLEVLDPEQNHTFQDHYLEVDYDLSVDMFVATSNTLNIPPALLD
RMEVIRLSGYTEDEKVRIAFDYLLPKLMKNNGVREGELEVTEDAVRDIVRYYTR
EAGVRSLEIREISKICRKVVRKLLVANPQAGTRAARNKTLTQETLVVNAANLNDY
LGVRRFSFGLAEKENKVGLVTGLAWTEVGGELLTIEVADMPPGKGNVLRGTSGID
VMKESVEAARTVVRSRAQKWGIANSVFEKRDHLVHFPEGATPKDGPSAGIAITT
AIVSSLTGIPVRADVAMTGEITLRGEVLPIGGLKEKLLAAQRGGIKTVMPIEENV
KDLADIPDNVKNLTLEIIPVRWIDRVLEVALQDAVTPLSDEEVARLAAEALAATRA
AGAGSESEFKH
SQILSTEPIELP

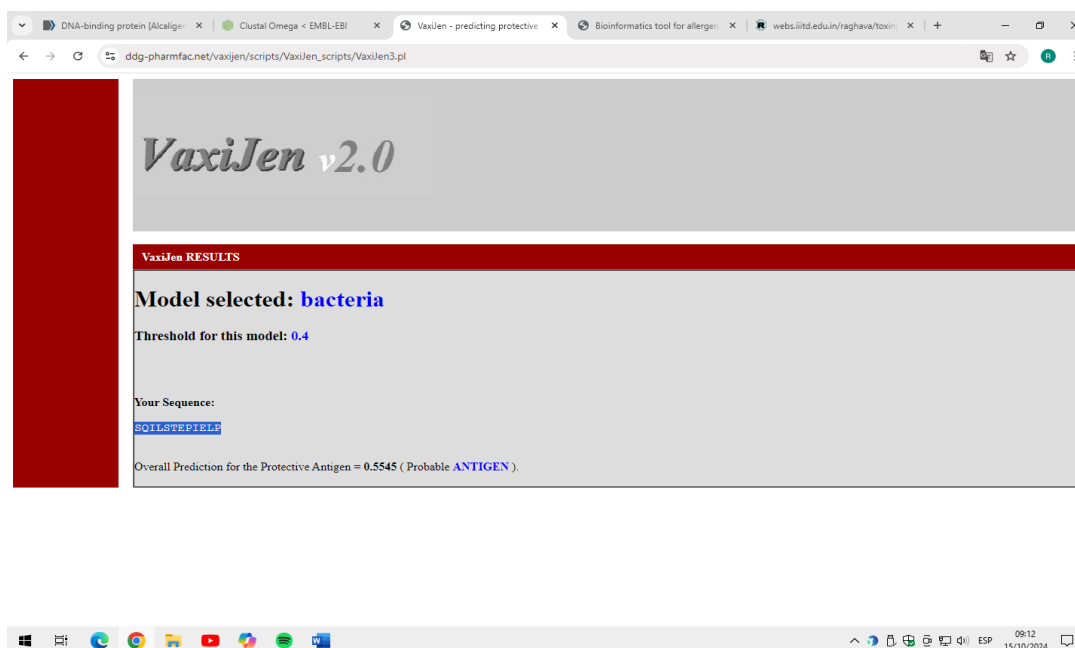
Imagen 57
Modelado 3D de DNA-binding protein



Posteriormente se procede a realizar el alineamiento de proteínas y encontrar estructuras comunes, de esta manera se logra obtener la secuencia de aminoácidos que constituyen el epítipo del factor de virulencia del periodontopatógenos.

Seguidamente, se procedió a llevar a cabo el testeo de dicho epítipo, en primer lugar, determinar si el mismo, realmente es un epítipo, y para ello se utilizó el servidor VAXIJEN, que por medio de un algoritmo contratado con los datos obtenidos arroja un resultado en el sentido de que si la secuencia de aminoácidos es o no es un antígeno.

Imagen 58
Prueba de antigenicidad de SQILSTEPIELP



Cabe resaltar que, dichos antígenos, tienen como finalidad formar el complejo antígeno – anticuerpo, para lo cual tienen que unirse a este último, y para cumplir su función biológica deben tener afinidad por el complejo mayor de histocompatibilidad de tipo I (MHCI) o de tipo II (MHCII). En el primer caso, la unión a membrana del linfocito generara citotoxicidad, es decir, que la célula atacara y eliminara a aquellas que hayan sido infectadas o de alguna manera se hayan visto afectadas por un antígeno intracelular, por otro lado, en el segundo caso se producirá la unión a linfocitos Helper, lo que implica que la célula responderá frente a antígenos extracelulares.

El siguiente paso es llevar a cabo el testeo del posible epítipo, puesto que este debe cumplir con la particularidad de no tener potencial para generar reacciones alérgica ni tampoco debe poder ser capaz de generar efectos tóxicos, dicho testeo se llevó a cabo en el servidor AllergenFP y ToxinPred respectivamente.

Imagen 59

Prueba de alergenicidad de SQLSTIEPLP

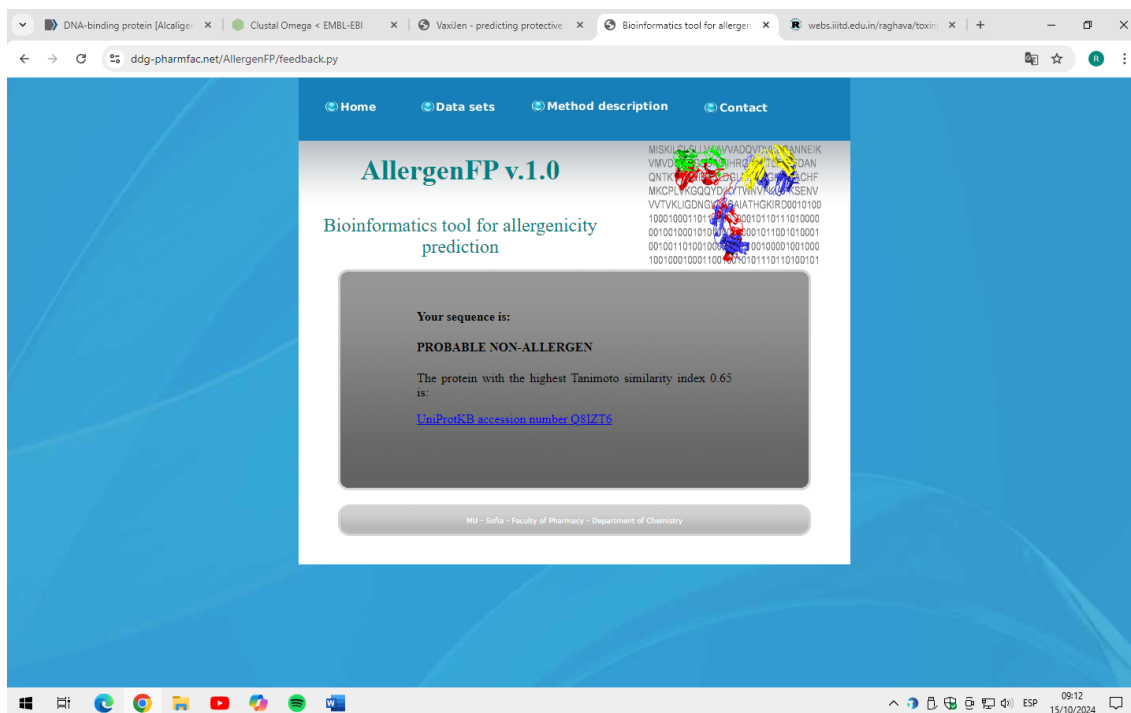
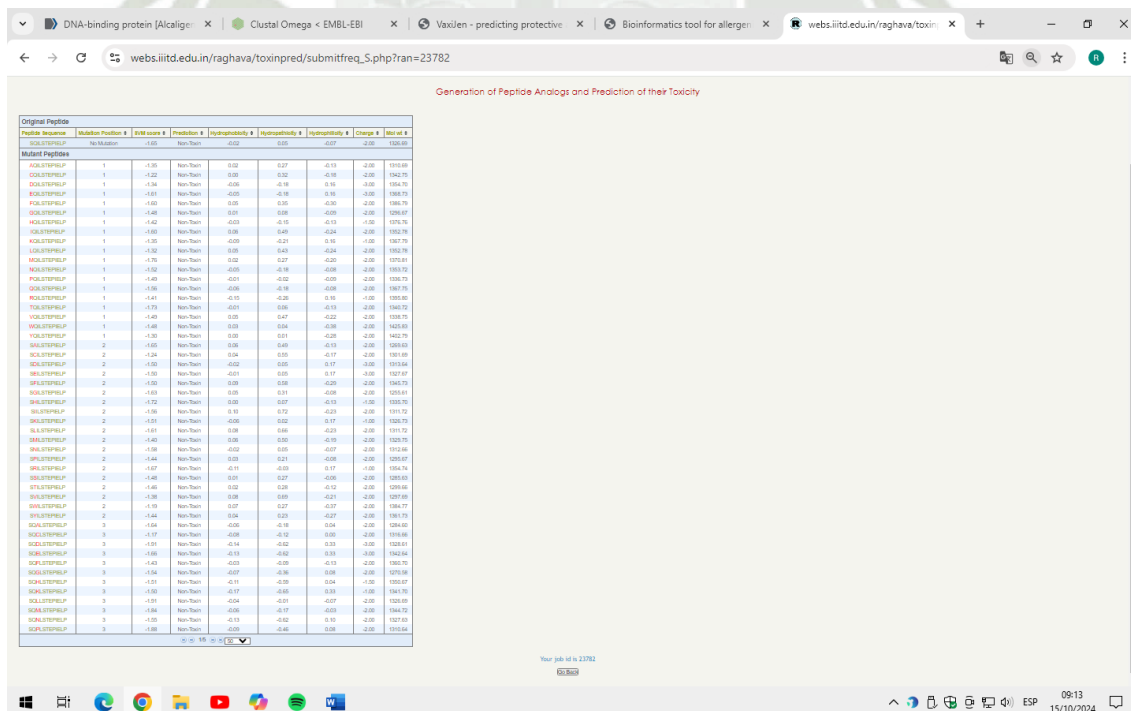


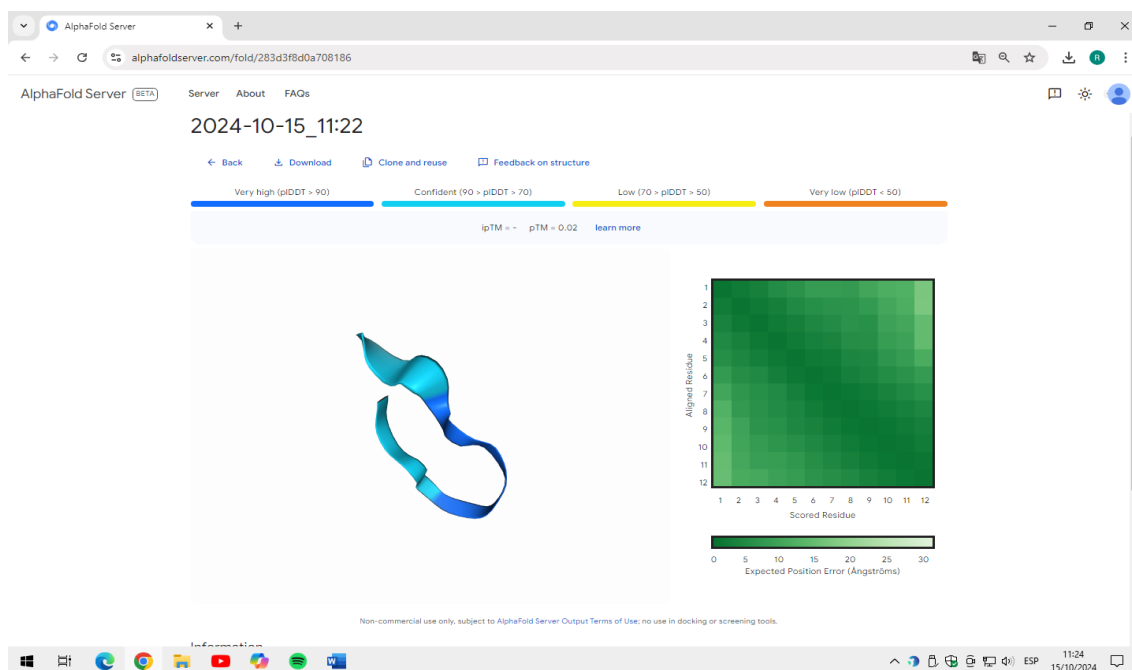
Imagen 60

Prueba de toxicidad de SQLSTIEPLP



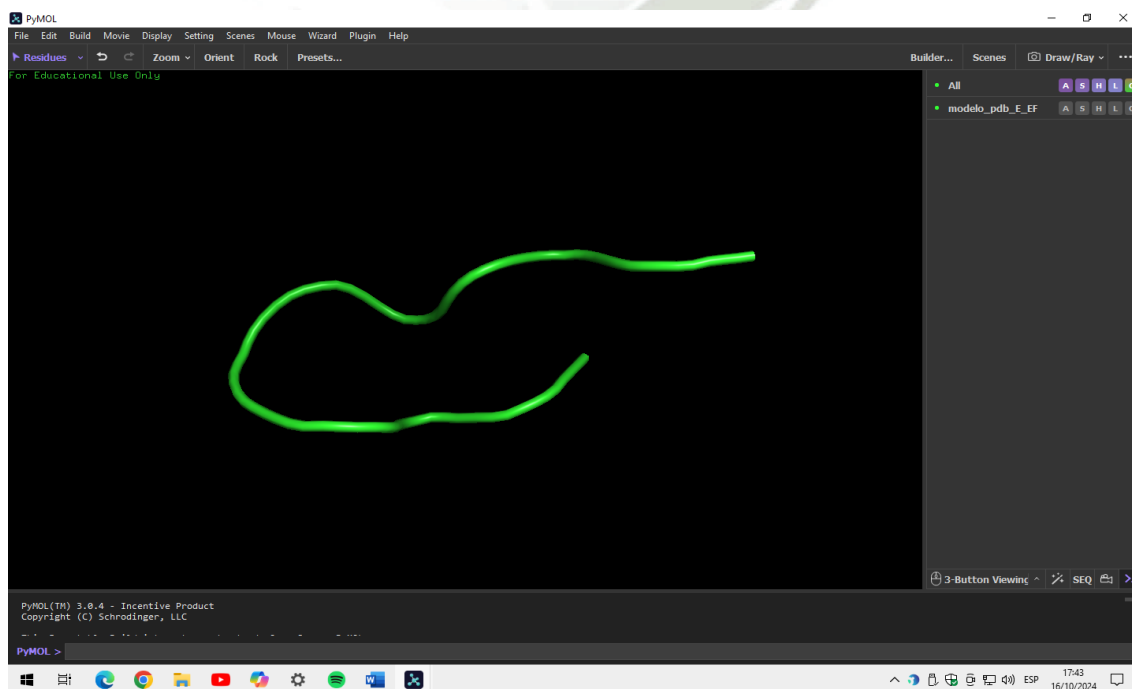
Una vez completado el testeo y abiendo optenido un epitopo optimo, se procede a realizar el plegado de la estructura para lo cual se utilizo el algoritmo de AlphaFold Server, como resultado se obtiene modelos 3D de la estructura en cuestion en formato CIF.

Imagen 61
Plegado de SQILSTEPIELP



De los modelos proporcionados por AlphaFold Server, se elige el más óptimo, en relación a la estructura tridimensional, el mismo se procede a someterlo a un programa especializado en la generación de modelos 3D de estructuras proteínicas. El software PyMOL; este convierte el archivo CIF antes mencionado en un archivo de tipo PDB.

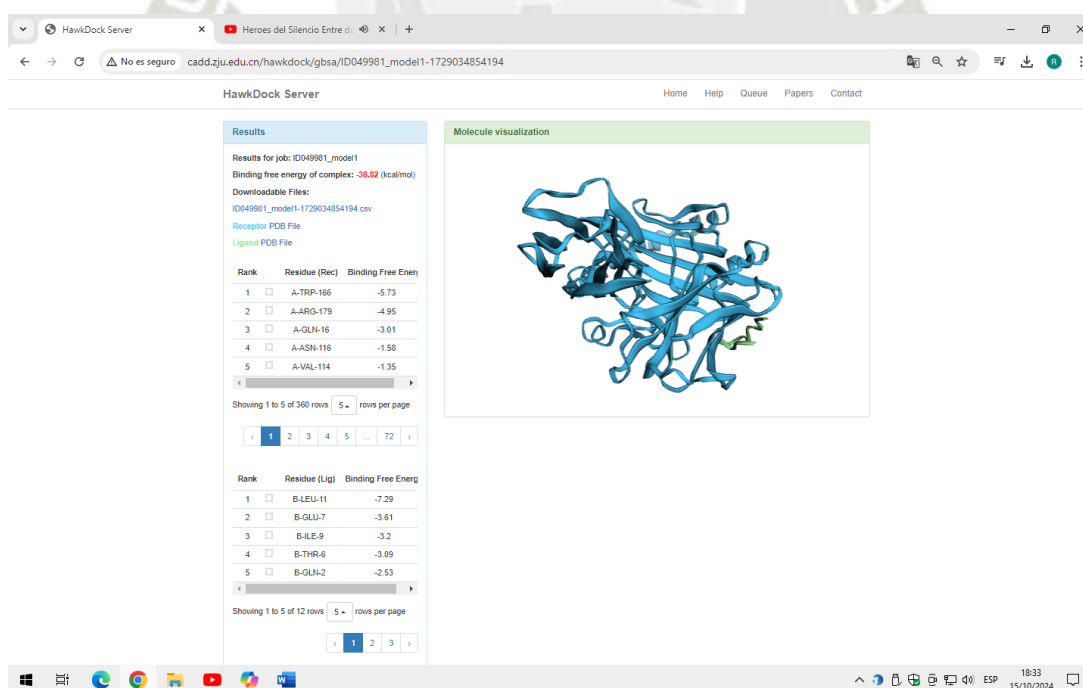
Imagen 62
Modelado 3D de SQILSTEPIELP



Habiendo obtenido el modelo 3D del epítipo, se procede a realizar el Doking, es decir a acoplar dicho epítipo a la molécula de MHC1 o MHC2, en el presente trabajo, el acople se realiza a la molécula MHC2, dado que la presentación de antígenos por vía de acople a MHC2 permitirá que sean los linfocitos TCD4 quienes actúen contra el antígeno extracelular con el objetivo de poder neutralizarlo.

La mencionada operación se realizó en HawkDock Server, este software, permite determinar la afinidad en la unión de las estructuras antes mencionadas, es preciso señalar que en base a los principios de la termodinámica, cuando la unión entre dos elementos es positivo implica un gasto de energía para poder concretar la unión, por el contrario, si el valor es negativo, esto significa que la unión no requiere de energía y esta falta de requerimiento energético es mayor mientras más se aleje de la unidad 0, ya que el último valor mencionado implica un estado de equilibrio en el sistema.

Imagen 63
Doking con MHC II de SQLSTEPIELP



e. >MBP1563226.1 MAG: acetolactate synthase small subunit [Eubacterium sapenum ATCC 49989]

Prosiguiendo con el estudio de los epítipos, previamente se debe de entender la naturaleza

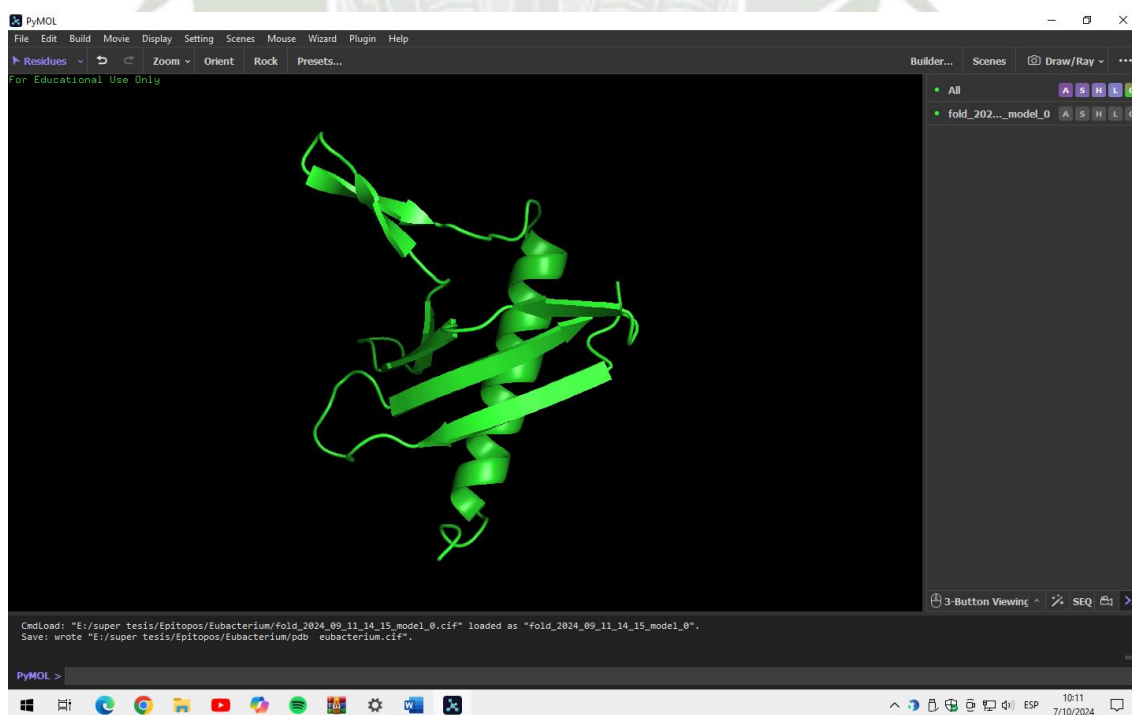
del término, un epítopo es parte de un antígeno, entendiéndose por esta toda estructura ajena al organismo que tiene la posibilidad de desencadenar una respuesta inmune, este es diferente a un inmunógeno (que es lo que se obtuvo en el presente trabajo), un agente ajeno al organismo que siempre va a generar una respuesta inmune, al unirse con la región variable de un anticuerpo formando el paratopo.

El procedimiento implica obtener, en primer lugar, las estructuras proteínicas de los factores de virulencia del periodonto patógenos, los cuales se pudieron conseguir con una ardua y prolongada revisión bibliográfica en plataformas de investigación científica.

>MBP1563226.1 MAG: acetolactate synthase small subunit [Oscillospiraceae bacterium]

MKHTISVLVENHAGVRLARVAGLFARRGFNIDSLAVGVTDDVNVSRITIVADGS
DYTLEQIEKQLNKLIDVIKVKTLAPENMVSRELILIKVSCSAKQRSEIISICDLAH
GKISDISANSITIEISDSAQNLNNFEELLRPYGIKEIVRTGTIAIQKGEQAVSVRN
LAPENMVSRL

Imagen 64
Modelado 3D de acetolactate synthase small subunit

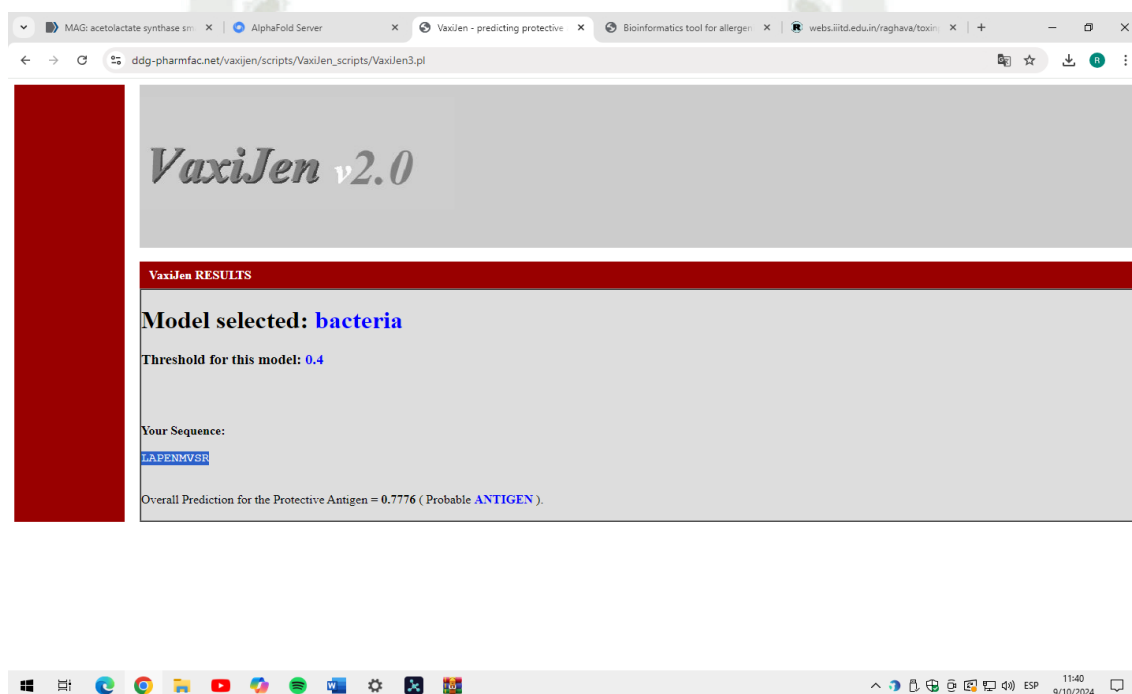


Posteriormente se procede a realizar el alineamiento de proteínas y encontrar estructuras comunes, de esta manera se logra obtener la secuencia de aminoácidos que constituyen el

epítopo del factor de virulencia del periodontopatógenos.

Seguidamente, se procedió a llevar a cabo el testeo de dicho epítopo, en primer lugar, determinar si el mismo, realmente es un epítopo, y para ello se utilizó el servidor VAXIJEN, que por medio de un algoritmo contratado con los datos obtenidos arroja un resultado en el sentido de que si la secuencia de aminoácidos es o no es un antígeno.

Imagen 65
Prueba de antigenicidad de LAPENMVSR



Cabe resaltar que, dichos antígenos, tienen como finalidad formar el complejo antígeno – anticuerpo, para lo cual tienen que unirse a este último, y para cumplir su función biológica deben tener afinidad por el complejo mayor de histocompatibilidad de tipo I (MHCI) o de tipo II (MHCII). En el primer caso, la unión a membrana del linfocito generara citotoxicidad, es decir, que la célula atacara y eliminara a aquellas que hayan sido infectadas o de alguna manera se hayan visto afectadas por un antígeno intracelular, por otro lado, en el segundo caso se producirá la unión a linfocitos Helper, lo que implica que la célula responderá frente a antígenos extracelulares.

El siguiente paso es llevar a cabo el testeo del posible epítopo, puesto que este debe cumplir con la particularidad de no tener potencial para generar reacciones alérgicas ni tampoco debe poder ser capaz de generar efectos tóxicos, dicho testeo se llevó a cabo en el servidor AllergenFP y ToxinPred respectivamente.

Imagen 66

Prueba de alergenicidad de LAPENMVSR

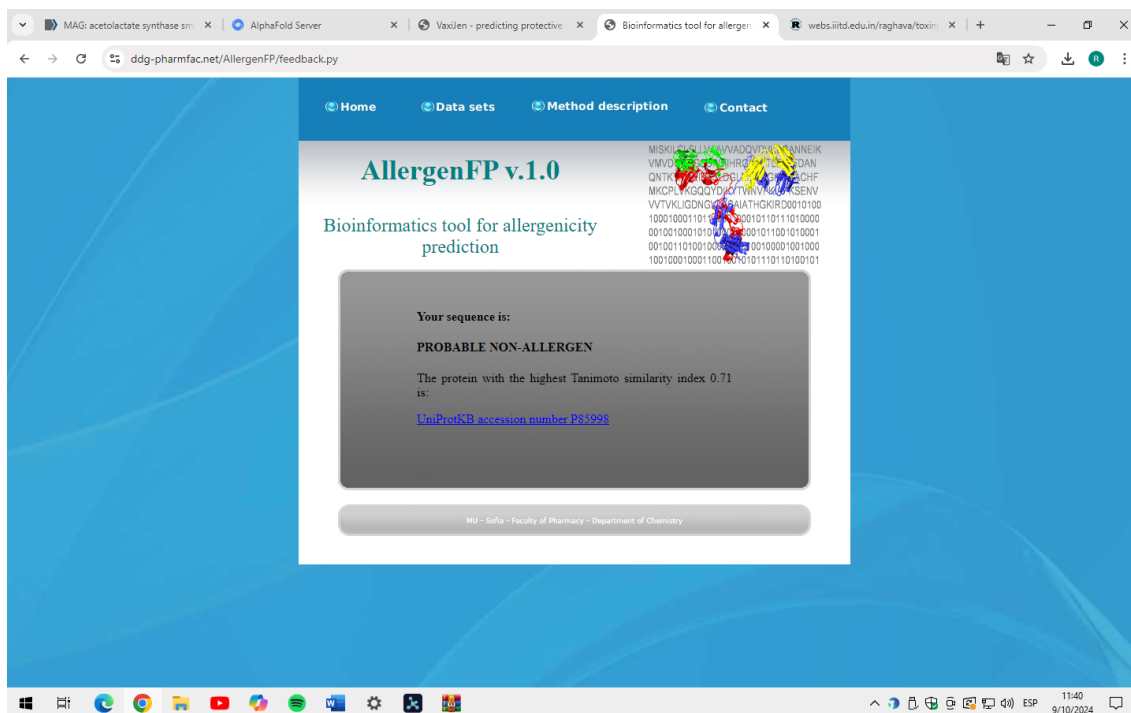
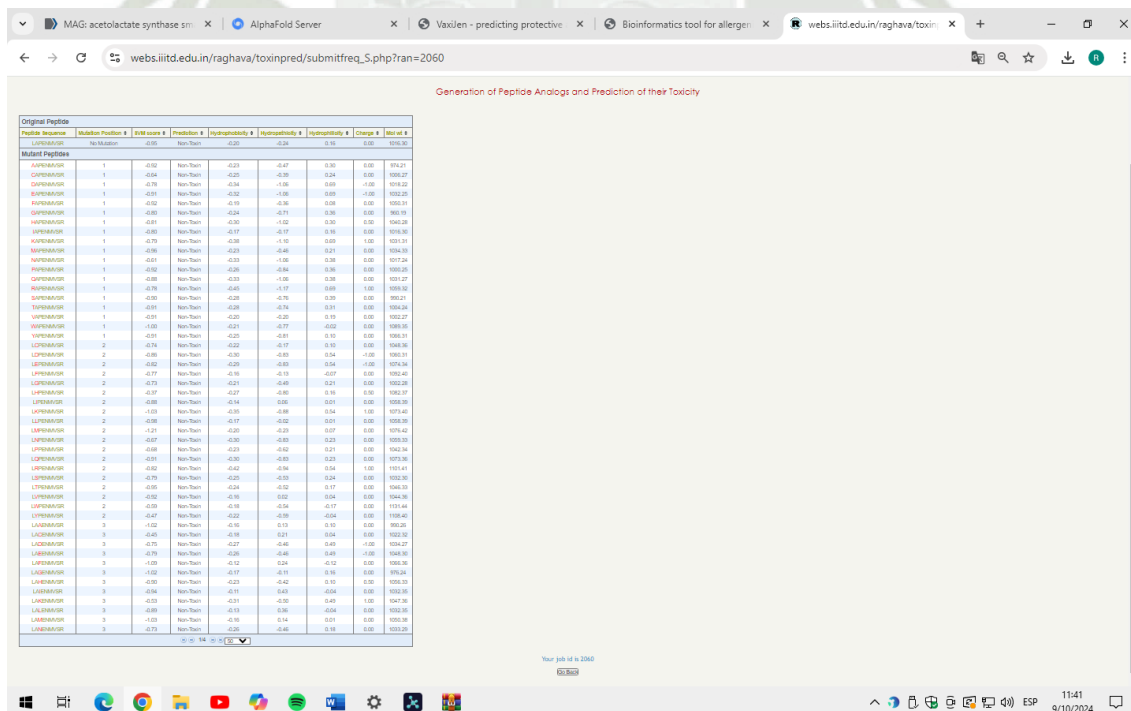


Imagen 67

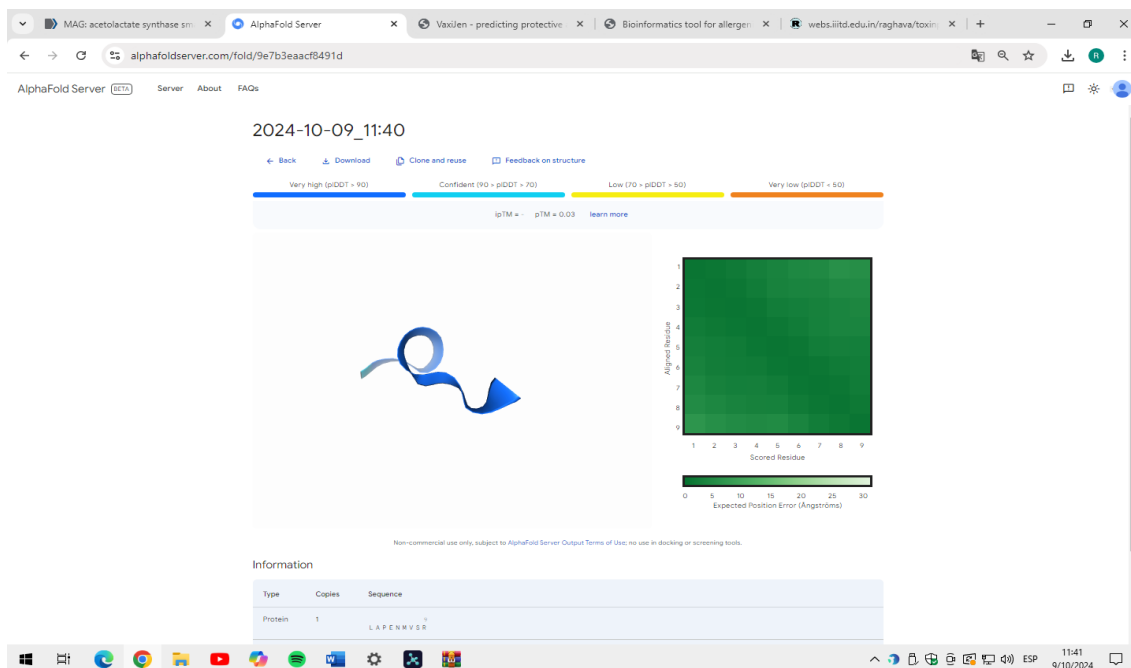
Prueba de toxicidad de LAPENMVSR



Una vez completado el teste y abiendo optenido un epitopo optimo, se procede a realizar el plegado de la estructura para lo cual se utilizo el algoritmo de AlphaFold Server, como resultado se obtiene modelos 3d de la estructura en cuestion en formato CIF.

Imagen 68

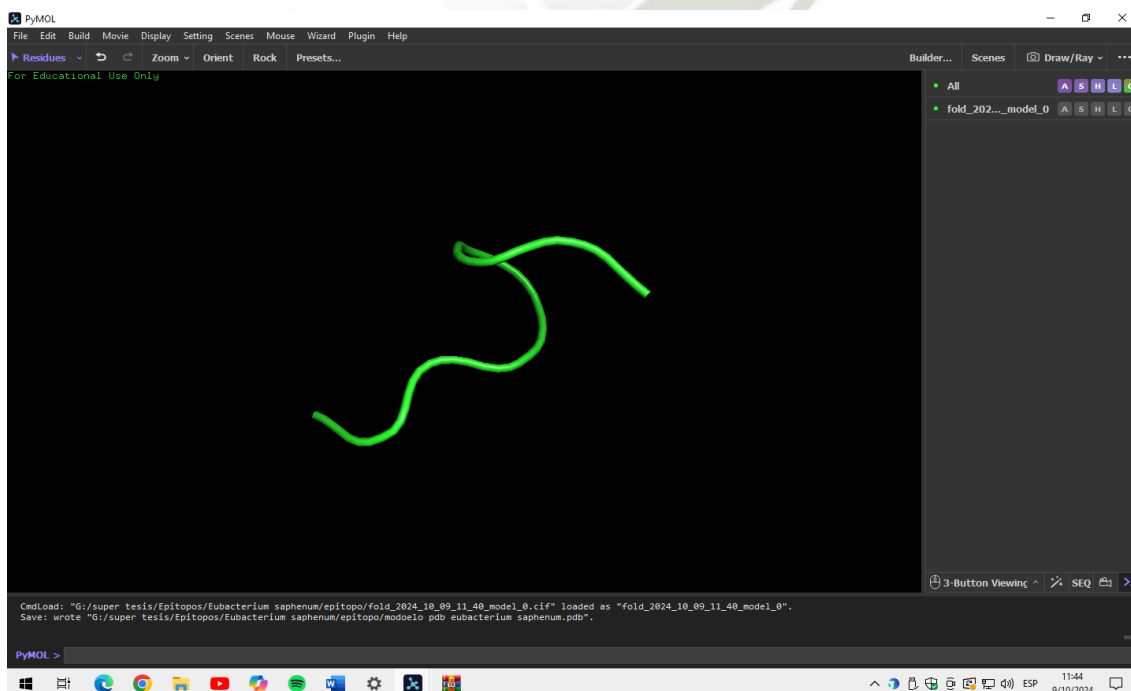
Plegado de LAPENMVSR



De los modelos proporcionados por AlphaFold Server, se elige el más óptimo, en relación a la estructura tridimensional, el mismo se procede a someterlo a un programa especializado en la generación de modelos 3D de estructuras proteínicas. El software PyMOL; este convierte el archivo CIF antes mencionado en un archivo de tipo PDB.

Imagen 69

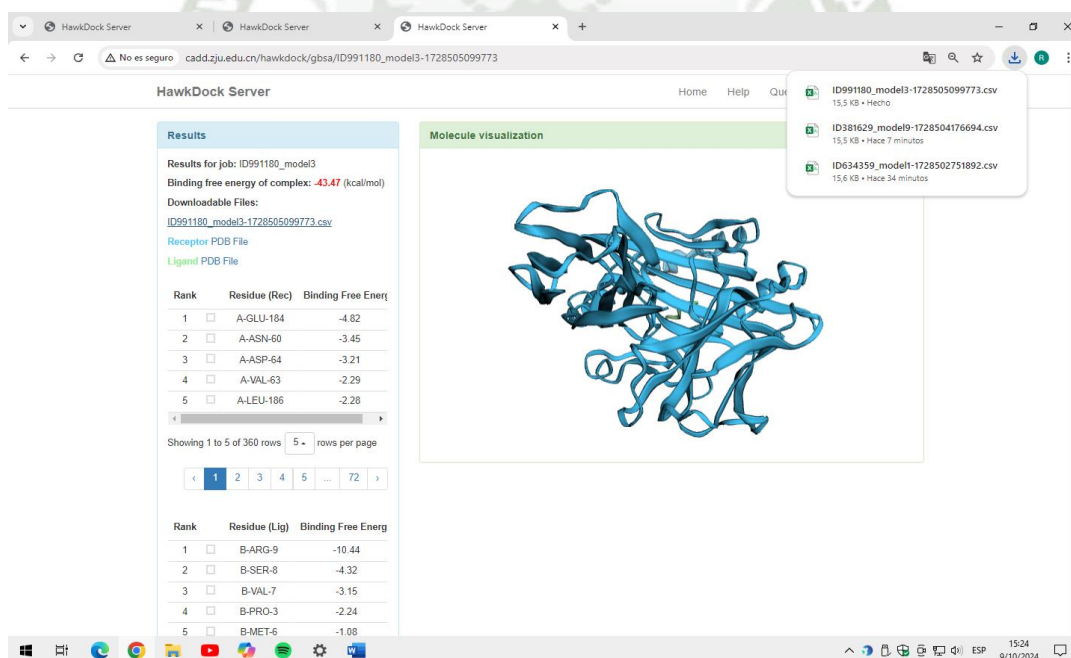
Modelado 3D de LAPENMVSR



Habiendo obtenido el modelo 3D del epítipo, se procede a realizar el Doking, es decir a acoplar dicho epítipo a la molécula de MHC1 o MHC2, en el presente trabajo, el acople se realiza a la molécula MHC2, dado que la presentación de antígenos por vía de acople a MHC2 permitirá que sean los linfocitos TCD4 quienes actúen contra el antígeno extracelular con el objetivo de poder neutralizarlo.

La mencionada operación se realizó en HawkDock Server, este software, permite determinar la afinidad en la unión de las estructuras antes mencionadas, es preciso señalar que en base a los principios de la termodinámica, cuando la unión entre dos elementos es positivo implica un gasto de energía para poder concretar la unión, por el contrario, si el valor es negativo, esto significa que la unión no requiere de energía y esta falta de requerimiento energético es mayor mientras más se aleje de la unidad 0, ya que el último valor mencionado implica un estado de equilibrio en el sistema.

Imagen 70
Doking con MHC II de LAPENMVSR



f. >EEU04035.1 DNA polymerase III, subunit gamma and tau [Eubacterium saphenum ATCC 49989]

Prosiguiendo con el estudio de los epítipos, previamente se debe de entender la naturaleza del término, un epítipo es parte de un antígeno, entendiéndose por esta toda estructura ajena al organismo que tiene la posibilidad de desencadenar una respuesta inmune, este es diferente a un inmunógeno (que es lo que se obtuvo en el presente trabajo),

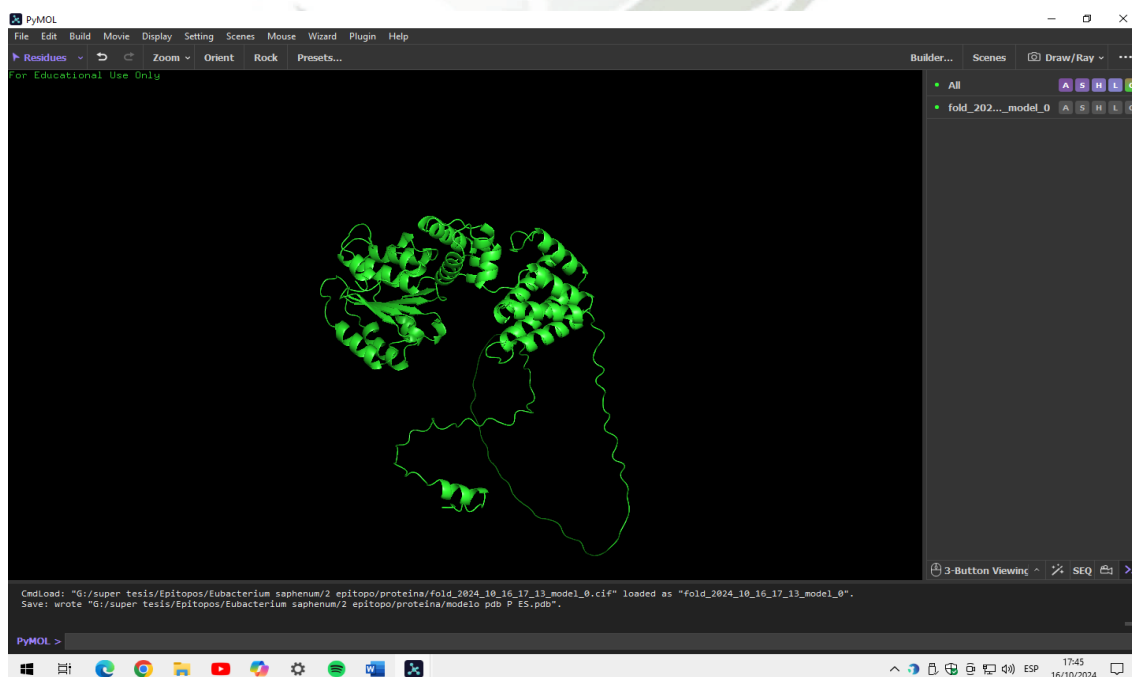
un agente ajeno al organismo que siempre va a generar una respuesta inmune, al unirse con la región variable de un anticuerpo formando el paratopo.

El procedimiento implica obtener, en primer lugar, las estructuras proteínicas de los factores de virulencia del periodonto patógenos, los cuales se pudieron conseguir con una ardua y prolongada revisión bibliográfica en plataformas de investigación científica.

>EEU04035.1 DNA polymerase III, subunit gamma and tau [Eubacterium saphenum ATCC 49989]

MQGKSNALYTRFRPNTFDEVIGQENIIKVFLNQLKAGSVSHAYLLCGIRGTGKTT
LARLMAKAVNCLDPQKKPCGACENCRSITEESHMDVIEIDAASNNGVDDVRELI
DTVAYPPSVAEKKVYIIDEVHMLSQGAFNALLKTLEPPSHVIFIFATTPNKIPKT
ILSRCMRFDLRRITESDLVKRLGFVCESSREIEEDALKLIAVNAEGSLRDALSILE
QVMAIDEGIITREDVLESLHAVGDGKIIEMDGVLSNDLEKAIVTCNNAFDDGKD
EKQFLNDLLIYLRNMMLAKVSGELDALINMHSDDINELKRQASGVSMDFIERAI
FEIVRIIDLSKGASYPRILIEAGLIKVSNCSPDKSIKKEETKPSGIKKSSNVGKNT
NDEMPVTPAETSAPVAKSQEGMAQGKSEKDTTTENNEFIFESDELSGLSISIDKLT
GKKEEKTKKRDIKDVMKEVYNIDVVEEE
ESHMDVIEIDAAS

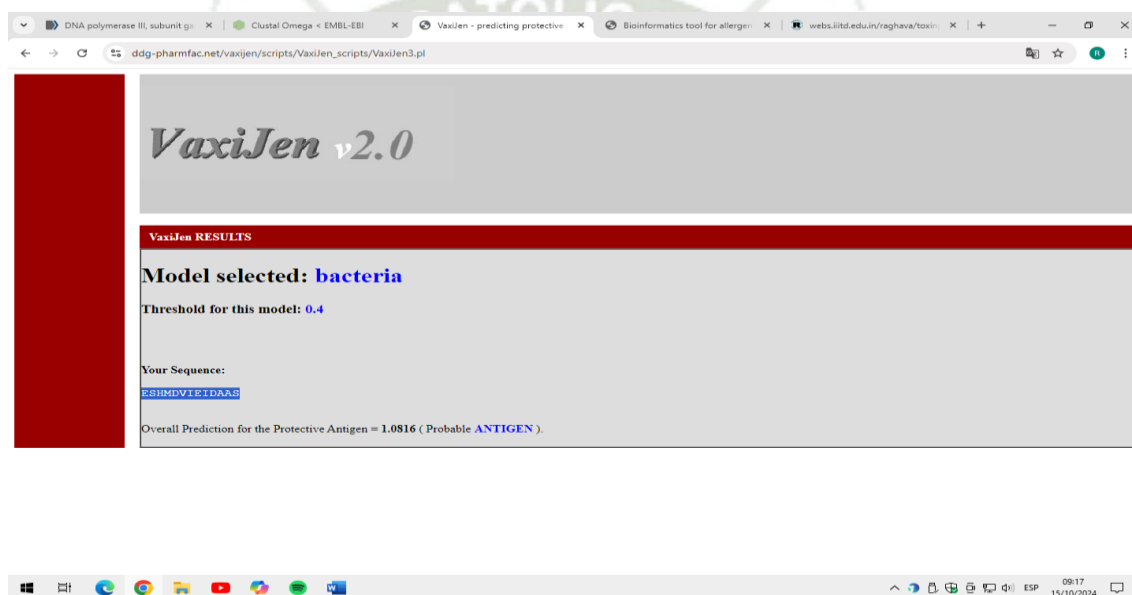
Imagen 71
Modelado 3D de DNA polymerase III, subunit gamma and tau



Posteriormente se procede a realizar el alineamiento de proteínas y encontrar estructuras comunes, de esta manera se logra obtener la secuencia de aminoácidos que constituyen el epítipo del factor de virulencia del periodontopatógenos.

Seguidamente, se procedió a llevar a cabo el testeo de dicho epítipo, en primer lugar, determinar si el mismo, realmente es un epítipo, y para ello se utilizó el servidor VAXIJEN, que por medio de un algoritmo contratado con los datos obtenidos arroja un resultado en el sentido de que si la secuencia de aminoácidos es o no es un antígeno.

Imagen 72
Prueba de antigenicidad de ESHMDVIEIDAAS



Cabe resaltar que, dichos antígenos, tienen como finalidad formar el complejo antígeno – anticuerpo, para lo cual tienen que unirse a este último, y para cumplir su función biológica deben tener afinidad por el complejo mayor de histocompatibilidad de tipo I (MHCI) o de tipo II (MHCII). En el primer caso, la unión a membrana del linfocito generara citotoxicidad, es decir, que la célula atacara y eliminara a aquellas que hayan sido infectadas o de alguna manera se hayan visto afectadas por un antígeno intracelular, por otro lado, en el segundo caso se producirá la unión a linfocitos Helper, lo que implica que la célula responderá frente a antígenos extracelulares.

El siguiente paso es llevar a cabo el testeo del posible epítipo, puesto que este debe cumplir con la particularidad de no tener potencial para generar reacciones alérgica ni tampoco debe poder ser capaz de generar efectos tóxicos, dicho testeo se llevó a cabo en el servidor AllergenFP y ToxinPred respectivamente.

Imagen 73

Prueba de alergenicidad de ESHMDVIEIDAAS

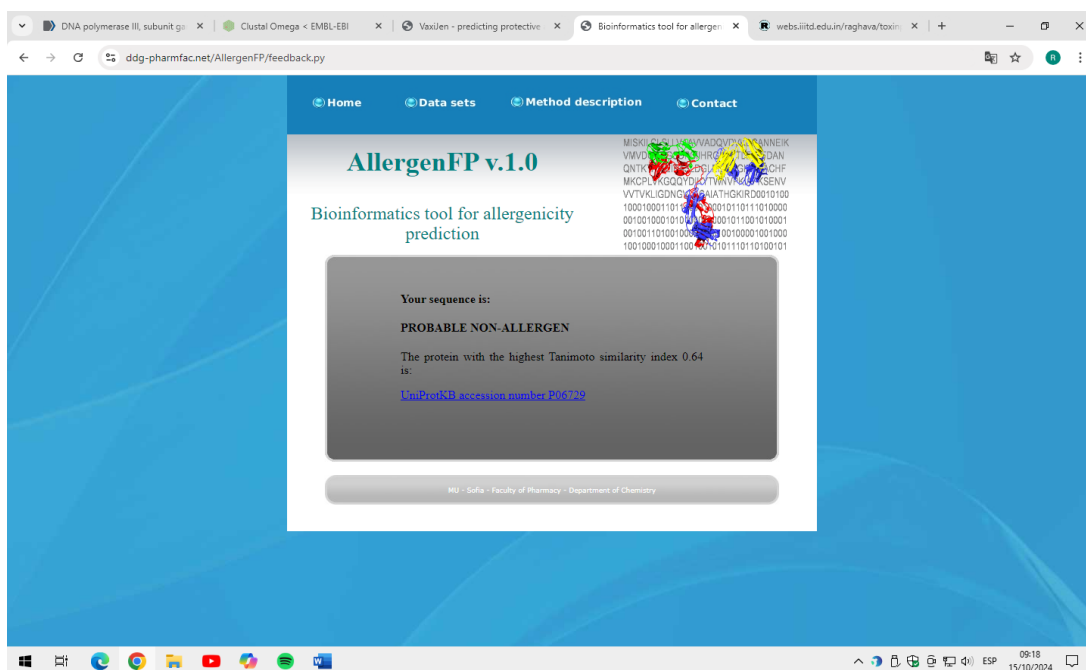
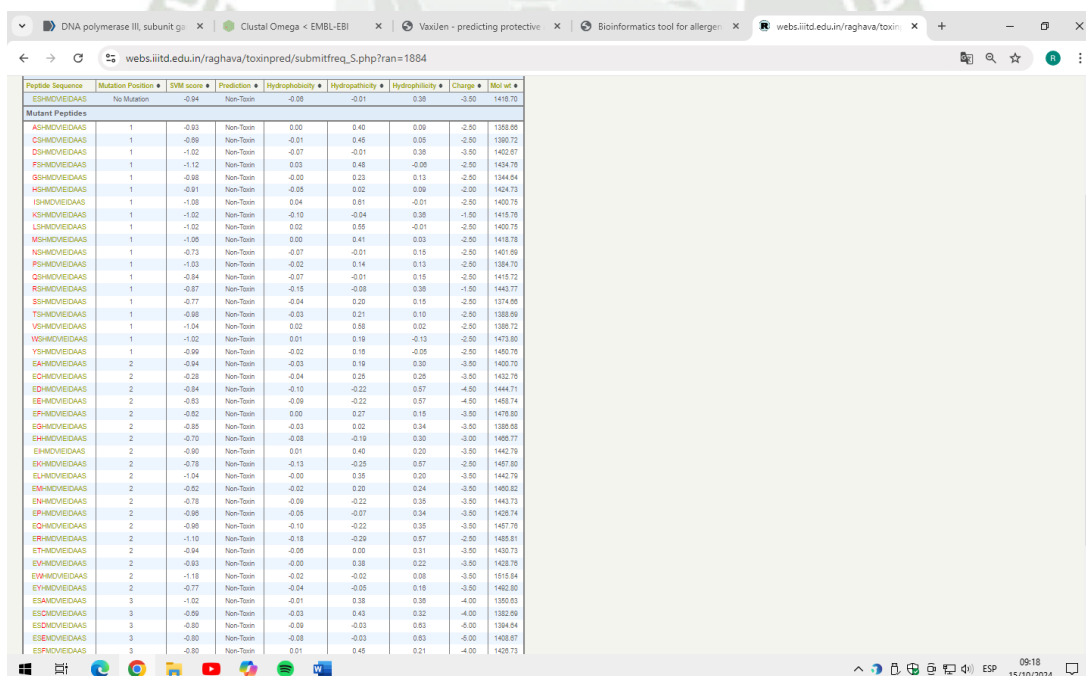


Imagen 74

Prueba de toxicidad de ESHMDVIEIDAAS

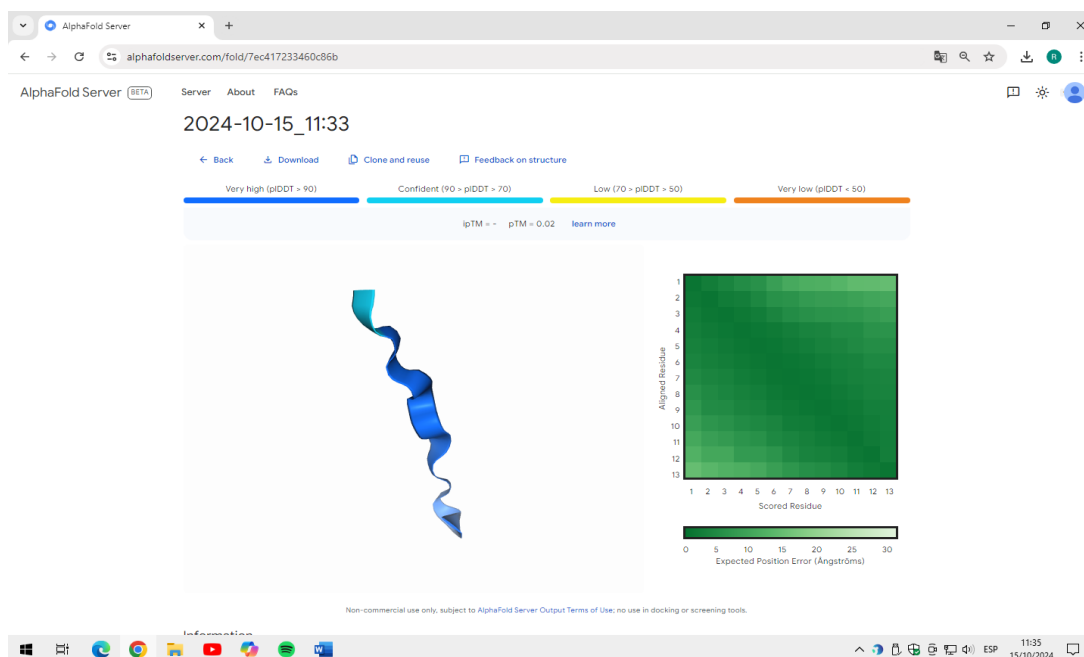


Peptide Sequence	Mutation Position	SVM score	Prediction	Hydrophobicity	Hydrophobicity	Hydrophobicity	Charge	Mol wt
ESHMDVIEIDAAS	No Mutation	-0.04	Non-Toxin	-0.08	-0.01	0.38	-0.50	1418.70
Mutant Peptides								
ASHMDVIEIDAAS	1	-0.03	Non-Toxin	0.00	0.40	0.09	-2.50	1388.05
CSHMDVIEIDAAS	1	-0.09	Non-Toxin	-0.01	0.48	0.06	-2.50	1390.72
DSHMDVIEIDAAS	1	-1.02	Non-Toxin	-0.07	-0.01	0.38	-3.00	1402.07
FSHMDVIEIDAAS	1	-1.12	Non-Toxin	0.03	0.48	-0.06	-2.50	1424.76
GSMDVIEIDAAS	1	-0.08	Non-Toxin	-0.00	0.23	0.13	-2.50	1344.04
HSMDVIEIDAAS	1	-0.01	Non-Toxin	-0.05	0.02	0.00	-2.50	1424.75
ISHMDVIEIDAAS	1	-1.08	Non-Toxin	0.04	0.01	-0.01	-2.50	1400.75
LSHMDVIEIDAAS	1	-1.02	Non-Toxin	-0.10	-0.04	0.38	-1.50	1415.76
MSHMDVIEIDAAS	1	-1.02	Non-Toxin	0.02	0.69	-0.01	-2.50	1400.75
NSHMDVIEIDAAS	1	-1.00	Non-Toxin	0.00	0.41	0.03	-2.50	1418.75
OSHMDVIEIDAAS	1	-0.73	Non-Toxin	-0.07	-0.01	0.15	-2.50	1401.09
PSHMDVIEIDAAS	1	-1.03	Non-Toxin	-0.02	0.14	0.13	-2.50	1384.70
QSHMDVIEIDAAS	1	-0.84	Non-Toxin	-0.07	-0.01	0.15	-2.50	1415.72
RSMDVIEIDAAS	1	-0.87	Non-Toxin	-0.15	-0.03	0.38	-1.50	1443.77
SSHMDVIEIDAAS	1	-0.77	Non-Toxin	-0.04	0.20	0.15	-2.50	1374.89
TSMDVIEIDAAS	1	-0.66	Non-Toxin	-0.03	0.21	0.10	-2.50	1338.09
USHMDVIEIDAAS	1	-1.04	Non-Toxin	0.02	0.68	0.02	-2.50	1386.72
WSHMDVIEIDAAS	1	-1.02	Non-Toxin	0.01	0.19	-0.13	-2.50	1473.80
YSHMDVIEIDAAS	1	-0.99	Non-Toxin	-0.02	0.18	-0.05	-2.50	1400.75
ZSHMDVIEIDAAS	2	-0.04	Non-Toxin	-0.03	0.19	0.30	-3.50	1402.75
ASHMDVIEIDAAS	2	-0.28	Non-Toxin	-0.04	0.25	0.25	-3.50	1432.76
BSHMDVIEIDAAS	2	-0.84	Non-Toxin	-0.10	-0.22	0.57	-4.50	1444.71
CSHMDVIEIDAAS	2	-0.63	Non-Toxin	-0.09	-0.22	0.57	-4.50	1469.74
DSHMDVIEIDAAS	2	-0.88	Non-Toxin	0.00	0.27	0.15	-3.50	1478.80
ESHMDVIEIDAAS	2	-0.82	Non-Toxin	-0.03	0.02	0.34	-3.50	1388.09
FSHMDVIEIDAAS	2	-0.70	Non-Toxin	-0.08	-0.19	0.30	-3.00	1405.77
GSMDVIEIDAAS	2	-0.60	Non-Toxin	0.01	0.40	0.20	-3.50	1442.79
HSMDVIEIDAAS	2	-0.78	Non-Toxin	-0.13	-0.25	0.57	-2.50	1457.80
ISHMDVIEIDAAS	2	-1.04	Non-Toxin	-0.09	0.35	0.20	-3.50	1442.79
LSHMDVIEIDAAS	2	-0.62	Non-Toxin	-0.02	0.20	0.24	-3.50	1400.82
MSHMDVIEIDAAS	2	-0.78	Non-Toxin	-0.09	-0.22	0.35	-3.50	1443.73
NSHMDVIEIDAAS	2	-0.98	Non-Toxin	-0.05	-0.07	0.34	-3.50	1429.74
OSHMDVIEIDAAS	2	-0.88	Non-Toxin	-0.10	-0.22	0.35	-3.50	1457.78
PSHMDVIEIDAAS	2	-1.10	Non-Toxin	-0.18	-0.29	0.97	-2.50	1405.81
QSHMDVIEIDAAS	2	-0.04	Non-Toxin	-0.06	0.00	0.31	-3.50	1430.73
RSMDVIEIDAAS	2	-0.63	Non-Toxin	-0.00	0.38	0.22	-3.50	1428.75
SSHMDVIEIDAAS	2	-1.18	Non-Toxin	-0.02	-0.02	0.08	-3.50	1515.84
TSMDVIEIDAAS	2	-0.77	Non-Toxin	-0.04	-0.05	0.16	-3.50	1462.80
USMDVIEIDAAS	3	-1.02	Non-Toxin	-0.01	0.38	0.38	-4.00	1350.83
VSMDVIEIDAAS	3	-0.69	Non-Toxin	-0.03	0.43	0.32	-4.00	1382.89
WSMDVIEIDAAS	3	-0.80	Non-Toxin	-0.09	-0.03	0.63	-4.00	1384.84
XSHMDVIEIDAAS	3	-0.80	Non-Toxin	-0.08	-0.03	0.63	-3.50	1408.87
YSHMDVIEIDAAS	3	-0.80	Non-Toxin	0.01	0.45	0.21	-4.00	1420.73

Una vez completado el testeo y abiendo optenido un epitopo optimo, se procede a realizar el plegado de la estructura para lo cual se utilizo el algoritmo de AlphaFold Server, como resultado se obtiene modelos 3D de la estructura en cuestion en formato CIF.

Imagen 75

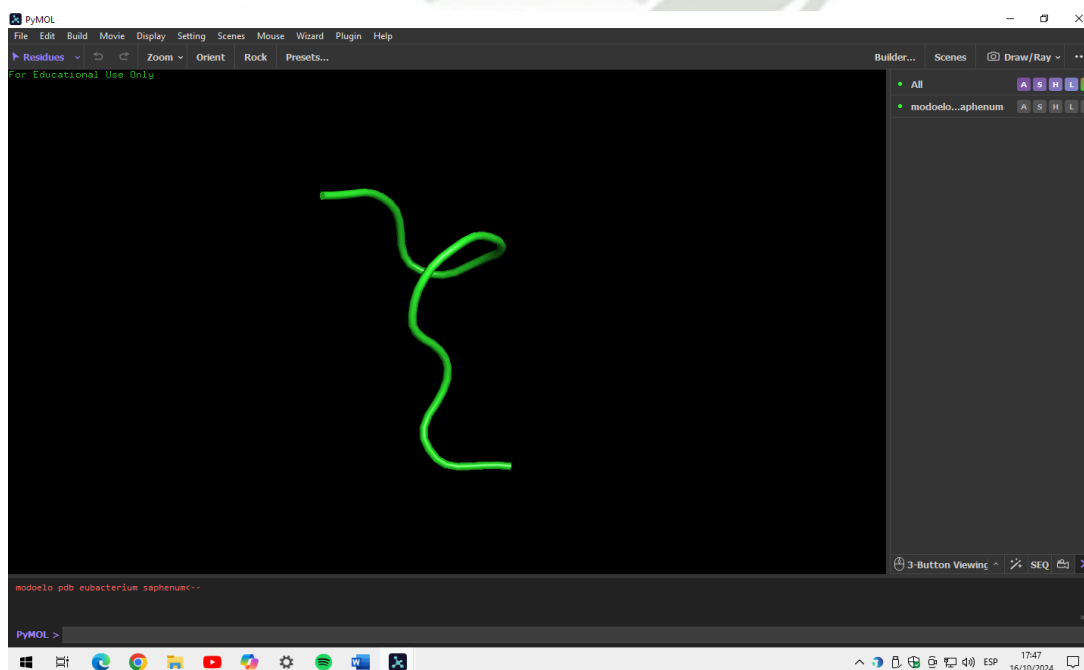
Plegado de ESHMDVIEIDAAS



De los modelos proporcionados por AlphaFold Server, se elige el más óptimo, en relación a la estructura tridimensional, el mismo se procede a someterlo a un programa especializado en la generación de modelos 3D de estructuras proteínicas. El software PyMOL; este convierte el archivo CIF antes mencionado en un archivo de tipo PDB.

Imagen 76

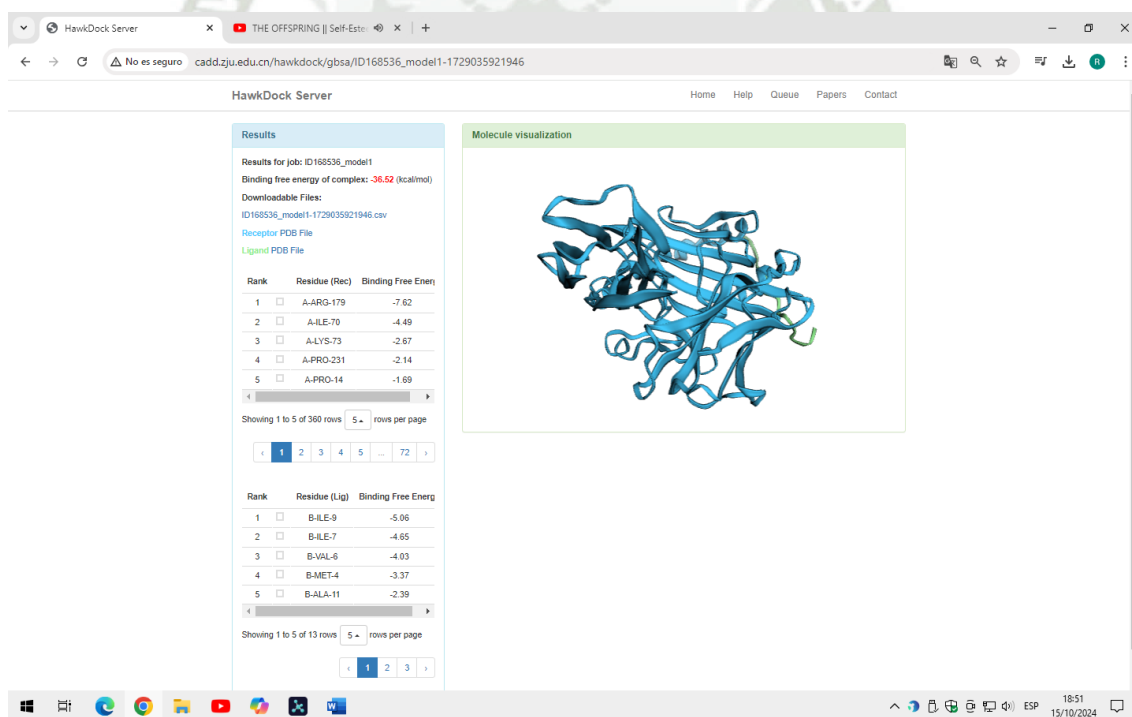
Modelado 3d de ESHMDVIEIDAAS



Habiendo obtenido el modelo 3D del epítipo, se procede a realizar el Doking, es decir a acoplar dicho epítipo a la molécula de MHC1 o MHC2, en el presente trabajo, el acople se realiza a la molécula MHC2, dado que la presentación de antígenos por vía de acople a MHC2 permitirá que sean los linfocitos TCD4 quienes actúen contra el antígeno extracelular con el objetivo de poder neutralizarlo.

La mencionada operación se realizó en HawkDock Server, este software, permite determinar la afinidad en la unión de las estructuras antes mencionadas, es preciso señalar que en base a los principios de la termodinámica, cuando la unión entre dos elementos es positivo implica un gasto de energía para poder concretar la unión, por el contrario, si el valor es negativo, esto significa que la unión no requiere de energía y esta falta de requerimiento energético es mayor mientras más se aleje de la unidad 0, ya que el último valor mencionado implica un estado de equilibrio en el sistema.

Imagen 77
Doking con MHCII de ESHMDVIEIDAAS



g. >WP_314025063.1 transglycosylase SLT domain-containing protein [Filifactor alocis]

Continuando con el estudio de los epítipos, previamente se debe de entender la naturaleza del término, un epítipo es parte de un antígeno, entendiéndose por esta toda estructura

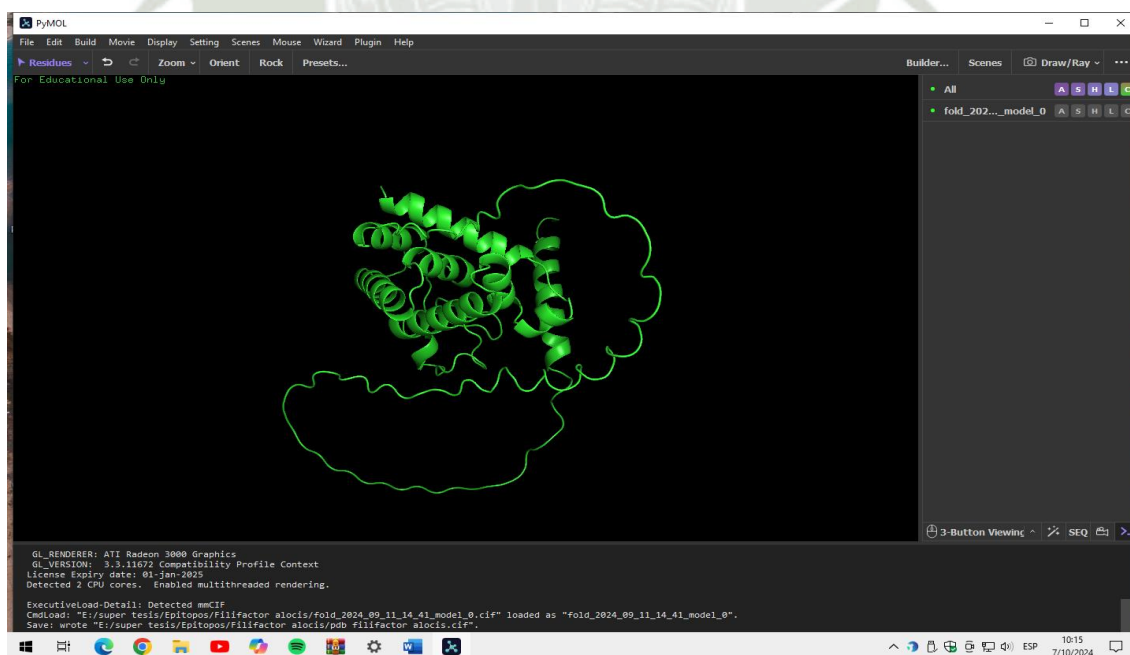
ajena al organismo que tiene la posibilidad de desencadenar una respuesta inmune, este es diferente a un inmunógeno (que es lo que se obtuvo en el presente trabajo), un agente ajeno al organismo que siempre va a generar una respuesta inmune, al unirse con la región variable de un anticuerpo formando el paratopo.

El procedimiento implica obtener, en primer lugar, las estructuras proteínicas de los factores de virulencia del periodonto patógenos, los cuales se pudieron conseguir con una ardua y prolongada revisión bibliográfica en plataformas de investigación científica.

>WP_314025063.1 transglycosylase SLT domain-containing protein [Filifactor alocis]

MKKYSLIIFCFIVFSMFQVVAEDNIMEEASTLGNKEIVTQTENKGEGSKLEIKD
EKLPLDFYEAKSSVENQVTEQNMTSVAEEKKSTASKKEESKKATTQKVIVNNK
GYLQFIAKKNPKLSAQQRELIVSSVEKAAKKYNVRSSMIMAVMWKESTFQPNT
KTGPCHGLMQLHHSYCGLSKSEIYDIEKNILQGTRELSSNLKKYGGNEVMALT
AYNVGVGNVARGNYQTVYAKNVLAKEQNIIAFARK
KEESKKATTQKVIVN

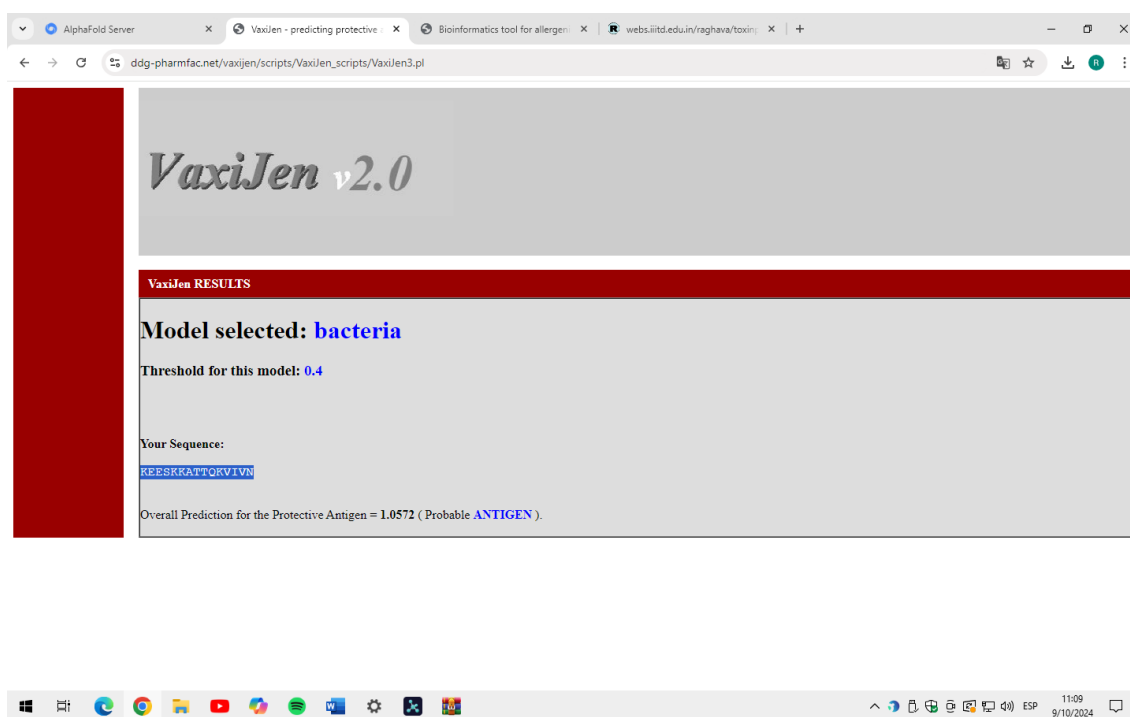
Imagen 78
Modelado 3D de transglycosylase SLT domain-containing protein



Posteriormente se procede a realizar el alineamiento de proteínas y encontrar estructuras comunes, de esta manera se logra obtener la secuencia de aminoácidos que constituyen el epítipo del factor de virulencia del periodontopatógenos.

Seguidamente, se procedió a llevar a cabo el testeo de dicho epítopo, en primer lugar, determinar si el mismo, realmente es un epítopo, y para ello se utilizó el servidor VAXIJEN, que por medio de un algoritmo contratado con los datos obtenidos arroja un resultado en el sentido de que si la secuencia de aminoácidos es o no es un antígeno.

Imagen 79
Prueba de antigenicidad de KEESKKATTQKVIVN



Cabe resaltar que, dichos antígenos, tienen como finalidad formar el complejo antígeno – anticuerpo, para lo cual tienen que unirse a este último, y para cumplir su función biológica deben tener afinidad por el complejo mayor de histocompatibilidad de tipo I (MHCI) o de tipo II (MHCII). En el primer caso, la unión a membrana del linfocito generara citotoxicidad, es decir, que la célula atacara y eliminara a aquellas que hayan sido infectadas o de alguna manera se hayan visto afectadas por un antígeno intracelular, por otro lado, en el segundo caso se producirá la unión a linfocitos Helper, lo que implica que la célula responderá frente a antígenos extracelulares.

El siguiente paso es llevar a cabo el testeo del posible epítopo, puesto que este debe cumplir con la particularidad de no tener potencial para generar reacciones alérgica ni tampoco debe poder ser capaz de generar efectos tóxicos, dicho testeo se llevó a cabo en el servidor AllergenFP y ToxinPred respectivamente.

Imagen 80

Prueba de alergenicidad de KEESKKATTQKVIVN

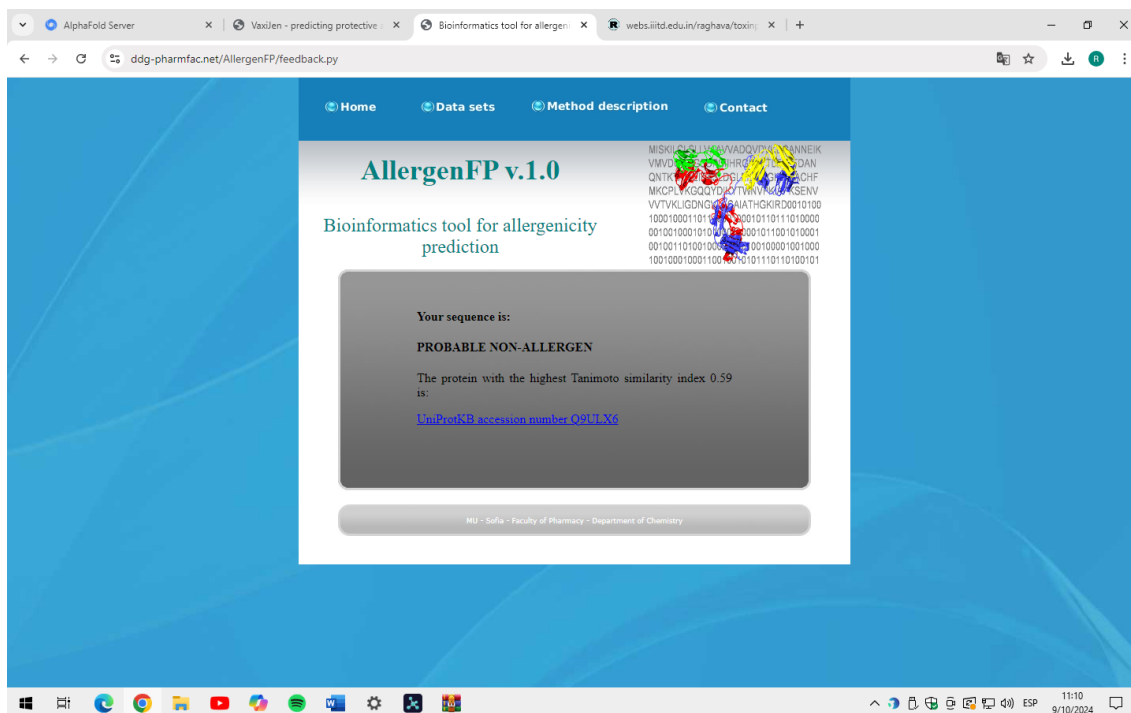
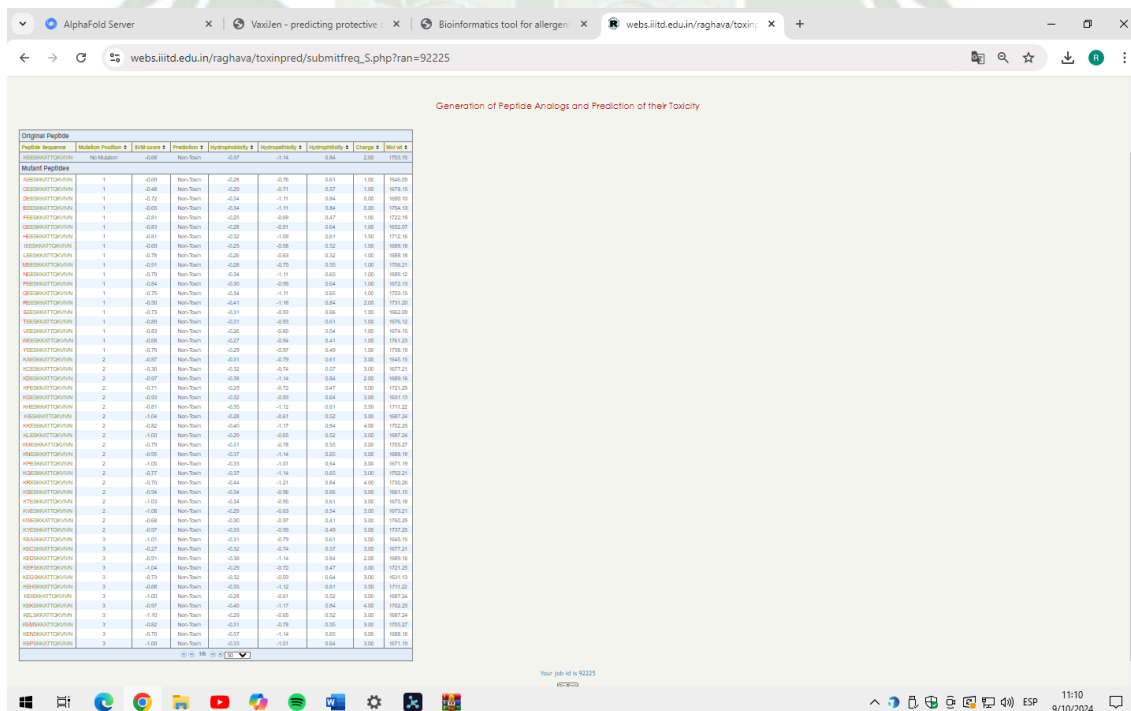


Imagen 81

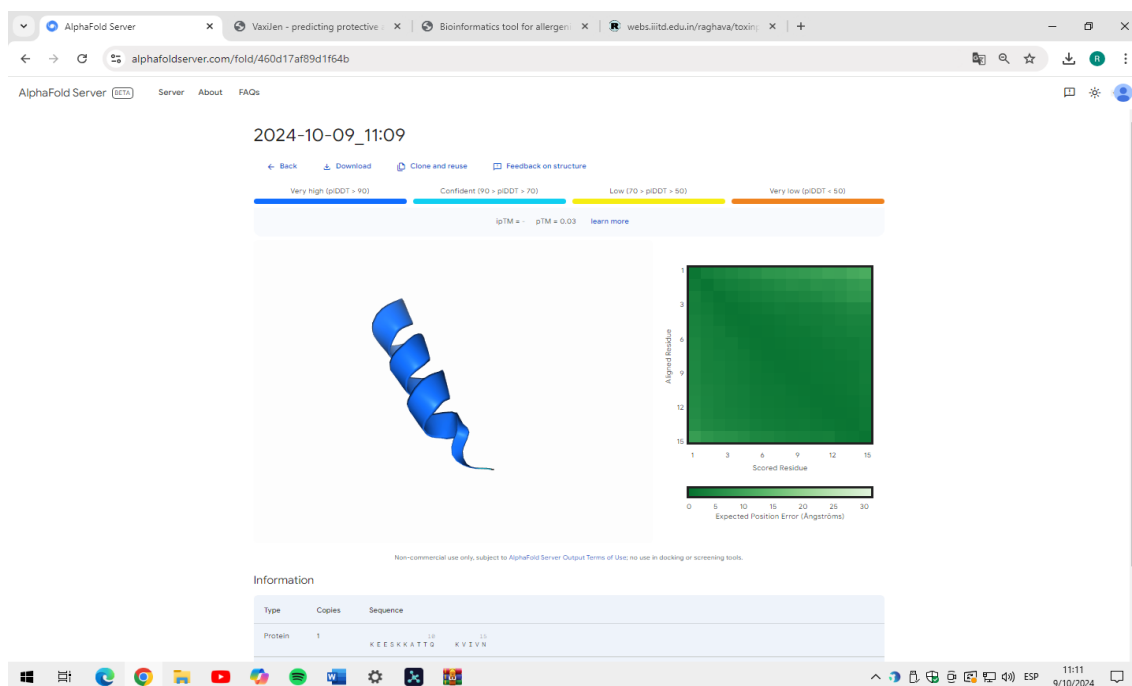
Prueba de toxicidad de KEESKKATTQKVIVN



Una vez completado el testeo y abiendo optenido un epitopo optimo, se procede a realizar el plegado de la estructura para lo cual se utilizo el algoritmo de AlphaFold Server, como resultado se obtiene modelos 3d de la estructura en cuestion en formato CIF.

Imagen 82

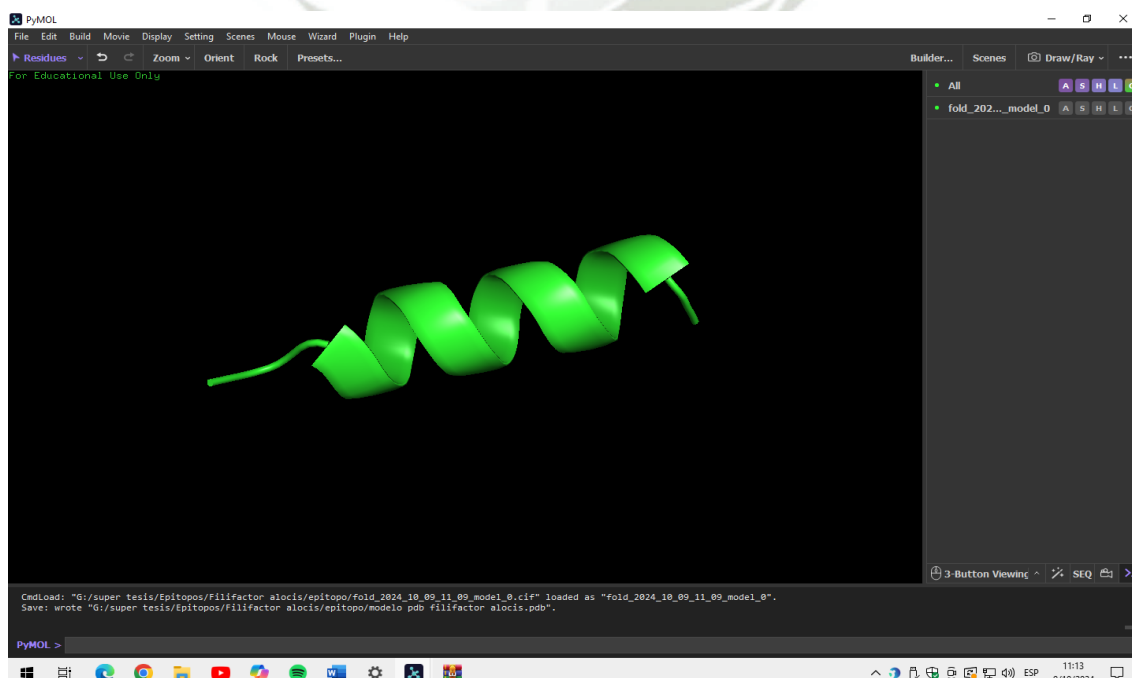
Plegado de KEESKKATTQKVIVN



De los modelos proporcionados por AlphaFold Server, se elige el más óptimo, en relación a la estructura tridimensional, el mismo se procede a someterlo a un programa especializado en la generación de modelos 3D de estructuras proteínicas. El software PyMOL; este convierte el archivo CIF antes mencionado en un archivo de tipo PDB.

Imagen 83

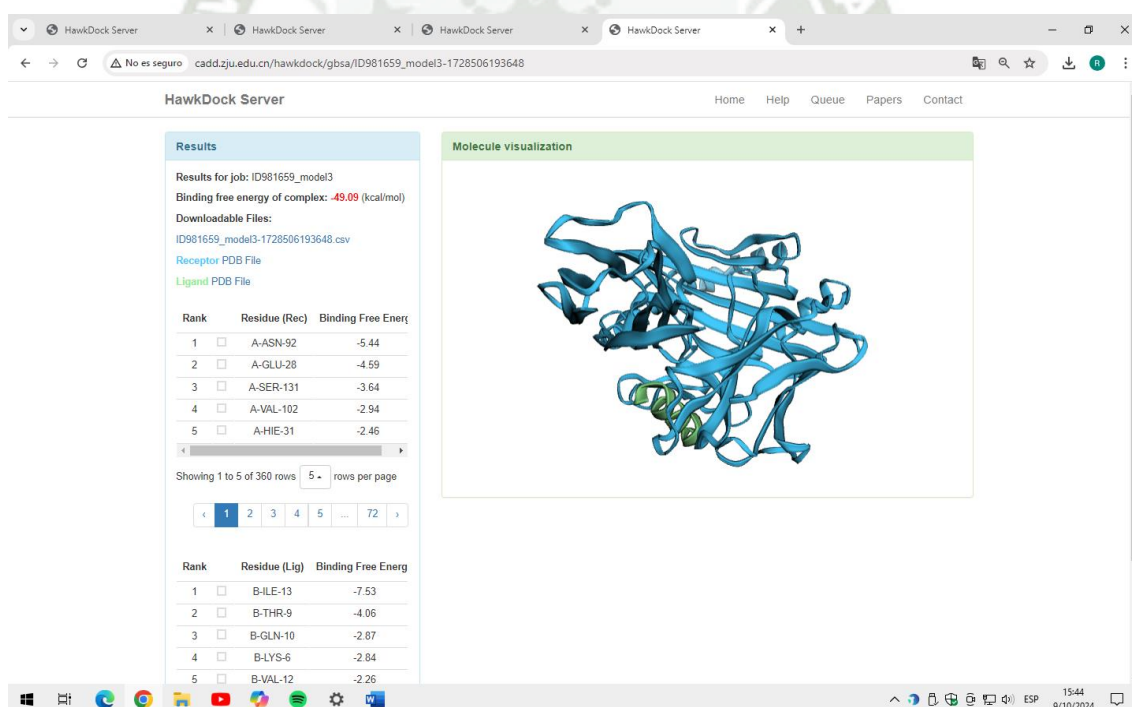
Modelado 3D de KEESKKATTQKVIVN



Habiendo obtenido el modelo 3D del epítipo, se procede a realizar el Doking, es decir a acoplar dicho epítipo a la molécula de MHC1 o MHC2, en el presente trabajo, el acople se realiza a la molécula MHC2, dado que la presentación de antígenos por vía de acople a MHC2 permitirá que sean los linfocitos TCD4 quienes actúen contra el antígeno extracelular con el objetivo de poder neutralizarlo.

La mencionada operación se realizó en HawkDock Server, este software, permite determinar la afinidad en la unión de las estructuras antes mencionadas, es preciso señalar que en base a los principios de la termodinámica, cuando la unión entre dos elementos es positivo implica un gasto de energía para poder concretar la unión, por el contrario, si el valor es negativo, esto significa que la unión no requiere de energía y esta falta de requerimiento energético es mayor mientras más se aleje de la unidad 0, ya que el ultimo valor mencionado implica un estado de equilibrio en el sistema.

Imagen 84
Doking con MHC II de KEESKKATTQKVIVN



h. >WP_314882123.1 DUF6630 family protein [Filifactor alocis]

Prosiguiendo con el estudio de los epítipos, previamente se debe de entender la naturaleza del término, un epítipo es parte de un antígeno, entendiéndose por esta toda estructura ajena al organismo que tiene la posibilidad de desencadenar una respuesta inmune, este es diferente a un inmunógeno (que es lo que se obtuvo en el presente trabajo),

un agente ajeno al organismo que siempre va a generar una respuesta inmune, al unirse con la región variable de un anticuerpo formando el paratopo.

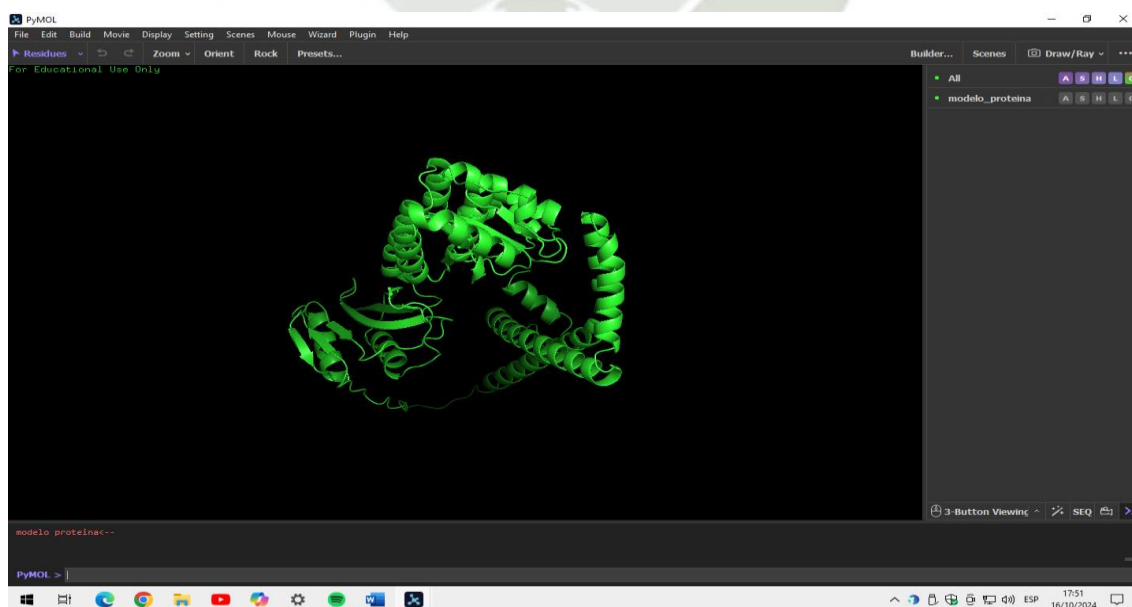
El procedimiento implica obtener, en primer lugar, las estructuras proteínicas de los factores de virulencia del periodonto patógenos, los cuales se pudieron conseguir con una ardua y prolongada revisión bibliográfica en plataformas de investigación científica.

>WP_314882123.1 DUF6630 family protein [Filifactor alocis]

MTKEERAEEKWFEKISDSSESISLEKKMEICHKAAIGMVVIFFGIYIIERFLLYKLTD
GQLFYYMADILNTMSKDVHTRNQYRGLAIVGGVMVLPLMIVPFFATMLFKKQ
YIKYQVEKLKDTMKVNGSRSEVYSGPSTKKEQKKDFNCSDWVLDVDGTEQDG
FTEKELKQQLESIQKGDIDFIILTPPEPIRIQTVGCLCNFIQVCQDKDSNYFHLEVG
TVSEKRNDILIYGKDGLAEDETMAIFRKVIDYSTSFDVKEWEVVLDTGTNSDV
ESYRKMVALLTENTEVRSNLEFCLESPQQYYKEKADIYEERCIDGNQEDKTIWI
GMVDEMLSGNEAIELDWKTDAEDFFYEMKSLANRHRLEIQEDWFKKDDDIPT
WCEVLDEKWMDKDFCVGGMDIDSDSYVLFVCQAEVLKQLSELGQQVGQRFD
FAKNM

LESIQKGDIDFIILTP

Imagen 85
Modelado 3D de DUF6630 family protein

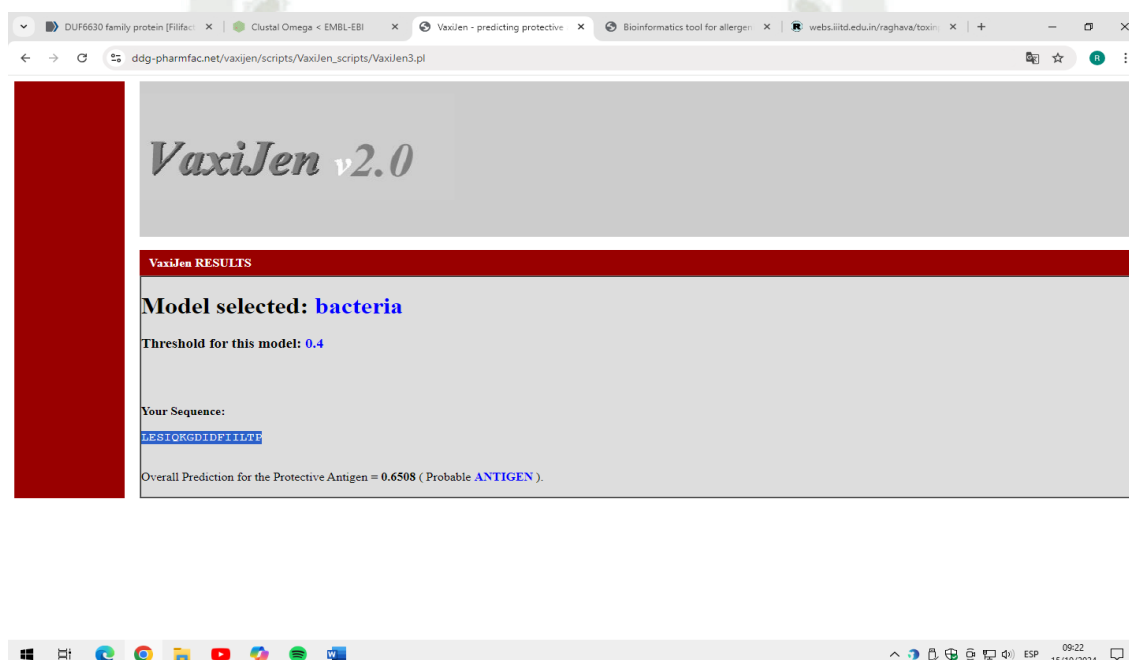


Posteriormente se procede a realizar el alineamiento de proteínas y encontrar estructuras comunes, de esta manera se logra obtener la secuencia de aminoácidos que constituyen el

epítopo del factor de virulencia del periodontopatógenos.

Seguidamente, se procedió a llevar a cabo el testeo de dicho epítopo, en primer lugar, determinar si el mismo, realmente es un epítopo, y para ello se utilizó el servidor VAXIJEN, que por medio de un algoritmo contratado con los datos obtenidos arroja un resultado en el sentido de que si la secuencia de aminoácidos es o no es un antígeno.

Imagen 86
Prueba de antigenicidad de LESIQKGDIDFIILTP



Cabe resaltar que, dichos antígenos, tienen como finalidad formar el complejo antígeno – anticuerpo, para lo cual tienen que unirse a este último, y para cumplir su función biológica deben tener afinidad por el complejo mayor de histocompatibilidad de tipo I (MHCI) o de tipo II (MHCII). En el primer caso, la unión a membrana del linfocito generara citotoxicidad, es decir, que la célula atacara y eliminara a aquellas que hayan sido infectadas o de alguna manera se hayan visto afectadas por un antígeno intracelular, por otro lado, en el segundo caso se producirá la unión a linfocitos Helper, lo que implica que la célula responderá frente a antígenos extracelulares.

El siguiente paso es llevar a cabo el testeo del posible epítopo, puesto que este debe cumplir con la particularidad de no tener potencial para generar reacciones alérgicas ni tampoco debe poder ser capaz de generar efectos tóxicos, dicho testeo se llevó a cabo en el servidor AllergenFP y ToxinPred respectivamente.



Una vez completado el testeo y habiendo obtenido un epitopo optimo, se procede a realizar el plegado de la estructura para lo cual se utilizo el algoritmo de AlphaFold Server, como resultado se obtiene modelos 3D de la estructura en cuestion en formato CIF.

Imagen 89

Plegado de LESIQKGDIDFIILTP

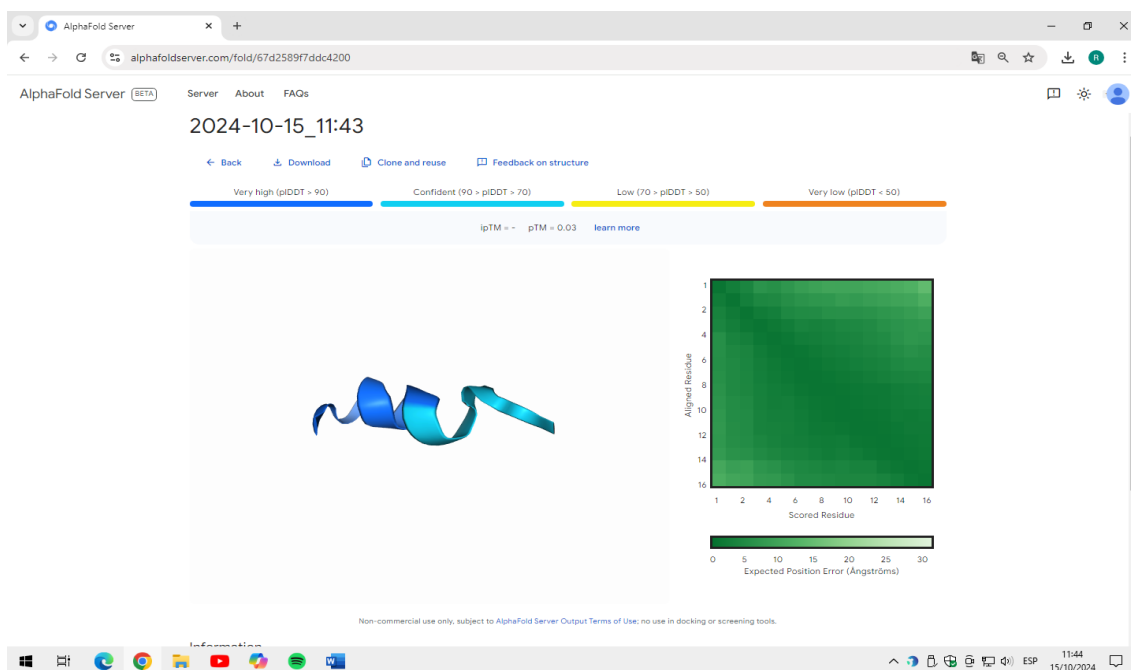
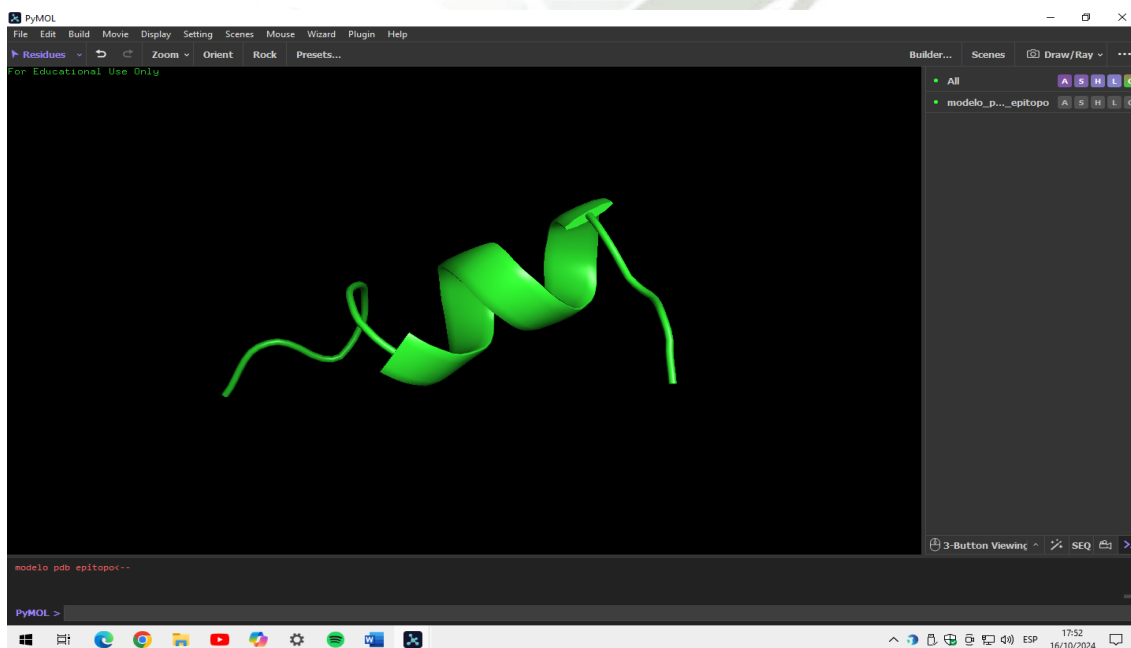


Imagen 90

Modelado 3D de LESIQKGDIDFIILTP

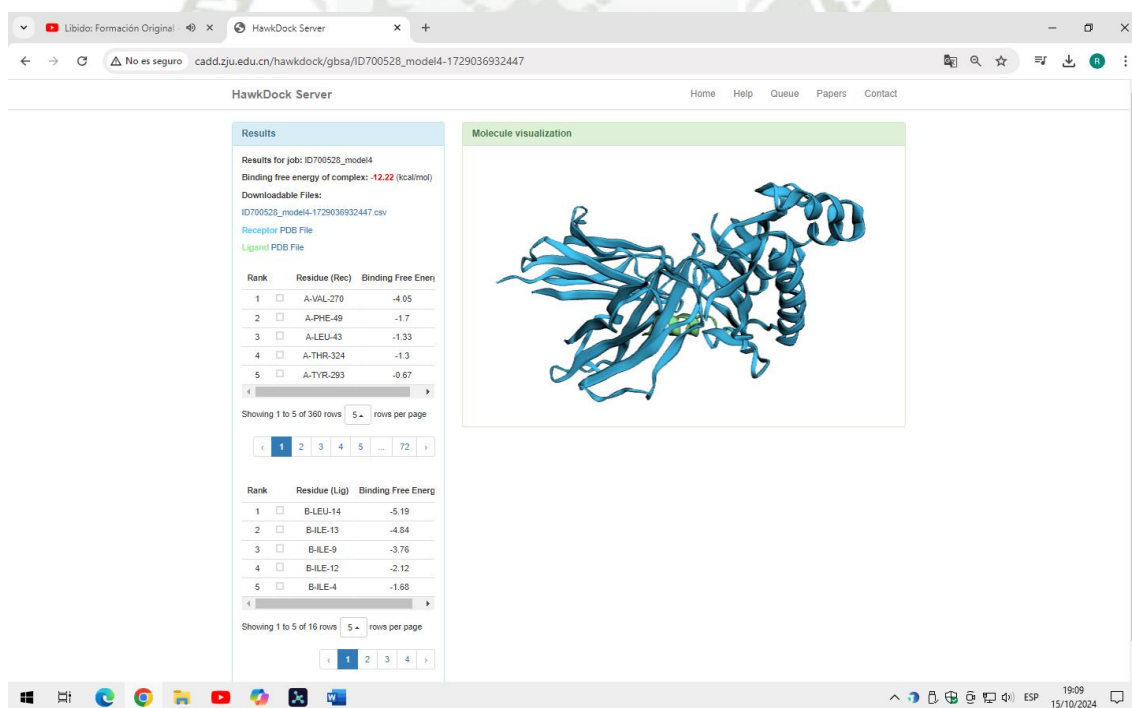
De los modelos proporcionados por AlphaFold Server, se elige el más óptimo, en relación a la estructura tridimensional, el mismo se procede a someterlo a un programa especializado en la generación de modelos 3D de estructuras proteínicas. El software PyMOL; este convierte el archivo CIF antes mencionado en un archivo de tipo PDB.



Habiendo obtenido el modelo 3D del epítopo, se procede a realizar el Doking, es decir a acoplar dicho epítopo a la molécula de MHC1 o MHC2, en el presente trabajo, el acople se realiza a la molécula MHC2, dado que la presentación de antígenos por vía de acople a MHC2 permitirá que sean los linfocitos TCD4 quienes actúen contra el antígeno extracelular con el objetivo de poder neutralizarlo.

La mencionada operación se realizó en HawkDock Server, este software, permite determinar la afinidad en la unión de las estructuras antes mencionadas, es preciso señalar que en base a los principios de la termodinámica, cuando la unión entre dos elementos es positivo implica un gasto de energía para poder concretar la unión, por el contrario, si el valor es negativo, esto significa que la unión no requiere de energía y esta falta de requerimiento energético es mayor mientras más se aleje de la unidad 0, ya que el último valor mencionado implica un estado de equilibrio en el sistema.

Imagen 91
Doking con MHC II de LESIQKGDIDFIHLP



i. >CBL29051.1 ATPases with chaperone activity, ATP-binding subunit [Fretibacterium fastidiosum]

Prosiguiendo con el estudio de los epítomos, previamente se debe de entender la naturaleza del término, un epítopo es parte de un antígeno, entendiéndose por esta toda estructura ajena al organismo que tiene la posibilidad de desencadenar una respuesta

inmune, este es diferente a un inmunógeno (que es lo que se obtuvo en el presente trabajo), un agente ajeno al organismo que siempre va a generar una respuesta inmune, al unirse con la región variable de un anticuerpo formando el paratopo.

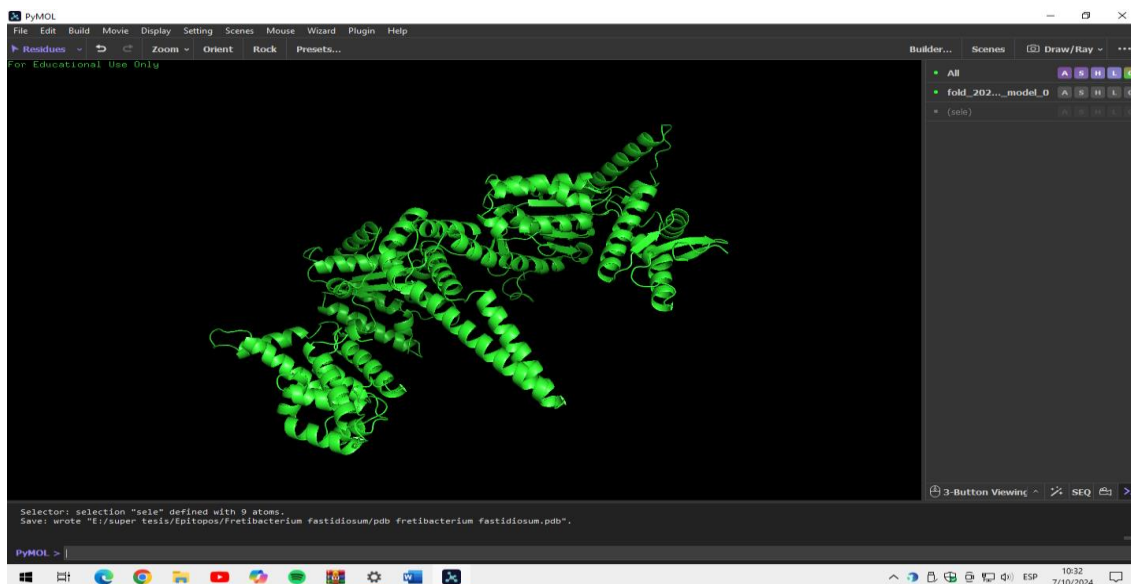
El procedimiento implica obtener, en primer lugar, las estructuras proteínicas de los factores de virulencia del periodonto patógenos, los cuales se pudieron conseguir con una ardua y prolongada revisión bibliográfica en plataformas de investigación científica.

>CBL29051.1 ATPases with chaperone activity, ATP-binding subunit [Fretibacterium fastidiosum]

MWQFFTERGKRVIQLAHHEALQMGHMVEPEHLLVGLAQEGGGIACRALIELD
VSPERLCTHIREIMGRSQPASRPIDLPLSPRMKRALELSMVEARKMGVNYVDTE
HILLGVLADESSMVVQHFLTMGITREAVLKQVTTIIEASAVSAGGGQGQNVELL
TDRLKRQSRSTPTLDQLGVDLTRKARDGELDPVIGREREIRRVIQALCRRTKS
NPVLIGDPGVGKTAIVEGLAQKIASGAAPDPLREKRRIQLNTANLVAGTKYRGEF
EERLRRIVKELSDSGEVILFVDEVHTIVGAGSAEGAMDAANILKPSLSRGKFQMI
GATTQAEYHKYVERDSALERRFQPILIEEPGIEDSVSILRGLRDRYEEHHQVTFT
NDALQAAASLSSRYVQDRFLPDKGIDLIDEAGARTLRSLDPPESVRELERRLA
DTQRQKEEAVLNQQFERAAQLRDEEHALADQLEAAMEEWRSRSEARVEVTG
EDIAEVVAEMTGIPVKQLTETETERLLRMEDEISSRLIGQDEAVSAVARAIRRAR
TGLHDPRRPIGSFLFMGPTGVGKTELARCLARFLFGREDAMIRIDMSEFMEKHE
VSKLLGAPPGYVGHESSGGKLTEAVRRRPYSVILFDEIEKAHADEVYNVLLQILDD
GHLTDGQGRRVDFRNTVIIMTSNVGAKEAQQGSALGFGSAEASEQRNWEHQK
AVIMEEAQRTRPEFLNRIDEMAVFRPLSRDSLLRIVDAMLAEIDGRLKGQGLS
LDVSVGAKKEKILEKGFKPKYGARPLRRAIQSLLEDRLADSLLARKFADGTRIDV
DVEDGELRLAPHGAKD

PRMKRALELS

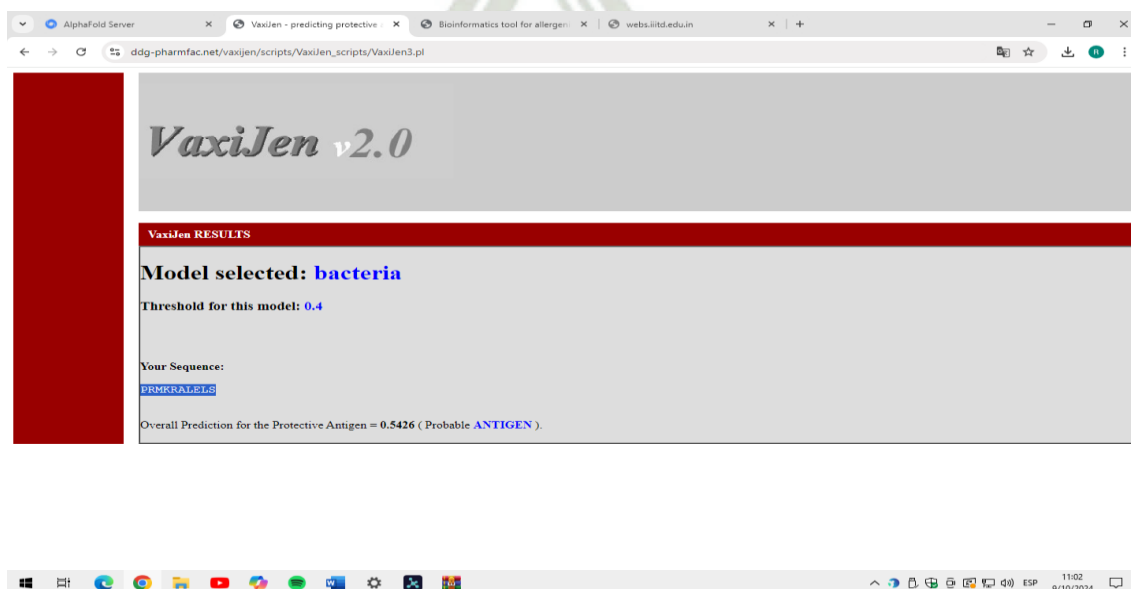
Imagen 92
Modelado 3D de ATPases with chaperone activity, ATP-binding subunit



Posteriormente se procede a realizar el alineamiento de proteínas y encontrar estructuras comunes, de esta manera se logra obtener la secuencia de aminoácidos que constituyen el epítipo del factor de virulencia del periodontopatógenos.

Seguidamente, se procedió a llevar a cabo el testeo de dicho epítipo, en primer lugar, determinar si el mismo, realmente es un epítipo, y para ello se utilizó el servidor VAXIJEN, que por medio de un algoritmo contratado con los datos obtenidos arroja un resultado en el sentido de que si la secuencia de aminoácidos es o no es un antígeno.

Imagen 93
Prueba de Antigenicidad de PRMKRALELS



Cabe resaltar que, dichos antígenos, tienen como finalidad formar el complejo antígeno – anticuerpo, para lo cual tienen que unirse a este último, y para cumplir su función biológica deben tener afinidad por el complejo mayor de histocompatibilidad de tipo I (MHCI) o de tipo II (MHCII). En el primer caso, la unión a membrana del linfocito generara citotoxicidad, es decir, que la célula atacara y eliminara a aquellas que hayan sido infectadas o de alguna manera se hayan visto afectadas por un antígeno intracelular, por otro lado, en el segundo caso se producirá la unión a linfocitos Helper, lo que implica que la célula responderá frente a antígenos extracelulares.

El siguiente paso es llevar a cabo el testeo del posible epítipo, puesto que este debe cumplir con la particularidad de no tener potencial para generar reacciones alérgicas ni tampoco debe poder ser capaz de generar efectos tóxicos, dicho testeo se llevó a cabo en el servidor AllergenFP y ToxinPred respectivamente.

Imagen 94
Prueba de alergenidad de PRMKRALELS

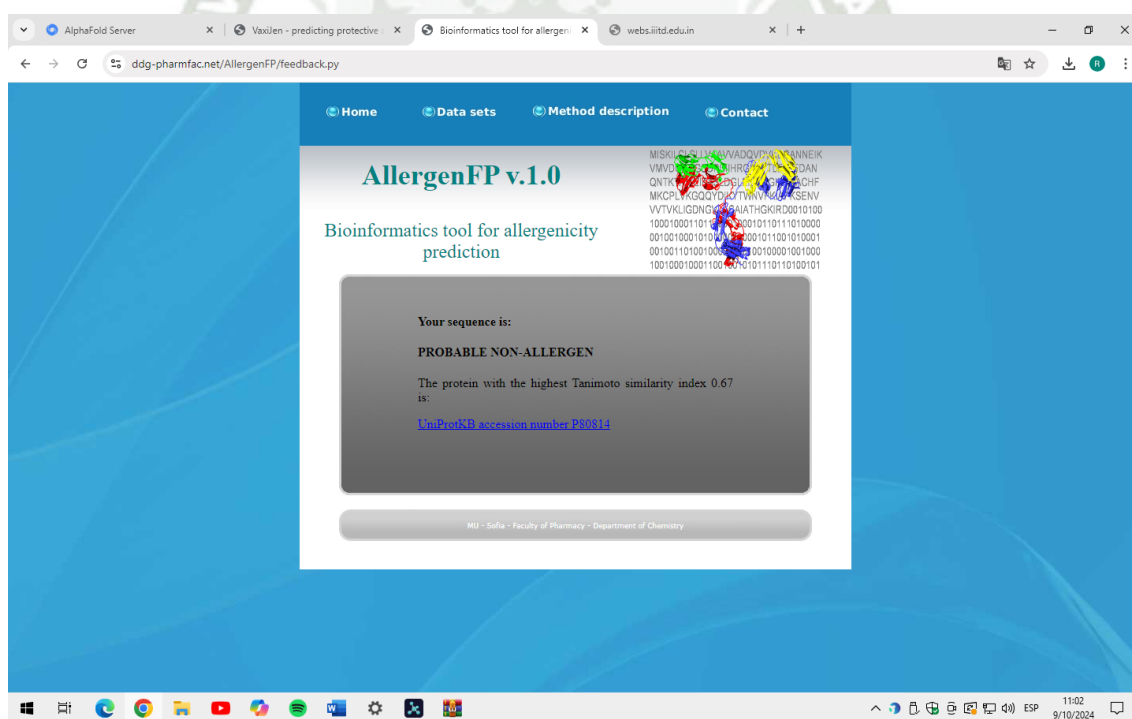
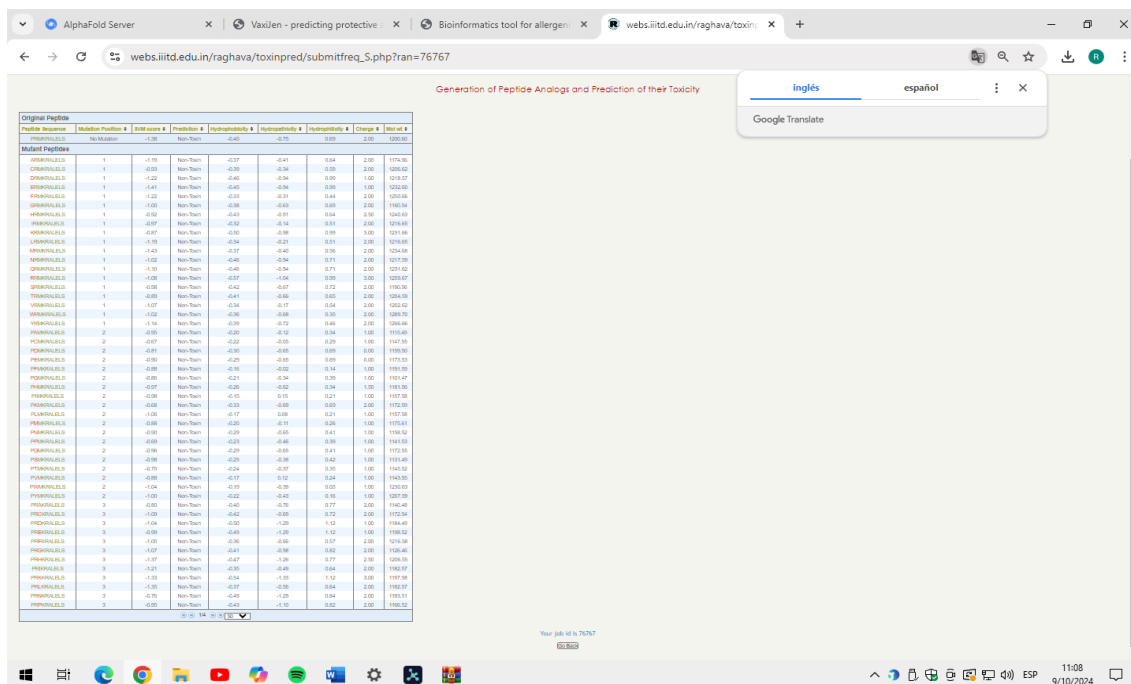


Imagen 95

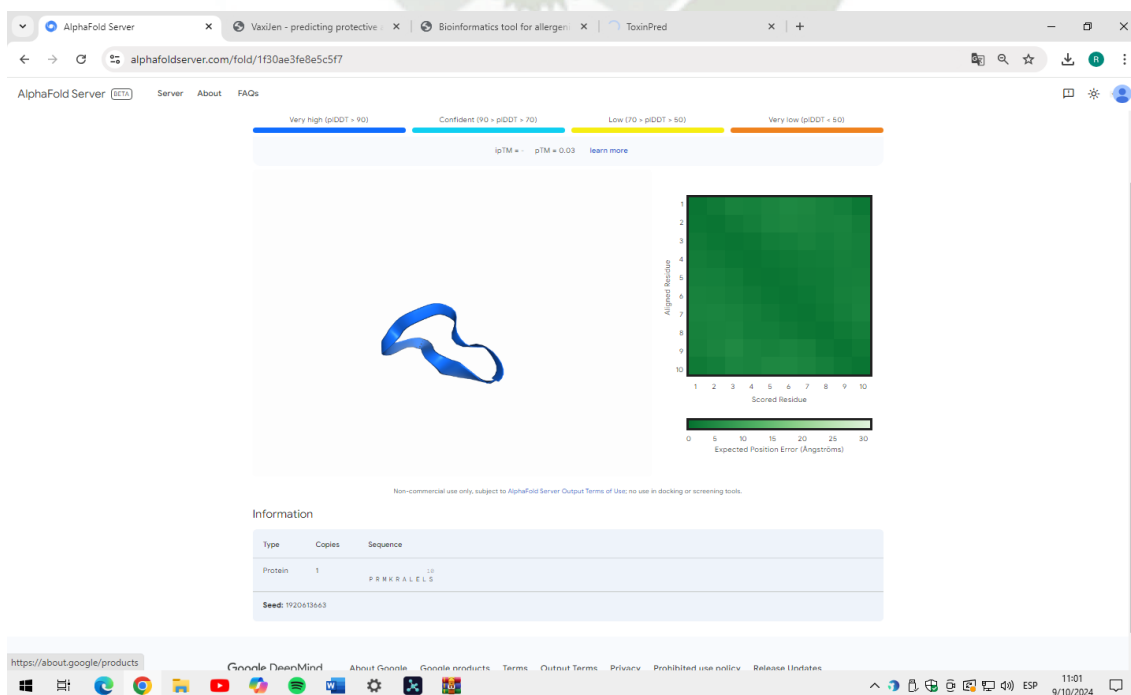
Prueba de toxicidad de PRMKRALELS



Una vez completado el testeó y abiendo obtenido un epitopo optimo, se procede a realizar el plegado de la estructura para lo cual se utilizo el algoritmo de AlphaFold Server, como resultado se obtiene modelos 3d de la estructura en cuestion en formato CIF.

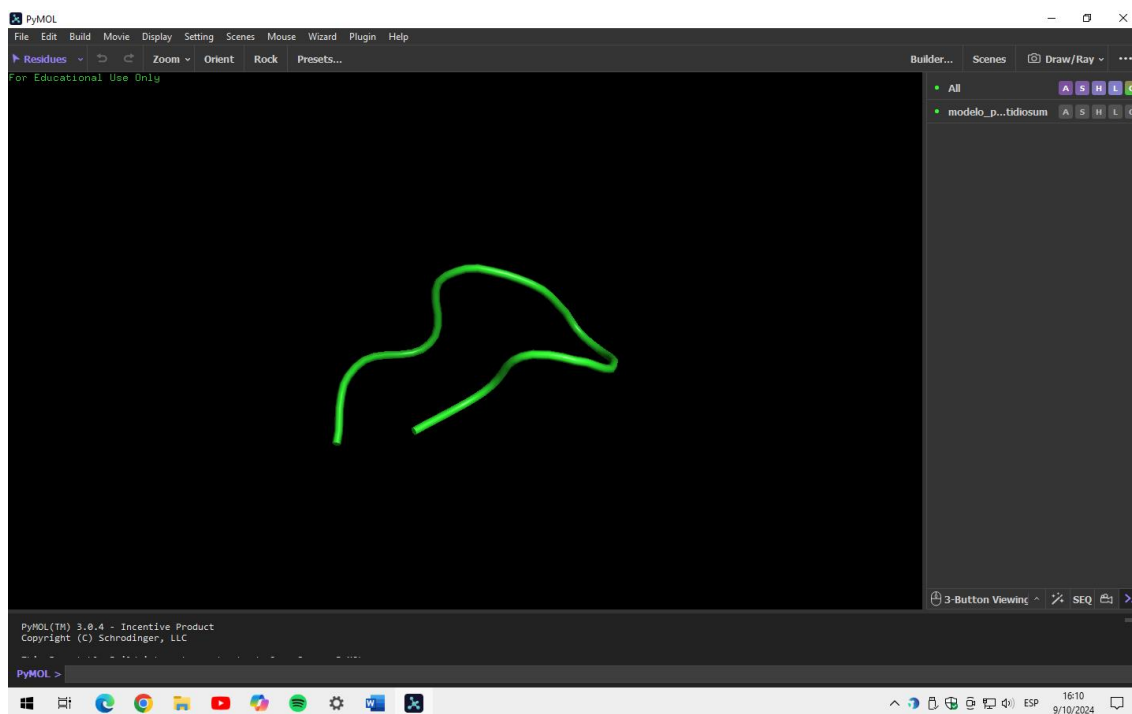
Imagen 96

Plegado de PRMKRALELS



De los modelos proporcionados por AlphaFold Server, se elige el más óptimo, en relación a la estructura tridimensional, el mismo se procede a someterlo a un programa especializado en la generación de modelos 3D de estructuras proteínicas. El software PyMOL; este convierte el archivo CIF antes mencionado en un archivo de tipo PDB.

Imagen 97
Modelado 3D de PRMKRALELS

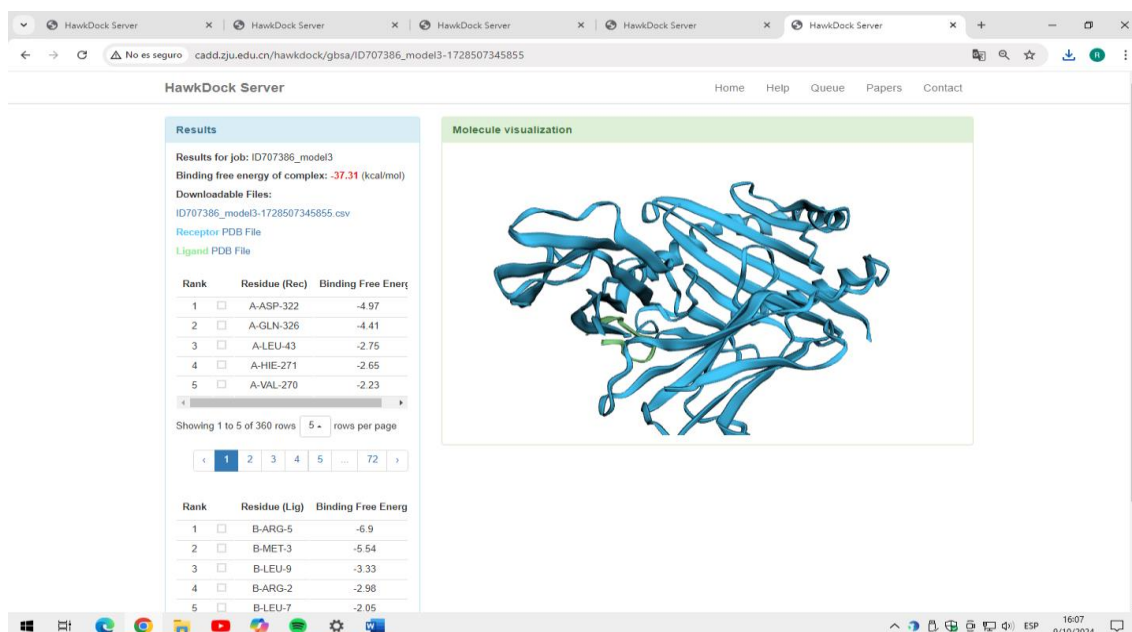


Habiendo obtenido el modelo 3D del epítipo, se procede a realizar el Doking, es decir a acoplar dicho epítipo a la molécula de MHC1 o MHC2, en el presente trabajo, el acople se realiza a la molécula MHC2, dado que la presentación de antígenos por vía de acople a MHC2 permitirá que sean los linfocitos TCD4 quienes actúen contra el antígeno extracelular con el objetivo de poder neutralizarlo.

La mencionada operación se realizó en HawkDock Server, este software, permite determinar la afinidad en la unión de las estructuras antes mencionadas, es preciso señalar que en base a los principios de la termodinámica, cuando la unión entre dos elementos es positivo implica un gasto de energía para poder concretar la unión, por el contrario, si el valor es negativo, esto significa que la unión no requiere de energía y esta falta de requerimiento energético es mayor mientras más se aleje de la unidad 0, ya que el último valor mencionado implica un estado de equilibrio en el sistema.

Imagen 98

Docking con MHC II de PRMKRALELS



j. >WP_208872854.1 16S rRNA (guanine(527)-N(7))-methyltransferase RsmG [Fretibacterium fastidiosum]

Prosiguiendo con el estudio de los epítomos, previamente se debe de entender la naturaleza del término, un epítomos es parte de un antígeno, entendiéndose por esta toda estructura ajena al organismo que tiene la posibilidad de desencadenar una respuesta inmune, este es diferente a un inmunógeno (que es lo que se obtuvo en el presente trabajo), un agente ajeno al organismo que siempre va a generar una respuesta inmune, al unirse con la región variable de un anticuerpo formando el paratopo.

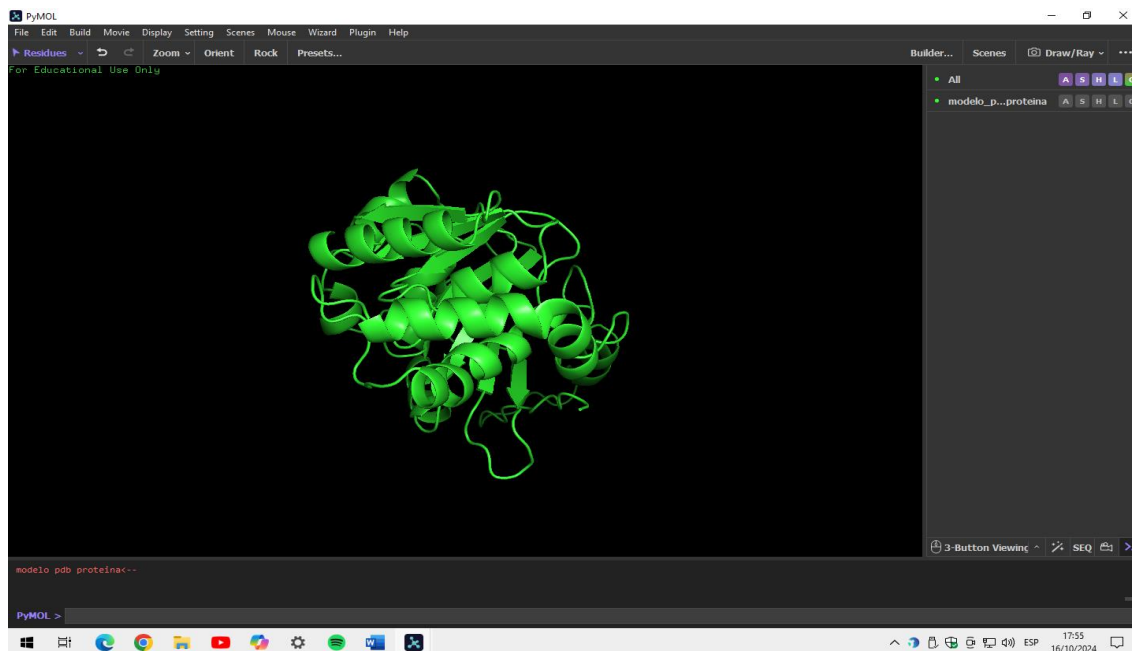
El procedimiento implica obtener, en primer lugar, las estructuras proteínicas de los factores de virulencia del periodonto patógenos, los cuales se pudieron conseguir con una ardua y prolongada revisión bibliográfica en plataformas de investigación científica.

>WP_208872854.1 16S rRNA (guanine(527)-N(7))-methyltransferase RsmG [Fretibacterium fastidiosum]

MALAEVEFQGADGLGEREEKDKKRASFGGATPAQGPAPAEIEETHRAVLRRYA
DLLASCTTARLTGTRGAEELYSLVHADCLESVPFLPPTGQVLDLGSGGGLPGLV
WAICRPDLRILLDSVGKKCRAVQEIAEALALSNTVTLCTRSEEAARTRESFAL
AGARAVASAGVTAELLSPFVEVGGVLLTFKGPKLDAELAEVRGRWQGLGLRAP

LIYGYGGPESSRRLVLWEKAWPCPRAYPRPAGAASMKGWWL
GGATPAQGP

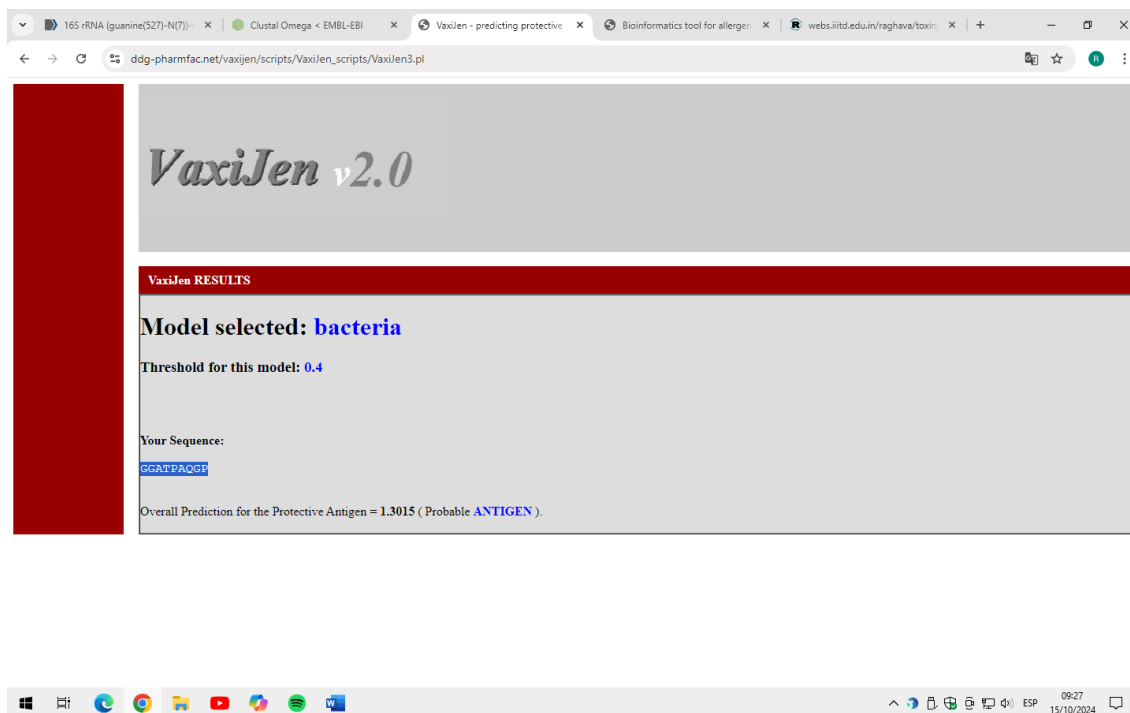
Imagen 99
Modelado 3D de 16S rRNA (guanine(527)-N(7))-methyltransferase RsmG



Posteriormente se procede a realizar el alineamiento de proteínas y encontrar estructuras comunes, de esta manera se logra obtener la secuencia de aminoácidos que constituyen el epítipo del factor de virulencia del periodontopatógenos.

Seguidamente, se procedió a llevar a cabo el testeo de dicho epítipo, en primer lugar, determinar si el mismo, realmente es un epítipo, y para ello se utilizó el servidor VAXIJEN, que por medio de un algoritmo contratado con los datos obtenidos arroja un resultado en el sentido de que si la secuencia de aminoácidos es o no es un antígeno.

Imagen 100
Prueba de antigenicidad de GGATPAQGP



Cabe resaltar que, dichos antígenos, tienen como finalidad formar el complejo antígeno – anticuerpo, para lo cual tienen que unirse a este último, y para cumplir su función biológica deben tener afinidad por el complejo mayor de histocompatibilidad de tipo I (MHCI) o de tipo II (MHCII). En el primer caso, la unión a membrana del linfocito generara citotoxicidad, es decir, que la célula atacara y eliminara a aquellas que hayan sido infectadas o de alguna manera se hayan visto afectadas por un antígeno intracelular, por otro lado, en el segundo caso se producirá la unión a linfocitos Helper, lo que implica que la célula responderá frente a antígenos extracelulares.

El siguiente paso es llevar a cabo el testeo del posible epítipo, puesto que este debe cumplir con la particularidad de no tener potencial para generar reacciones alérgicas ni tampoco debe poder ser capaz de generar efectos tóxicos, dicho testeo se llevó a cabo en el servidor AllergenFP y ToxinPred respectivamente.

Imagen 101

Prueba de antigenicidad de GGATPAQGP

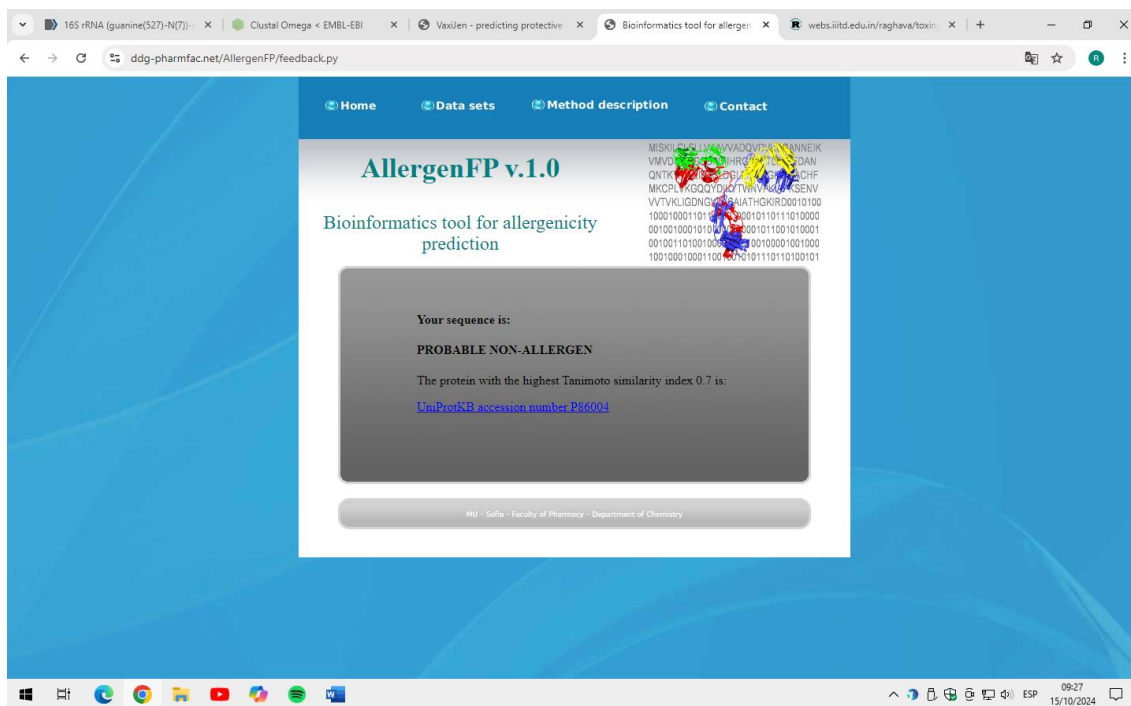
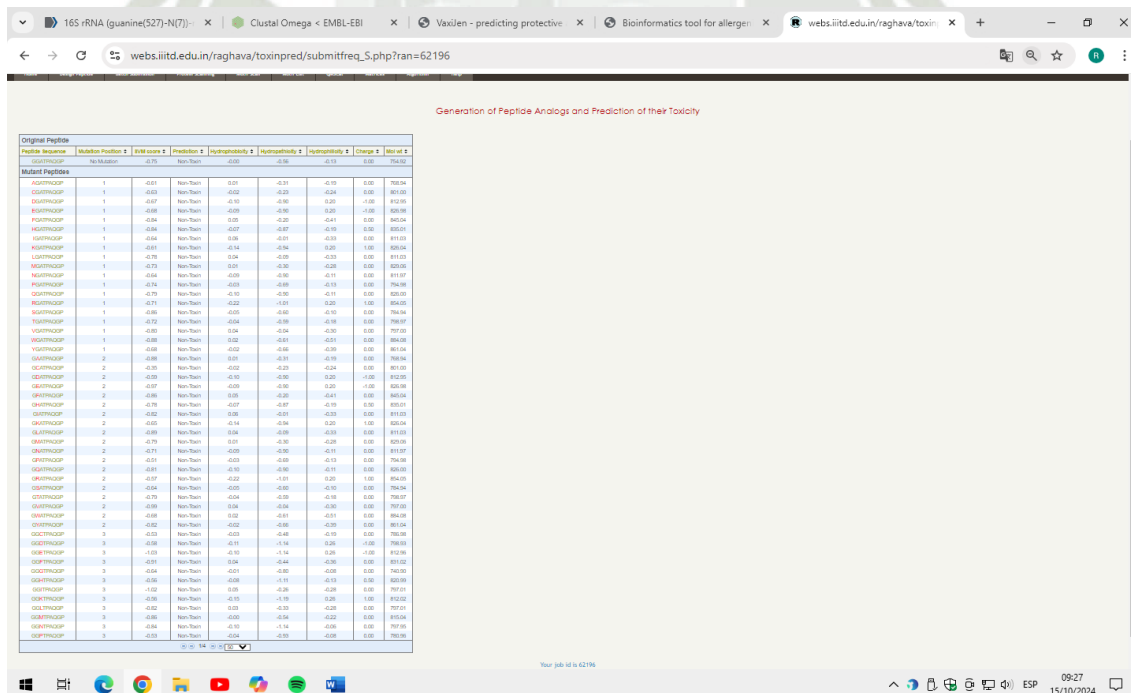


Imagen 102

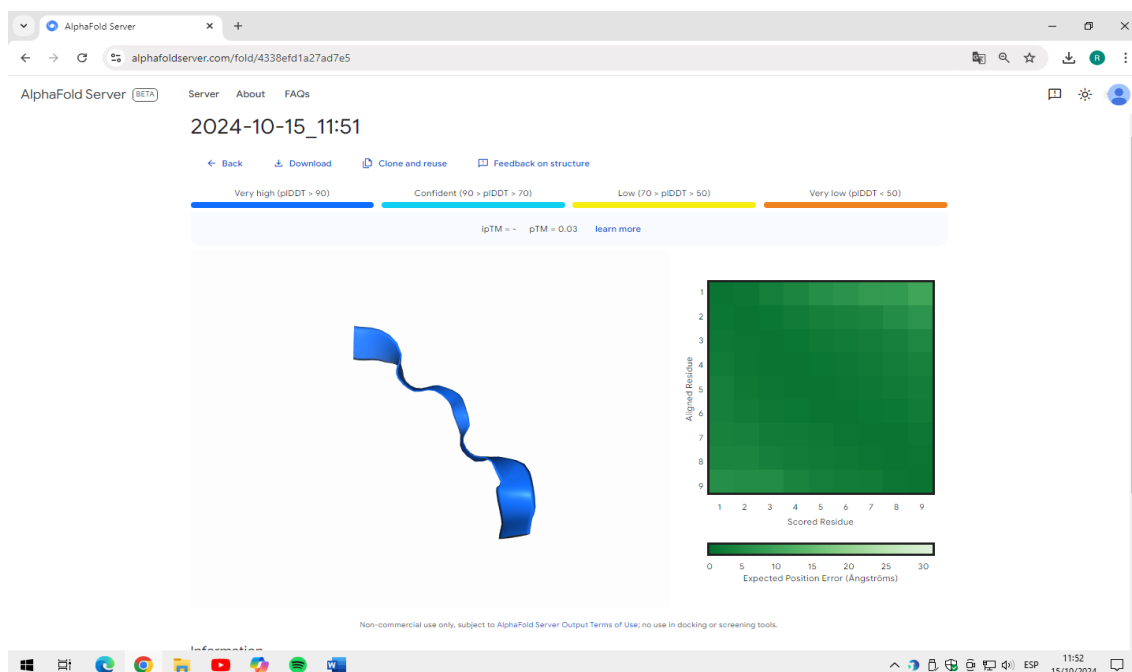
Prueba de toxicidad de GGATPAQGP



Una vez completado el testeo y abiendo optenido un epitopo optimo, se procede a realizar el plegado de la estructura para lo cual se utilizo el algoritmo de AlphaFold Server, como resultado se obtiene modelos 3d de la estructura en cuestion en formato CIF.

Imagen 103

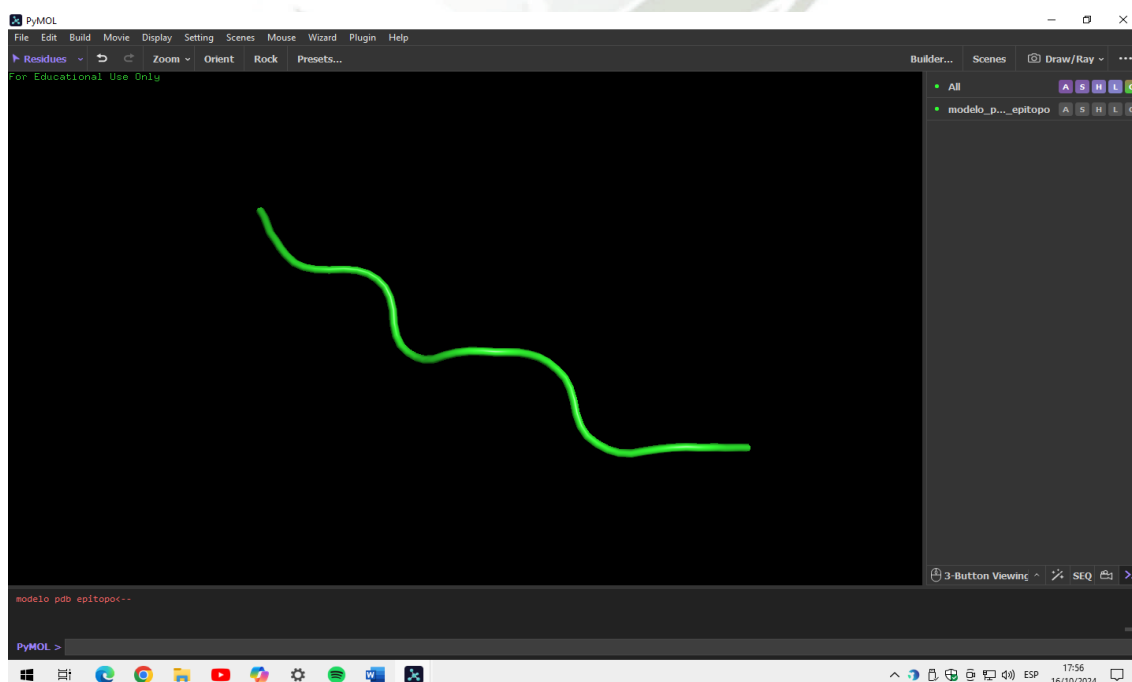
Plegado de GGATPAQGP



De los modelos proporcionados por AlphaFold Server, se elige el más óptimo, en relación a la estructura tridimensional, el mismo se procede a someterlo a un programa especializado en la generación de modelos 3D de estructuras proteínicas. El software PyMOL; este convierte el archivo CIF antes mencionado en un archivo de tipo PDB.

Imagen 104

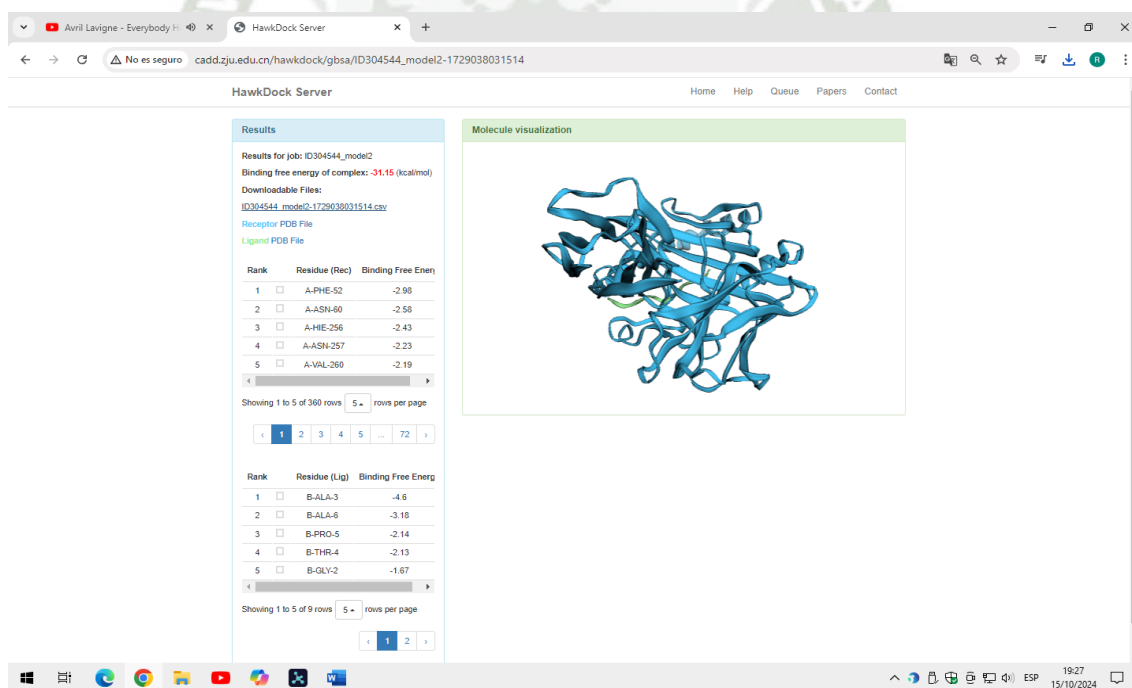
Modelado 3D de GGATPAQGP



Habiendo obtenido el modelo 3D del epítipo, se procede a realizar el Doking, es decir a acoplar dicho epítipo a la molécula de MHC1 o MHC2, en el presente trabajo, el acople se realiza a la molécula MHC2, dado que la presentación de antígenos por vía de acople a MHC2 permitirá que sean los linfocitos TCD4 quienes actúen contra el antígeno extracelular con el objetivo de poder neutralizarlo.

La mencionada operación se realizó en HawkDock Server, este software, permite determinar la afinidad en la unión de las estructuras antes mencionadas, es preciso señalar que en base a los principios de la termodinámica, cuando la unión entre dos elementos es positivo implica un gasto de energía para poder concretar la unión, por el contrario, si el valor es negativo, esto significa que la unión no requiere de energía y esta falta de requerimiento energético es mayor mientras más se aleje de la unidad 0, ya que el último valor mencionado implica un estado de equilibrio en el sistema.

Imagen 105
Doking con MHC II de GGATPAQGP



k. >WP_281523002.1 YafY family protein [Mogibacterium timidum]

Prosiguiendo con el estudio de los epítipos, previamente se debe de entender la naturaleza del término, un epítipo es parte de un antígeno, entendiéndose por esta toda estructura ajena al organismo que tiene la posibilidad de desencadenar una respuesta inmune, este es diferente a un inmunógeno (que es lo que se obtuvo en el presente trabajo), un agente

ajeno al organismo que siempre va a generar una respuesta inmune, al unirse con la región variable de un anticuerpo formando el paratopo.

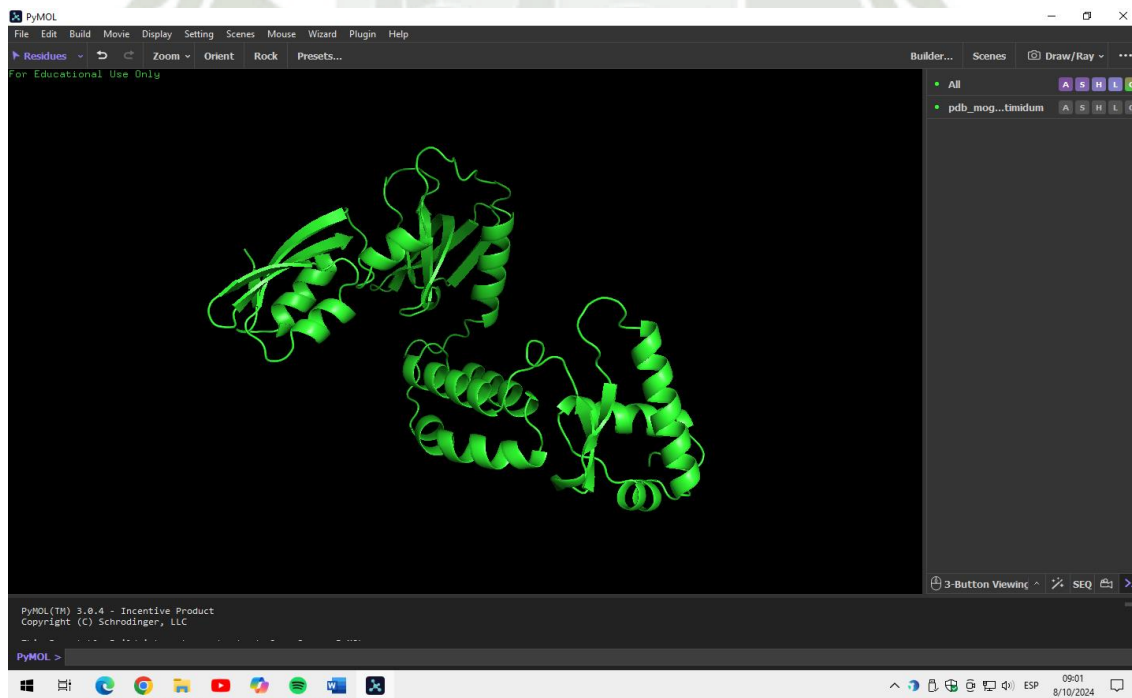
El procedimiento implica obtener, en primer lugar, las estructuras proteínicas de los factores de virulencia del periodonto patógenos, los cuales se pudieron conseguir con una ardua y prolongada revisión bibliográfica en plataformas de investigación científica.

>WP_281523002.1 YafY family protein [Mogibacterium timidum]

MEIDFKENKGFRLQLYERLSRGEIVRKAELAQKFAVTDKTIQRDIEELRAYLA
ETRTDAGEASIVYERSRGGYLLSHAASEWLTNEDVLAVCKILLESRAFCREELD
ALLKKLLRQTAPQDRAQVRKLILSEQHYVPLRHGKKLLSAIWELSQHMTAQH
TIRISYCRQDGTREHEVNPVAIMFSYFYLIAYLADGRKEFPTIFRIDRIAHFEAT
GATFRVTHSGKFSDGEFRKRIQFMYAGELRRVTFDYSGTSVEAVLDRLPTAKIIS
EDGGIYRITAEVYGNGIDMWLRSQGDVAVKVL

RKAELAQKFAV

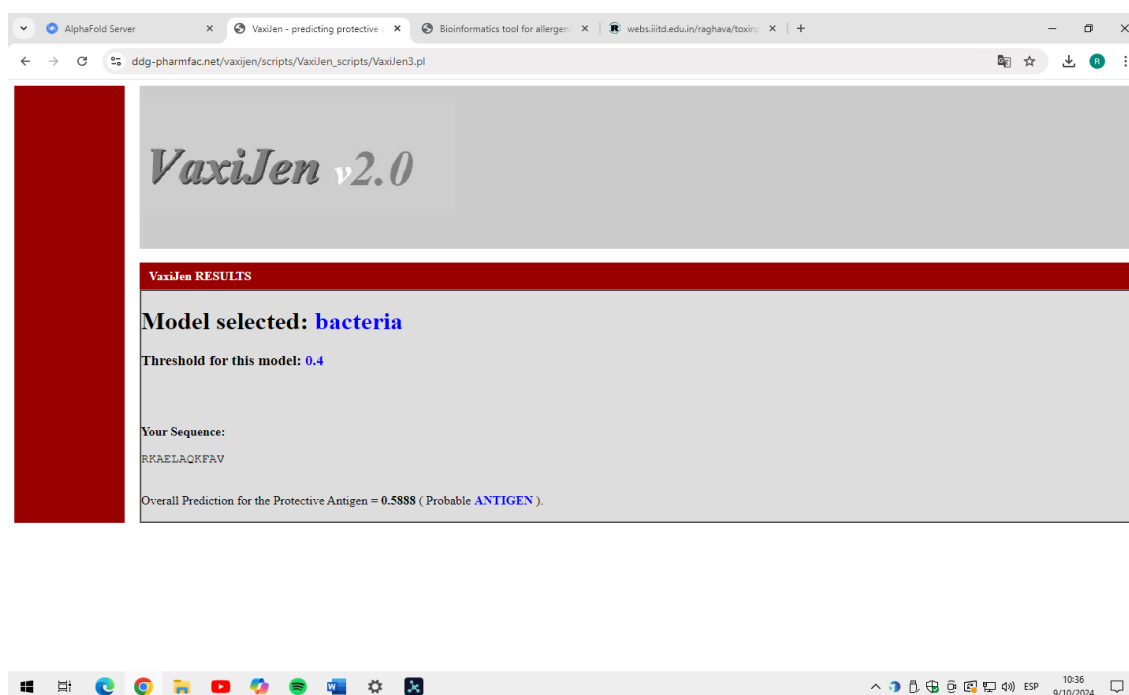
Imagen 106
Modelado 3D de YafY family protein



Posteriormente se procede a realizar el alineamiento de proteínas y encontrar estructuras comunes, de esta manera se logra obtener la secuencia de aminoácidos que constituyen el epítipo del factor de virulencia del periodontopatógenos.

Seguidamente, se procedió a llevar a cabo el testeo de dicho epítopo, en primer lugar, determinar si el mismo, realmente es un epítopo, y para ello se utilizó el servidor VAXIJEN, que por medio de un algoritmo contratado con los datos obtenidos arroja un resultado en el sentido de que si la secuencia de aminoácidos es o no es un antígeno.

Imagen 107
Prueba de antigenicidad de RKAELAQKFAV



Cabe resaltar que, dichos antígenos, tienen como finalidad formar el complejo antígeno – anticuerpo, para lo cual tienen que unirse a este último, y para cumplir su función biológica deben tener afinidad por el complejo mayor de histocompatibilidad de tipo I (MHCI) o de tipo II (MHCII). En el primer caso, la unión a membrana del linfocito generara citotoxicidad, es decir, que la célula atacara y eliminara a aquellas que hayan sido infectadas o de alguna manera se hayan visto afectadas por un antígeno intracelular, por otro lado, en el segundo caso se producirá la unión a linfocitos Helper, lo que implica que la célula responderá frente a antígenos extracelulares.

El siguiente paso es llevar a cabo el testeo del posible epítopo, puesto que este debe cumplir con la particularidad de no tener potencial para generar reacciones alérgicas ni tampoco debe poder ser capaz de generar efectos tóxicos, dicho testeo se llevó a cabo en el servidor AllergenFP y ToxinPred respectivamente.

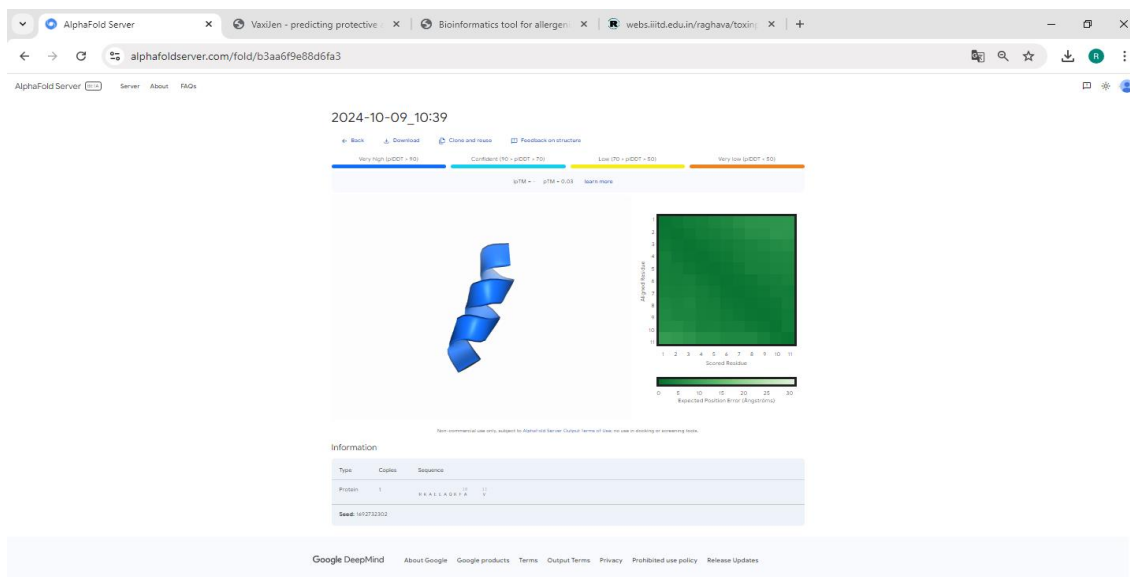
100



Project Portfolio									
Project Name	Project Manager	Project Status	Start Date	End Date	Budget	Actual Cost	Remaining Budget	Change	Notes
Project A	John Doe	Completed	2023-01-01	2023-03-31	\$100,000	\$100,000	\$0	0	Project A completed successfully.
Project B	Jane Smith	In Progress	2023-04-01	2023-06-30	\$200,000	\$150,000	\$50,000	0	Project B is on track.
Project C	Mike Johnson	On Hold	2023-05-01	2023-07-31	\$150,000	\$0	\$150,000	0	Project C is on hold.
Project D	Sarah Lee	Completed	2023-02-01	2023-04-30	\$80,000	\$80,000	\$0	0	Project D completed successfully.
Project E	David Kim	In Progress	2023-06-01	2023-08-31	\$120,000	\$90,000	\$30,000	0	Project E is on track.
Project F	Emily White	On Hold	2023-07-01	2023-09-30	\$90,000	\$0	\$90,000	0	Project F is on hold.
Project G	Chris Brown	Completed	2023-03-01	2023-05-31	\$60,000	\$60,000	\$0	0	Project G completed successfully.
Project H	Alex Green	In Progress	2023-08-01	2023-10-31	\$180,000	\$120,000	\$60,000	0	Project H is on track.
Project I	Olivia Black	On Hold	2023-09-01	2023-11-30	\$110,000	\$0	\$110,000	0	Project I is on hold.
Project J	Noah Grey	Completed	2023-04-01	2023-06-30	\$70,000	\$70,000	\$0	0	Project J completed successfully.
Project K	Isabella Blue	In Progress	2023-10-01	2023-12-31	\$130,000	\$80,000	\$50,000	0	Project K is on track.
Project L	Liam Red	On Hold	2023-11-01	2024-01-31	\$100,000	\$0	\$100,000	0	Project L is on hold.
Project M	Mia Purple	Completed	2023-01-15	2023-03-15	\$50,000	\$50,000	\$0	0	Project M completed successfully.
Project N	Nathan Gold	In Progress	2023-03-15	2023-05-15	\$90,000	\$60,000	\$30,000	0	Project N is on track.
Project O	Oliver Silver	On Hold	2023-05-15	2023-07-15	\$70,000	\$0	\$70,000	0	Project O is on hold.
Project P	Priya Bronze	Completed	2023-07-15	2023-09-15	\$60,000	\$60,000	\$0	0	Project P completed successfully.
Project Q	Quinn Copper	In Progress	2023-09-15	2023-11-15	\$110,000	\$70,000	\$40,000	0	Project Q is on track.
Project R	Ryan Iron	On Hold	2023-11-15	2024-01-15	\$80,000	\$0	\$80,000	0	Project R is on hold.
Project S	Sophia Steel	Completed	2023-02-15	2023-04-15	\$40,000	\$40,000	\$0	0	Project S completed successfully.
Project T	Thomas Tin	In Progress	2023-04-15	2023-06-15	\$70,000	\$40,000	\$30,000	0	Project T is on track.
Project U	Uma Lead	On Hold	2023-06-15	2023-08-15	\$50,000	\$0	\$50,000	0	Project U is on hold.
Project V	Victor Alloy	Completed	2023-08-15	2023-10-15	\$60,000	\$60,000	\$0	0	Project V completed successfully.
Project W	Wendy Cast	In Progress	2023-10-15	2023-12-15	\$90,000	\$50,000	\$40,000	0	Project W is on track.
Project X	Xavier Forged	On Hold	2023-12-15	2024-02-15	\$70,000	\$0	\$70,000	0	Project X is on hold.
Project Y	Yara Milled	Completed	2023-01-01	2023-02-28	\$30,000	\$30,000	\$0	0	Project Y completed successfully.
Project Z	Zoe Drilled	In Progress	2023-02-28	2023-04-28	\$50,000	\$30,000	\$20,000	0	Project Z is on track.
Project AA	Adam Tapped	On Hold	2023-04-28	2023-06-28	\$40,000	\$0	\$40,000	0	Project AA is on hold.
Project AB	Alice Bolted	Completed	2023-06-28	2023-08-28	\$60,000	\$60,000	\$0	0	Project AB completed successfully.
Project AC	Ben Screwed	In Progress	2023-08-28	2023-10-28	\$80,000	\$50,000	\$30,000	0	Project AC is on track.
Project AD	Charlie Nailed	On Hold	2023-10-28	2023-12-28	\$70,000	\$0	\$70,000	0	Project AD is on hold.
Project AE	Diana Glued	Completed	2023-01-01	2023-01-31	\$20,000	\$20,000	\$0	0	Project AE completed successfully.
Project AF	Ethan Soldered	In Progress	2023-01-31	2023-02-29	\$30,000	\$15,000	\$15,000	0	Project AF is on track.
Project AG	Fiona Welded	On Hold	2023-02-29	2023-03-29	\$20,000	\$0	\$20,000	0	Project AG is on hold.
Project AH	George Brazed	Completed	2023-03-29	2023-04-28	\$30,000	\$30,000	\$0	0	Project AH completed successfully.
Project AI	Helen Riveted	In Progress	2023-04-28	2023-05-28	\$40,000	\$20,000	\$20,000	0	Project AI is on track.

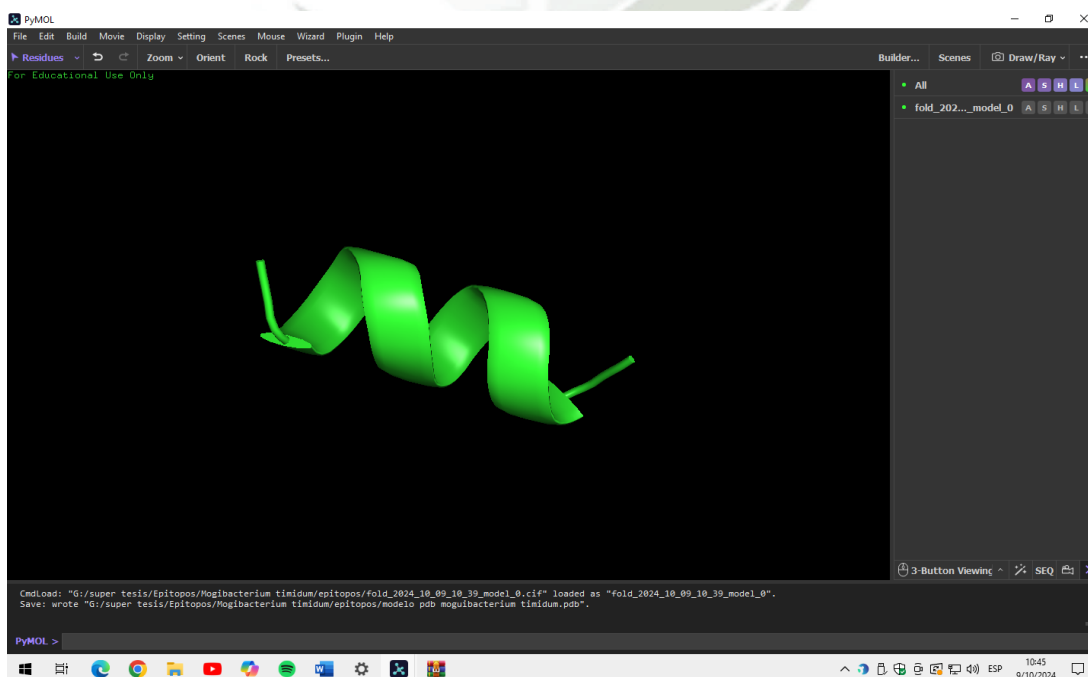
un epitopo opt

Imagen 110 Plegado de RKAELAQKFAV



De los modelos proporcionados por AlphaFold Server, se elige el más óptimo, en relación a la estructura tridimensional, el mismo se procede a someterlo a un programa especializado en la generación de modelos 3D de estructuras proteínicas. El software PyMOL; este convierte el archivo CIF antes mencionado en un archivo de tipo PDB.

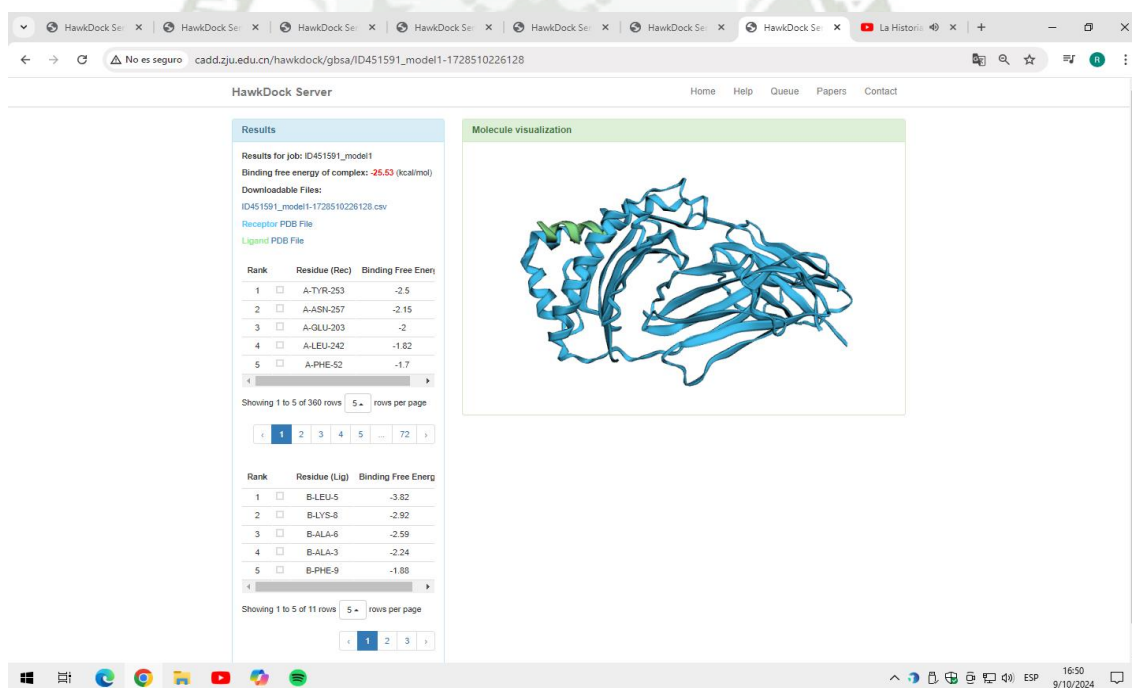
Imagen 111 Modelado 3D de RKAELAQKFAV



Habiendo obtenido el modelo 3D del epítipo, se procede a realizar el Doking, es decir a acoplar dicho epítipo a la molécula de MHC1 o MHC2, en el presente trabajo, el acople se realiza a la molécula MHC2, dado que la presentación de antígenos por vía de acople a MHC2 permitirá que sean los linfocitos TCD4 quienes actúen contra el antígeno extracelular con el objetivo de poder neutralizarlo.

La mencionada operación se realizó en HawkDock Server, este software, permite determinar la afinidad en la unión de las estructuras antes mencionadas, es preciso señalar que en base a los principios de la termodinámica, cuando la unión entre dos elementos es positivo implica un gasto de energía para poder concretar la unión, por el contrario, si el valor es negativo, esto significa que la unión no requiere de energía y esta falta de requerimiento energético es mayor mientras más se aleje de la unidad 0, ya que el último valor mencionado implica un estado de equilibrio en el sistema.

Imagen 112
Doking con MHC II de RKAELAQKFAV



I. >WP_314932645.1 sugar-transfer associated ATP-grasp domain-containing protein [Mogibacterium timidum]

Prosiguiendo con el estudio de los epítipos, previamente se debe de entender la naturaleza del término, un epítipo es parte de un antígeno, entendiéndose por esta toda estructura ajena al organismo que tiene la posibilidad de desencadenar una respuesta inmune, este

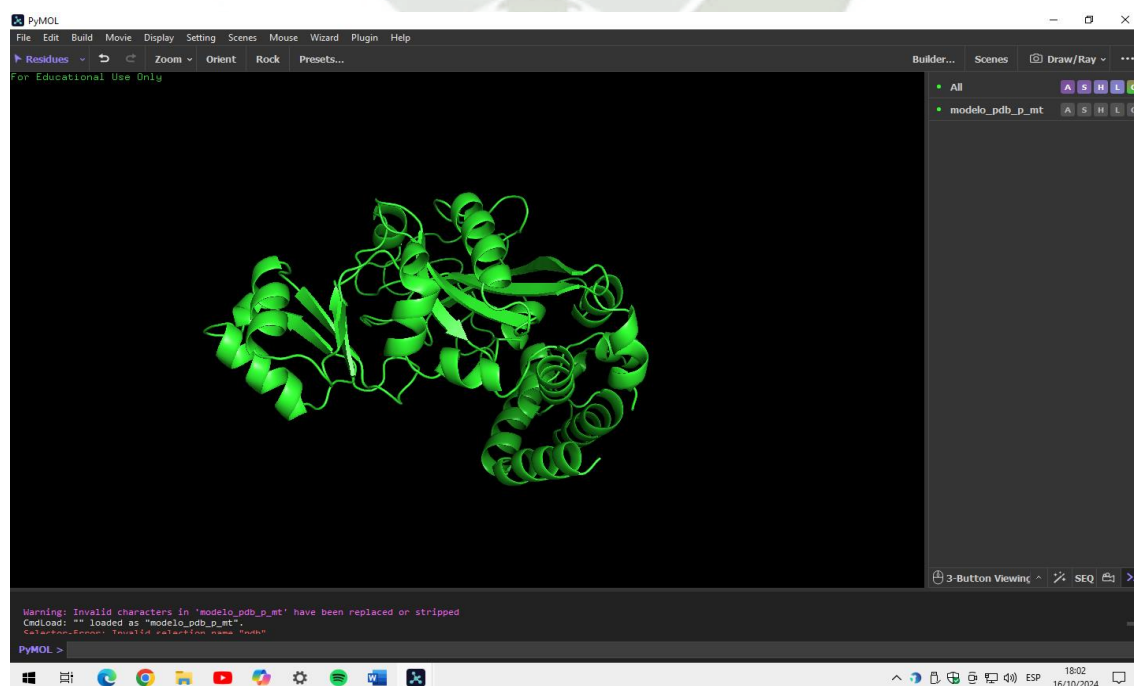
es diferente a un inmunógeno (que es lo que se obtuvo en el presente trabajo), un agente ajeno al organismo que siempre va a generar una respuesta inmune, al unirse con la región variable de un anticuerpo formando el paratopo.

El procedimiento implica obtener, en primer lugar, las estructuras proteínicas de los factores de virulencia del periodonto patógenos, los cuales se pudieron conseguir con una ardua y prolongada revisión bibliográfica en plataformas de investigación científica.

>WP_314932645.1 sugar-transfer associated ATP-grasp domain-containing protein
[Mogibacterium timidum]

MRADFLYKLRVLSGARFSKLNVTTEINKRCGKSKAGIIEDIFHCYRKFGSGYYD
YIIYHFYELDDSMRDTYMTRMRSKKLVTFNLNDPEMAKLFDNKNQFDEVFKEFIS
RDYLDVAVNCDLAEATRFYNENEIGFAKMLDLACGKGAEIIRMADFENAEAFYN
YIKEKGFGVVEEYLNHDKIREVYKPALNTMRMITIIGDDGQPHLFFAAQKFGV
HGRFIDVHGIHAPIDLETGVVHF**PFHSGNTDT**DLIYTKHPDTGYDLTEYEVPMFR
EAKDMILKAAMKVPEMRYVGWDVAVTNKGPKIVEGNNYTAYDYMQLPQQNP
GRVGVIPDILKLVPSFKDELYK
PFHSGNTDT

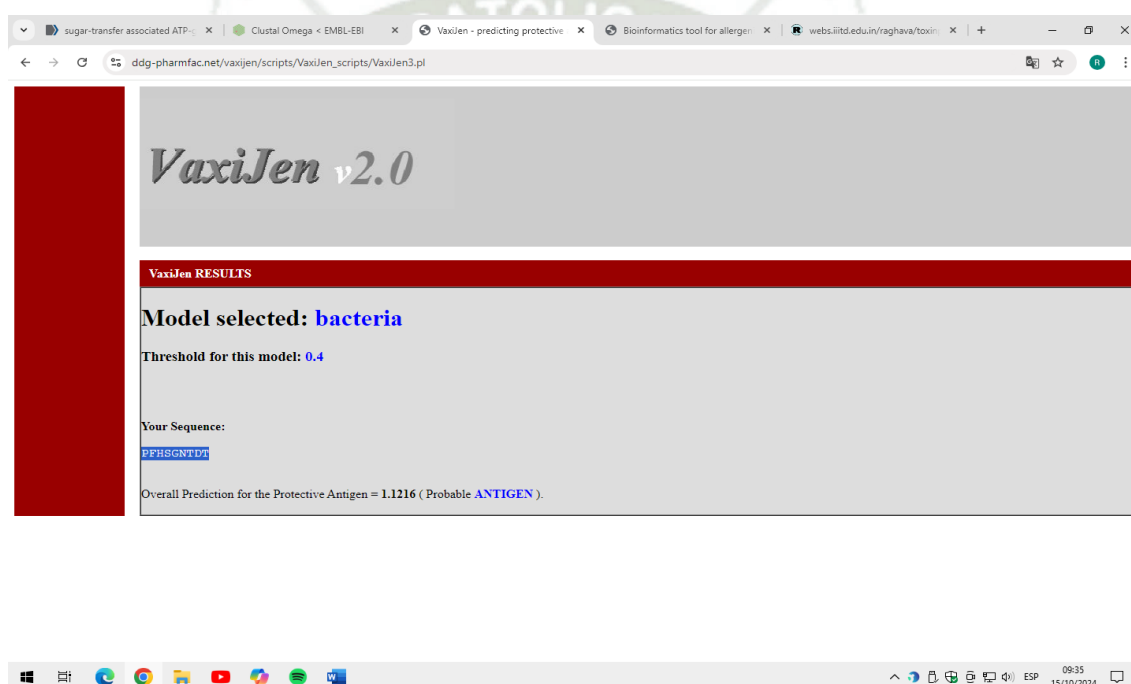
Imagen 113
Modelado 3D de sugar-transfer associated ATP-grasp domain-containing protein



Posteriormente se procede a realizar el alineamiento de proteínas y encontrar estructuras comunes, de esta manera se logra obtener la secuencia de aminoácidos que constituyen el epítipo del factor de virulencia del periodontopatógenos.

Seguidamente, se procedió a llevar a cabo el testeo de dicho epítipo, en primer lugar, determinar si el mismo, realmente es un epítipo, y para ello se utilizó el servidor VAXIJEN, que por medio de un algoritmo contratado con los datos obtenidos arroja un resultado en el sentido de que si la secuencia de aminoácidos es o no es un antígeno.

Imagen 114
Prueba de antigenicidad de PFHSGNTDT



Cabe resaltar que, dichos antígenos, tienen como finalidad formar el complejo antígeno – anticuerpo, para lo cual tienen que unirse a este último, y para cumplir su función biológica deben tener afinidad por el complejo mayor de histocompatibilidad de tipo I (MHCI) o de tipo II (MHCII). En el primer caso, la unión a membrana del linfocito generara citotoxicidad, es decir, que la célula atacara y eliminara a aquellas que hayan sido infectadas o de alguna manera se hayan visto afectadas por un antígeno intracelular, por otro lado, en el segundo caso se producirá la unión a linfocitos Helper, lo que implica que la célula responderá frente a antígenos extracelulares.

El siguiente paso es llevar a cabo el testeo del posible epítipo, puesto que este debe cumplir con la particularidad de no tener potencial para generar reacciones alérgicas ni

tampoco debe poder ser capaz de generar efectos tóxicos, dicho testeo se llevó a cabo en el servidor AllergenFP y ToxinPred respectivamente.

Imagen 115 Prueba de alergenicidad de PFHSGNTDT

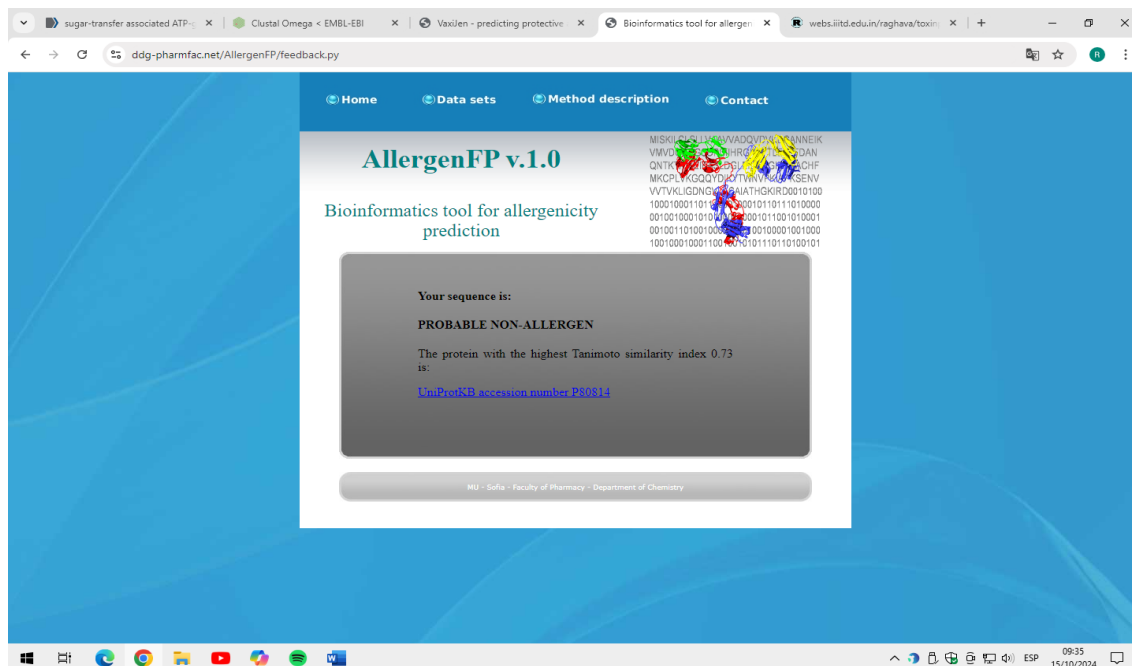
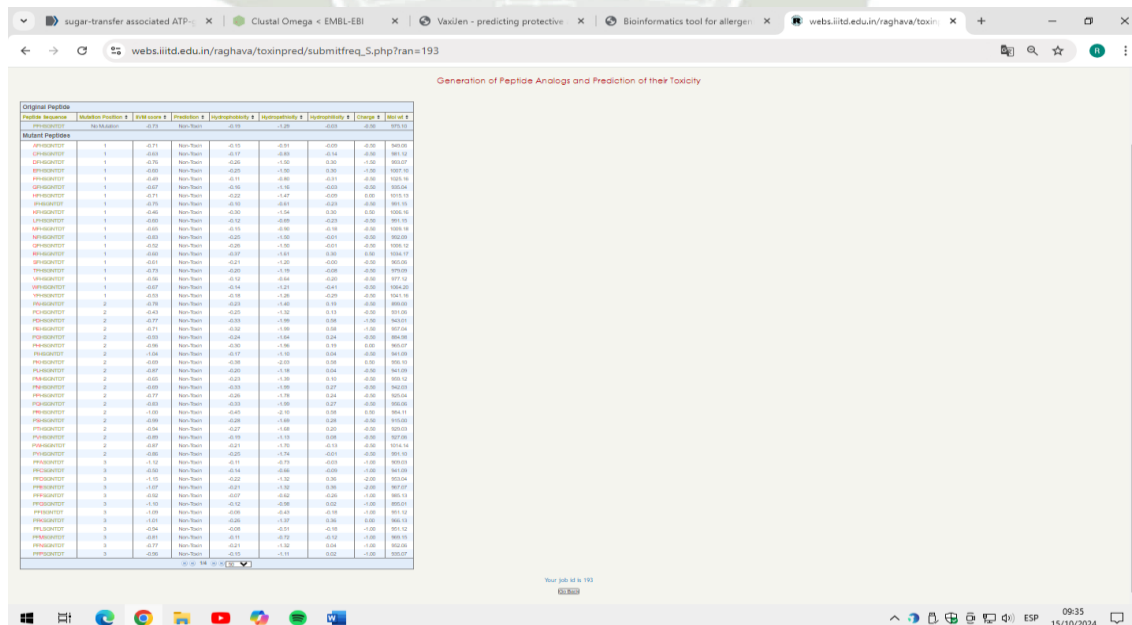
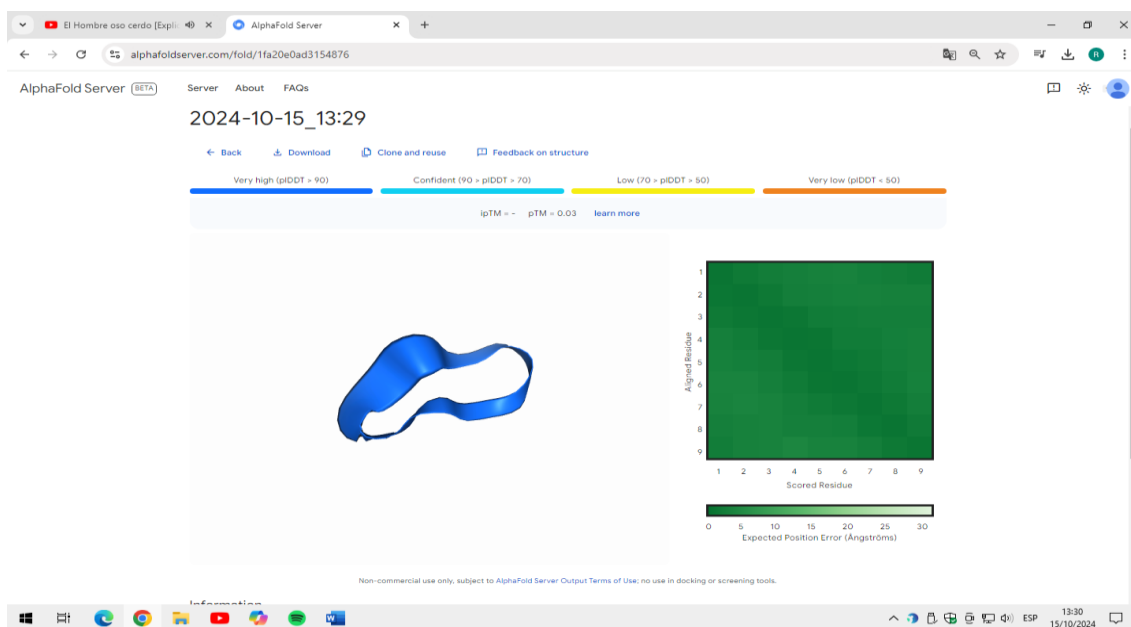


Imagen 116 Prueba de toxicidad de PFHSGNTDT



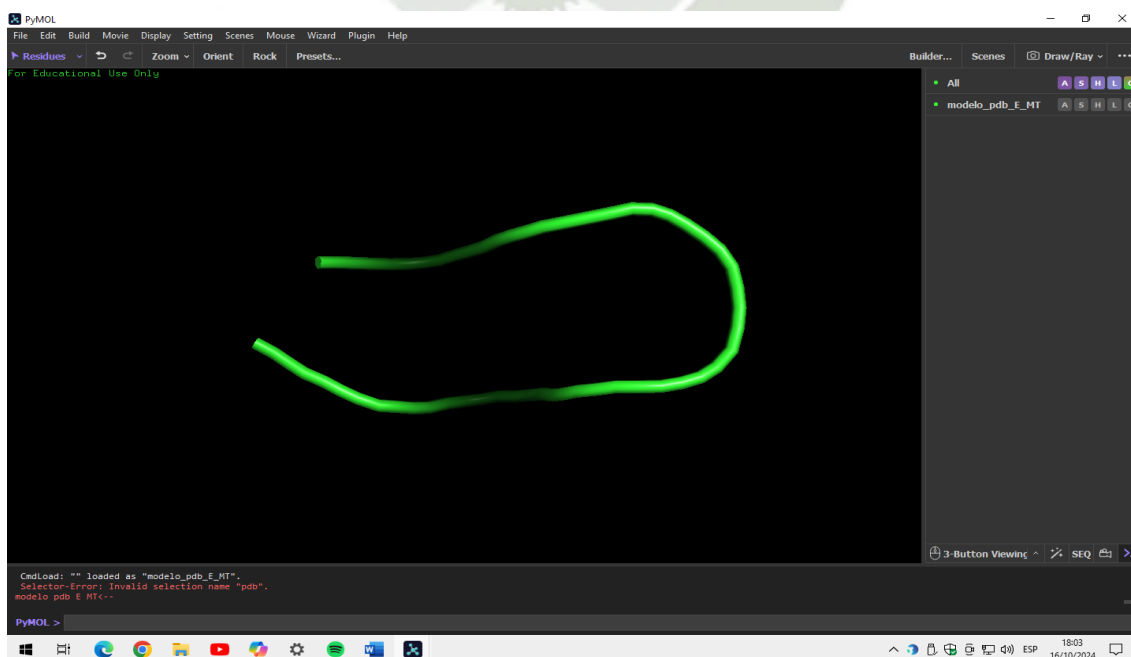
Una vez completado el testeo y abiendo optenido un epitopo optimo, se procede a realizar el plegado de la estructura para lo cual se utilizo el algoritmo de AlphaFold Server, como resultado se obtiene modelos 3D de la estructura en cuestion en formato CIF.

Imagen 117
Plegado de PFHSGNTDT



De los modelos proporcionados por AlphaFold Server, se elige el más óptimo, en relación a la estructura tridimensional, el mismo se procede a someterlo a un programa especializado en la generación de modelos 3D de estructuras proteínicas. El software PyMOL; este convierte el archivo CIF antes mencionado en un archivo de tipo PDB.

Imagen 118
Modelado 3D de PFHSGNTDT

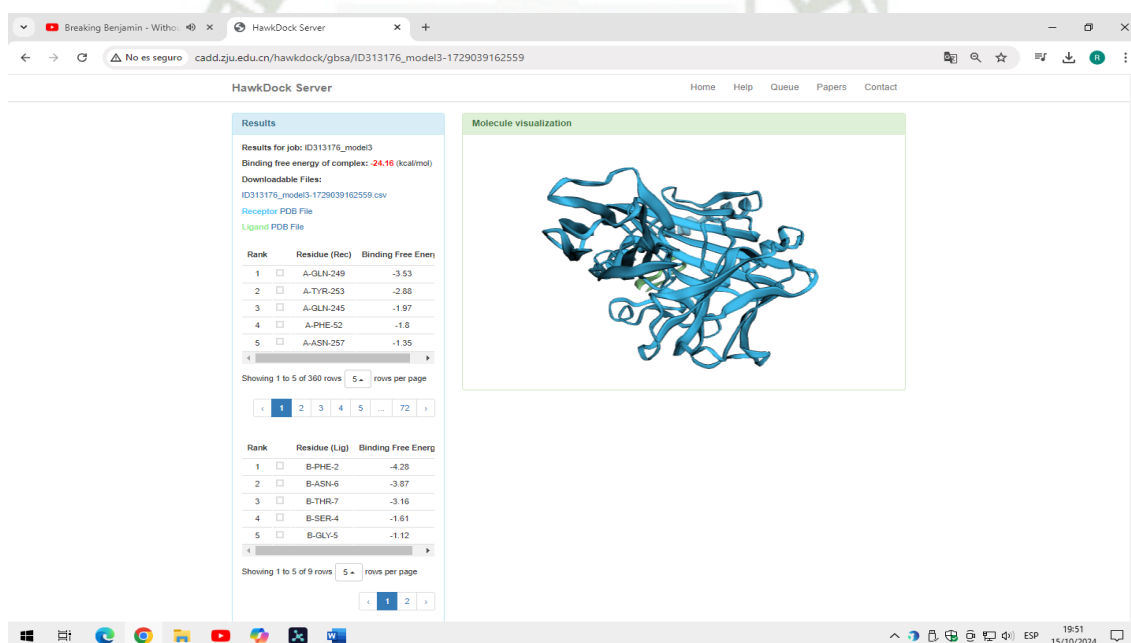


Habiendo obtenido el modelo 3D del epítipo, se procede a realizar el Doking, es decir a

acoplar dicho epítipo a la molécula de MHC1 o MHC2, en el presente trabajo, el acople se realiza a la molécula MHC2, dado que la presentación de antígenos por vía de acople a MHC2 permitirá que sean los linfocitos TCD4 quienes actúen contra el antígeno extracelular con el objetivo de poder neutralizarlo.

La mencionada operación se realizó en HawkDock Server, este software, permite determinar la afinidad en la unión de las estructuras antes mencionadas, es preciso señalar que en base a los principios de la termodinámica, cuando la unión entre dos elementos es positivo implica un gasto de energía para poder concretar la unión, por el contrario, si el valor es negativo, esto significa que la unión no requiere de energía y esta falta de requerimiento energético es mayor mientras más se aleje de la unidad 0, ya que el último valor mencionado implica un estado de equilibrio en el sistema.

Imagen 119
Docking con MHC II de PFHSGNTDT



m. >WP_009527934.1 O-antigen ligase [Peptoanaerobacter stomatis]

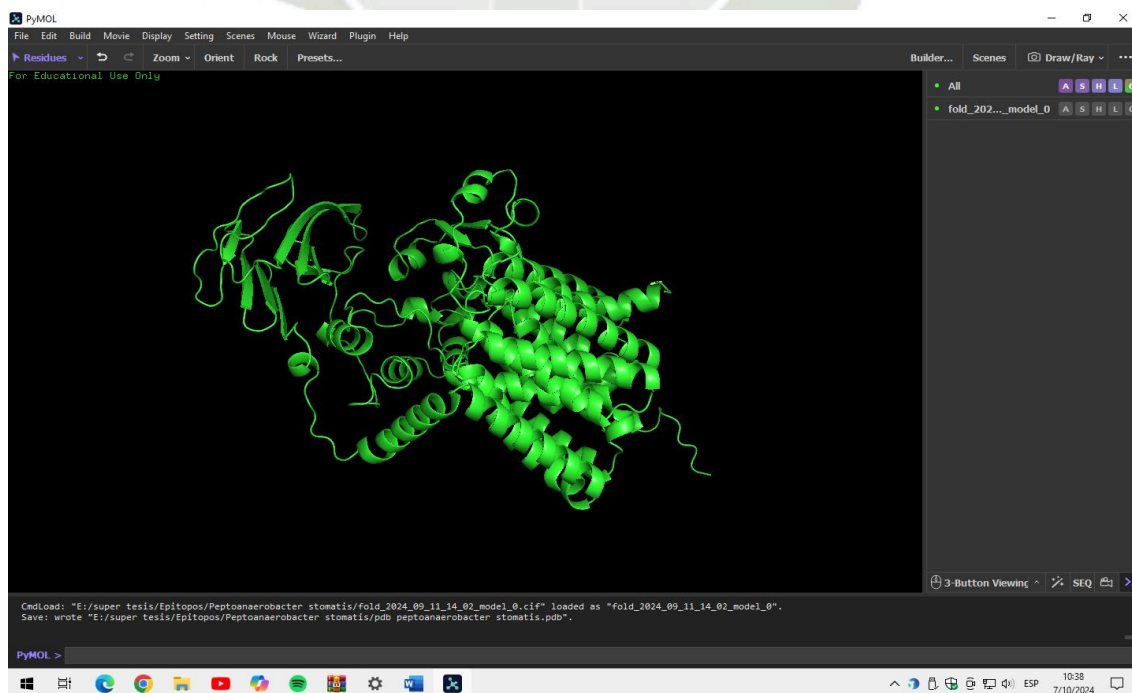
Prosiguiendo con el estudio de los epítipos, previamente se debe de entender la naturaleza del término, un epítipo es parte de un antígeno, entendiéndose por esta toda estructura ajena al organismo que tiene la posibilidad de desencadenar una respuesta inmune, este es diferente a un inmunógeno (que es lo que se obtuvo en el presente trabajo), un agente ajeno al organismo que siempre va a generar una respuesta inmune, al unirse con la región variable de un anticuerpo formando el paratopo.

El procedimiento implica obtener, en primer lugar, las estructuras proteínicas de los factores de virulencia del periodonto patógenos, los cuales se pudieron conseguir con una ardua y prolongada revisión bibliográfica en plataformas de investigación científica.

>WP_009527934.1 O-antigen ligase [Peptoanaerobacter stomatis]

MDLKRFIKILPFILGLLIIPVTMRLVEVQIPFEVQMHWKGVGVNDILSYAKSVM
LIISGVIVAGILFFTISSESIKIKSLKPFIIAFAVLLFMAIISTIFGGNGVISYGGAPSR
YEGLYAYIGYFILFFYALTIEYDKKTEHSIIIVLAIFTVLCGIVGFTQYIGKDIFLRP
FATSLYIPEALKEYRSAMTVTQFSFKNMYLFTTHYNYSSMLMSVVSMMFWCLYF
VCVKEKKYKIISGLMSVLSVLMLLGANARSGVMAVFISGIILCITFISKIISNKKM
SMVALAVIVIFVGITAKLGMMSRFTSLVEDIKKISASGKQEEVYIREQIPLKDIKT
DDTSYTHIYNDVTLKFDNKQSSFYDENGTVLAFETPEQGSVVFKDGRYANFSIG
VTKRKSNDVTEHLYHLVKIDGNLFNFDVTDKVQFVNHLGMPMYPEKAERIGF
KGMERLGSGRGFITASTIPLILKSPLIGYGPDAFLQIFNQDDIYTKMYVYGNPNE
LVDKPHNLYLLYAINFGVIGLGAFLFIHLLIVKMKRKYKEDLLSDNAIYIGAFAG
VLAYMGSGFFNDSVAVSPIFWILLGIAVSGVDFKIKNKFGVNKK
KEYRSAMTVT

Imagen 120
Modelado 3D de O-antigen ligase

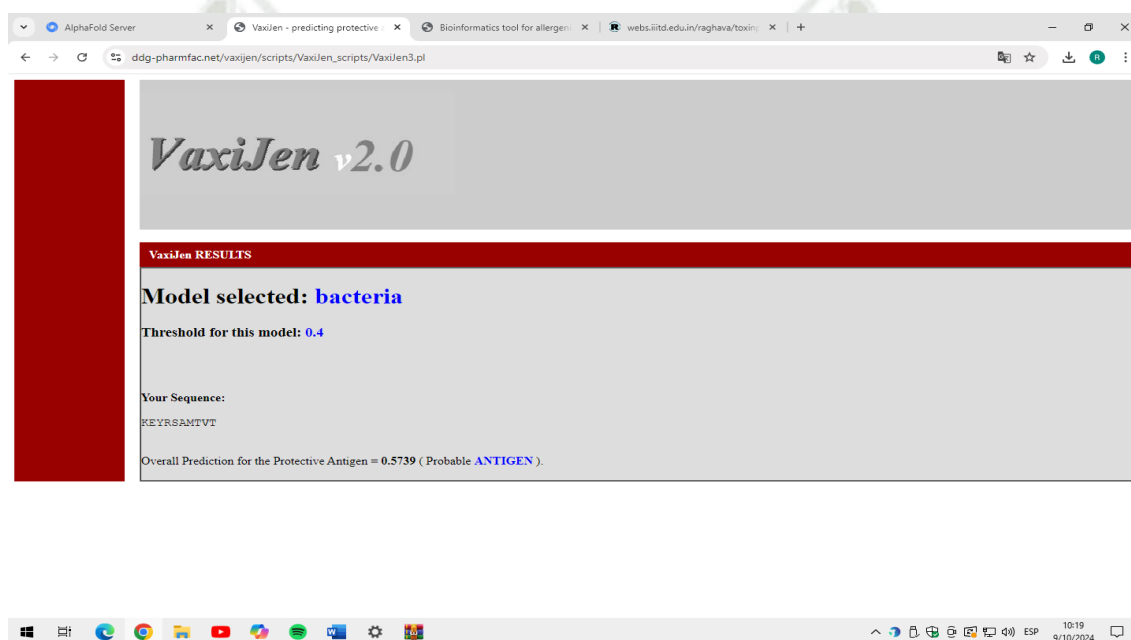


Posteriormente se procede a realizar el alineamiento de proteínas y encontrar estructuras

comunes, de esta manera se logra obtener la secuencia de aminoácidos que constituyen el epítopo del factor de virulencia del periodontopatógenos.

Seguidamente, se procedió a llevar a cabo el testeo de dicho epítopo, en primer lugar, determinar si el mismo, realmente es un epítopo, y para ello se utilizó el servidor VAXIJEN, que por medio de un algoritmo contratado con los datos obtenidos arroja un resultado en el sentido de que si la secuencia de aminoácidos es o no es un antígeno.

Imagen 121
Prueba de antigenicidad de KEYRSAMTVT

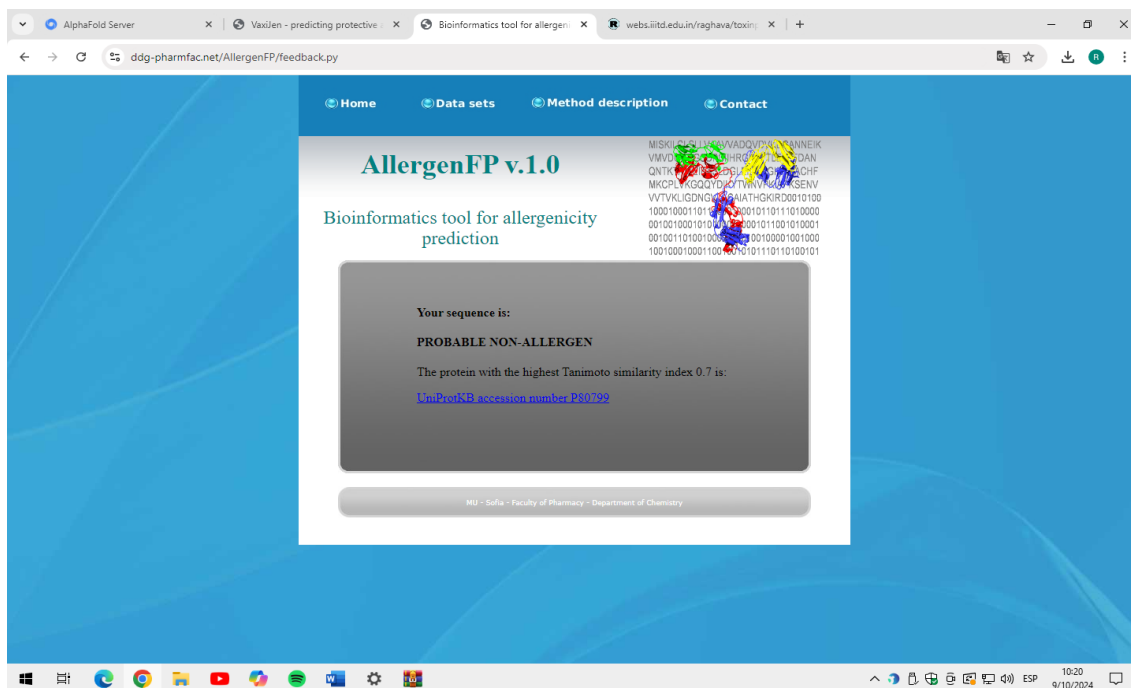


Cabe resaltar que, dichos antígenos, tienen como finalidad formar el complejo antígeno – anticuerpo, para lo cual tienen que unirse a este último, y para cumplir su función biológica deben tener afinidad por el complejo mayor de histocompatibilidad de tipo I (MHCI) o de tipo II (MHCII). En el primer caso, la unión a membrana del linfocito generara citotoxicidad, es decir, que la célula atacara y eliminara a aquellas que hayan sido infectadas o de alguna manera se hayan visto afectadas por un antígeno intracelular, por otro lado, en el segundo caso se producirá la unión a linfocitos Helper, lo que implica que la célula responderá frente a antígenos extracelulares.

El siguiente paso es llevar a cabo el testeo del posible epítopo, puesto que este debe cumplir con la particularidad de no tener potencial para generar reacciones alérgicas ni tampoco debe poder ser capaz de generar efectos tóxicos, dicho testeo se llevó a cabo en el servidor AllergenFP y ToxinPred respectivamente.

Imagen 122

Prueba de alergenicidad de KEYRSAMTVT



AlphaFold Server | Vaxijen - predicting protective | Bioinformatics tool for allergenicity | webs.iitd.edu.in/raghava/toxin/

ddg-pharmfac.net/AllergenFP/feedback.py

Home | Data sets | Method description | Contact

AllergenFP v.1.0

Bioinformatics tool for allergenicity prediction

Your sequence is:

PROBABLE NON-ALLERGEN

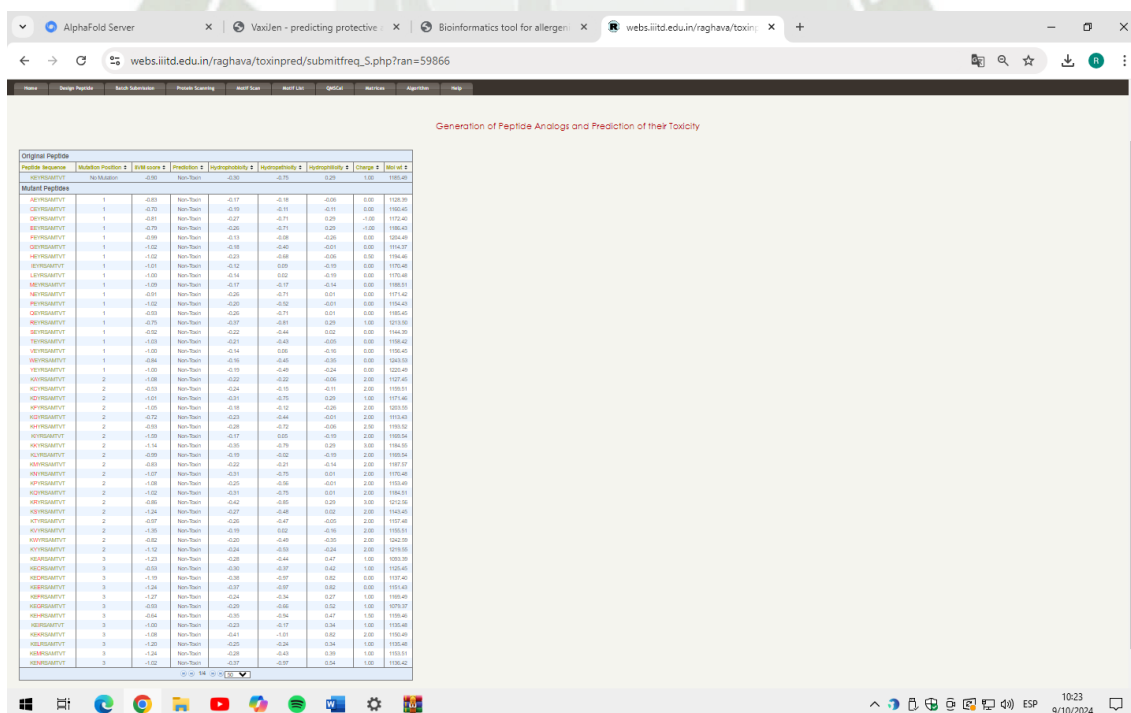
The protein with the highest Tanimoto similarity index 0.7 is:

[UniProtKB accession number P80799](#)

MU - Sofia - Faculty of Pharmacy - Department of Chemistry

Imagen 123

Prueba de toxicidad de KEYRSAMTVT



AlphaFold Server | Vaxijen - predicting protective | Bioinformatics tool for allergenicity | webs.iitd.edu.in/raghava/toxin/

webs.iitd.edu.in/raghava/toxinpred/submitfreq_S.php?ran=59866

Home | Settings | Register | Submit Sequence | Peptide Sequencing | Submit Seq | Submit List | Submit | Register | Help

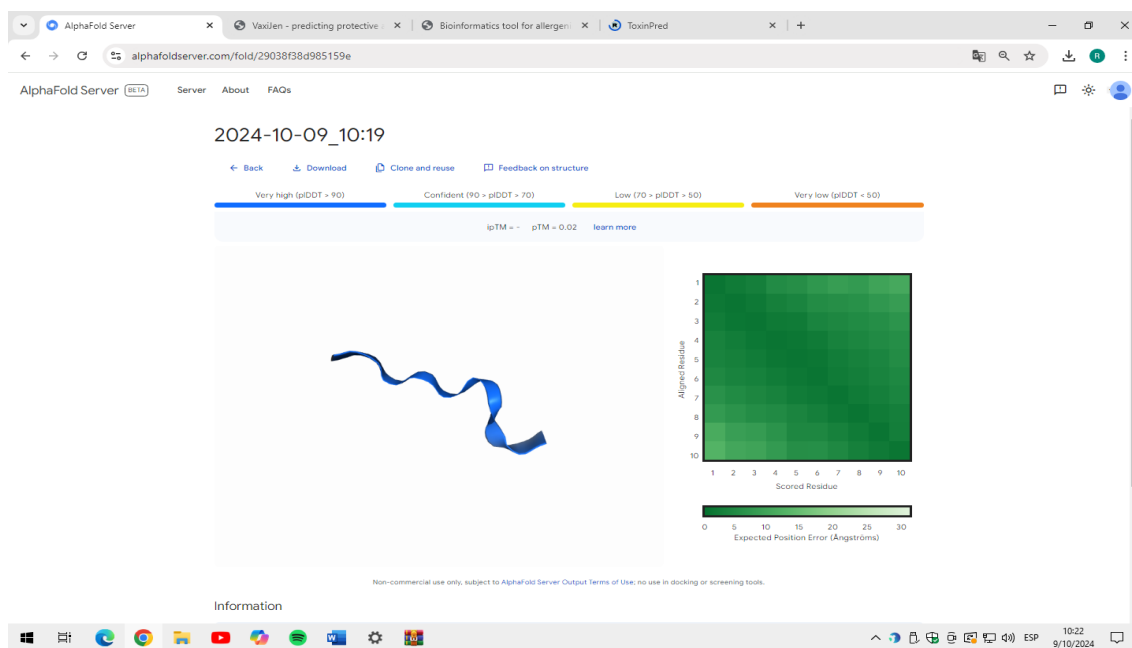
Generation of Peptide Analogs and Prediction of their Toxicity

Original Peptide	Peptide Sequence	Submit Position	EM score	Prediction	Hydrophobicity	Hydrophilicity	Charge	Net of
KEYRSAMTVT	KEYRSAMTVT	1-10	Non-Toxic	-0.30	-0.10	0.20	1.00	100.00
Mutant Peptides	1	0.00	Non-Toxic	-0.17	-0.10	0.00	0.00	100.00
KEYRSAMTVT	1	0.70	Non-Toxic	-0.10	-0.10	0.00	0.00	100.00
KEYRSAMTVT	1	0.81	Non-Toxic	-0.27	-0.11	0.20	-1.00	100.00
KEYRSAMTVT	1	0.70	Non-Toxic	-0.20	-0.11	0.20	-1.00	100.00
KEYRSAMTVT	1	0.89	Non-Toxic	-0.13	-0.08	-0.20	0.00	100.00
KEYRSAMTVT	1	1.02	Non-Toxic	-0.10	-0.40	-0.01	0.00	100.00
KEYRSAMTVT	1	1.02	Non-Toxic	-0.23	-0.08	-0.00	0.00	100.00
KEYRSAMTVT	1	1.01	Non-Toxic	-0.12	0.00	-0.10	0.00	100.00
KEYRSAMTVT	1	1.00	Non-Toxic	-0.14	0.00	-0.10	0.00	100.00
KEYRSAMTVT	1	1.00	Non-Toxic	-0.17	-0.17	-0.14	0.00	100.00
KEYRSAMTVT	1	0.81	Non-Toxic	-0.00	-0.10	0.00	0.00	100.00
KEYRSAMTVT	1	1.02	Non-Toxic	-0.20	-0.02	-0.01	0.00	100.00
KEYRSAMTVT	1	0.89	Non-Toxic	-0.20	-0.11	0.01	0.00	100.00
KEYRSAMTVT	1	0.70	Non-Toxic	-0.27	-0.01	0.20	1.00	100.00
KEYRSAMTVT	1	0.00	Non-Toxic	-0.22	-0.44	0.00	0.00	100.00
KEYRSAMTVT	1	1.00	Non-Toxic	-0.21	-0.40	-0.00	0.00	100.00
KEYRSAMTVT	1	1.00	Non-Toxic	-0.14	0.00	-0.10	0.00	100.00
KEYRSAMTVT	1	0.86	Non-Toxic	-0.10	-0.40	-0.00	0.00	100.00
KEYRSAMTVT	1	1.00	Non-Toxic	-0.10	-0.40	-0.24	0.00	100.00
KEYRSAMTVT	2	1.00	Non-Toxic	-0.22	-0.20	-0.00	0.00	100.00
KEYRSAMTVT	2	0.80	Non-Toxic	-0.24	-0.10	-0.10	0.00	100.00
KEYRSAMTVT	2	1.01	Non-Toxic	-0.31	-0.10	0.20	1.00	100.00
KEYRSAMTVT	2	1.00	Non-Toxic	-0.10	-0.10	-0.00	0.00	100.00
KEYRSAMTVT	2	0.72	Non-Toxic	-0.21	-0.44	-0.01	0.00	100.00
KEYRSAMTVT	2	0.81	Non-Toxic	-0.28	-0.10	-0.00	0.00	100.00
KEYRSAMTVT	2	1.00	Non-Toxic	-0.17	0.00	-0.10	0.00	100.00
KEYRSAMTVT	2	1.14	Non-Toxic	-0.30	-0.10	0.20	1.00	100.00
KEYRSAMTVT	2	0.80	Non-Toxic	-0.10	-0.20	-0.10	0.00	100.00
KEYRSAMTVT	2	0.89	Non-Toxic	-0.22	-0.21	-0.14	0.00	100.00
KEYRSAMTVT	2	1.07	Non-Toxic	-0.31	-0.10	0.01	0.00	100.00
KEYRSAMTVT	2	1.08	Non-Toxic	-0.21	-0.10	-0.01	0.00	100.00
KEYRSAMTVT	2	1.02	Non-Toxic	-0.31	-0.10	0.01	0.00	100.00
KEYRSAMTVT	2	0.80	Non-Toxic	-0.40	-0.00	0.20	1.00	100.00
KEYRSAMTVT	2	1.24	Non-Toxic	-0.27	-0.40	0.00	0.00	100.00
KEYRSAMTVT	2	0.87	Non-Toxic	-0.20	-0.47	-0.00	0.00	100.00
KEYRSAMTVT	2	1.10	Non-Toxic	-0.10	0.00	-0.10	0.00	100.00
KEYRSAMTVT	2	0.82	Non-Toxic	-0.20	-0.40	-0.10	0.00	100.00
KEYRSAMTVT	2	1.12	Non-Toxic	-0.24	-0.10	-0.24	0.00	100.00
KEYRSAMTVT	3	1.23	Non-Toxic	-0.20	-0.44	0.47	1.00	100.00
KEYRSAMTVT	3	0.80	Non-Toxic	-0.10	-0.17	0.40	1.00	100.00
KEYRSAMTVT	3	1.10	Non-Toxic	-0.30	-0.17	0.00	0.00	100.00
KEYRSAMTVT	3	1.24	Non-Toxic	-0.37	-0.17	0.00	0.00	100.00
KEYRSAMTVT	3	1.27	Non-Toxic	-0.24	-0.34	0.27	1.00	100.00
KEYRSAMTVT	3	0.80	Non-Toxic	-0.20	-0.40	0.00	0.00	100.00
KEYRSAMTVT	3	0.84	Non-Toxic	-0.10	-0.10	0.47	1.00	100.00
KEYRSAMTVT	3	1.00	Non-Toxic	-0.21	-0.17	0.34	1.00	100.00
KEYRSAMTVT	3	1.10	Non-Toxic	-0.21	-0.10	0.00	0.00	100.00
KEYRSAMTVT	3	1.20	Non-Toxic	-0.21	-0.24	0.34	1.00	100.00
KEYRSAMTVT	3	1.24	Non-Toxic	-0.20	-0.43	0.30	1.00	100.00
KEYRSAMTVT	3	1.02	Non-Toxic	-0.27	-0.17	0.34	1.00	100.00

Una vez completado el testeo y abiendo optenido un epitopo optimo, se procede a realizar el plegado de la estructura para lo cual se utilizo el algoritmo de AlphaFold Server, como resultado se obtiene modelos 3d de la estructura en cuestion en formato CIF.

Imagen 124

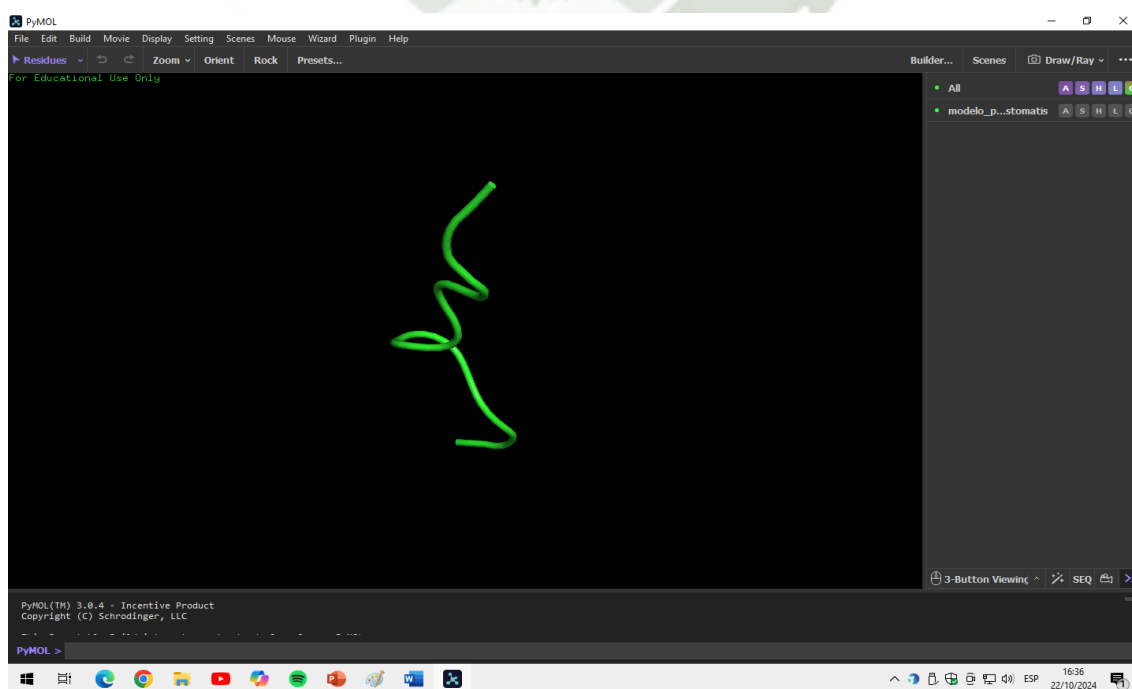
Plegado de KEYRSAMTVT



De los modelos proporcionados por AlphaFold Server, se elige el más óptimo, en relación a la estructura tridimensional, el mismo se procede a someterlo a un programa especializado en la generación de modelos 3D de estructuras proteínicas. El software PyMOL; este convierte el archivo CIF antes mencionado en un archivo de tipo PDB.

Imagen 125

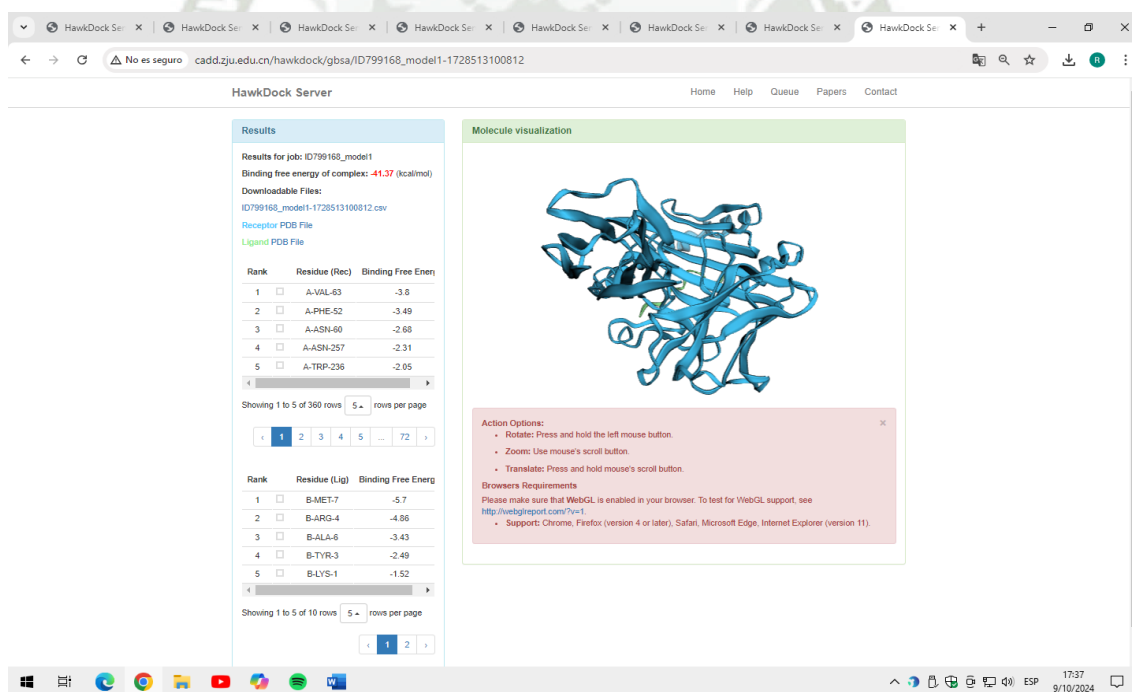
Modelado 3D de KEYRSAMTVT



Habiendo obtenido el modelo 3D del epítipo, se procede a realizar el Doking, es decir a acoplar dicho epítipo a la molécula de MHC1 o MHC2, en el presente trabajo, el acople se realiza a la molécula MHC2, dado que la presentación de antígenos por vía de acople a MHC2 permitirá que sean los linfocitos TCD4 quienes actúen contra el antígeno extracelular con el objetivo de poder neutralizarlo.

La mencionada operación se realizó en HawkDock Server, este software, permite determinar la afinidad en la unión de las estructuras antes mencionadas, es preciso señalar que en base a los principios de la termodinámica, cuando la unión entre dos elementos es positivo implica un gasto de energía para poder concretar la unión, por el contrario, si el valor es negativo, esto significa que la unión no requiere de energía y esta falta de requerimiento energético es mayor mientras más se aleje de la unidad 0, ya que el último valor mencionado implica un estado de equilibrio en el sistema.

Imagen 126
Doking con MHC II de KEYRSAMTVT



n. >WP_009530845.1 phage protein [Peptoanaerobacter stomatis]

Prosiguiendo con el estudio de los epítipos, previamente se debe de entender la naturaleza del término, un epítipo es parte de un antígeno, entendiéndose por esta toda estructura ajena al organismo que tiene la posibilidad de desencadenar una respuesta inmune, este es diferente a un inmunógeno (que es lo que se obtuvo en el presente trabajo), un agente

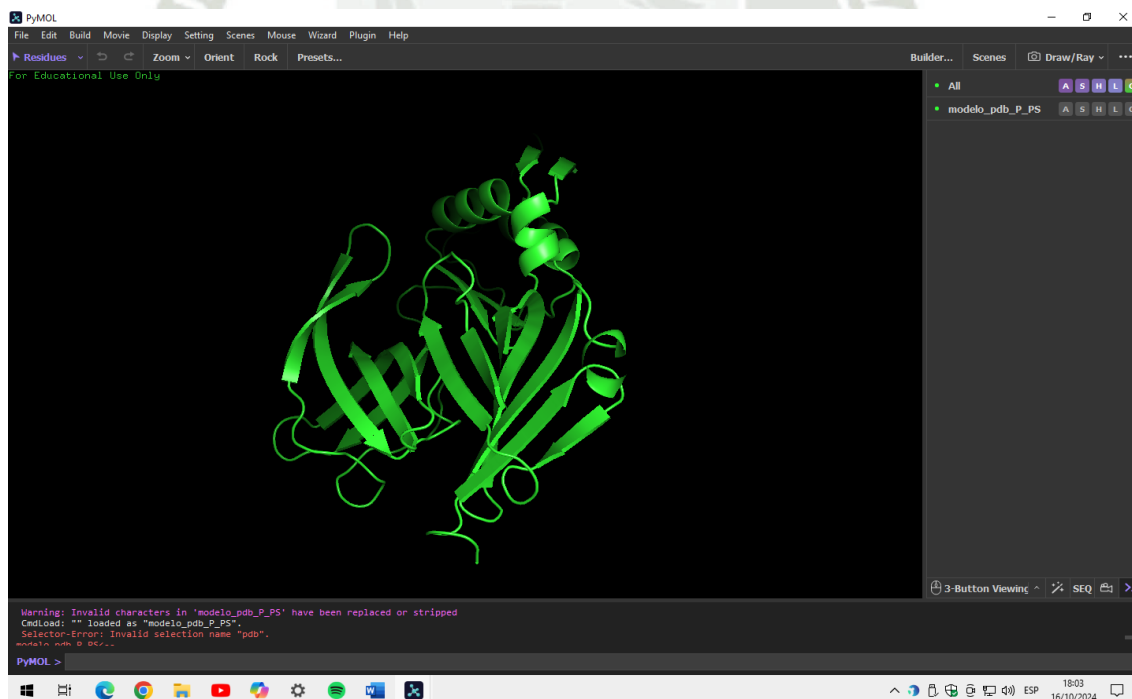
ajeno al organismo que siempre va a generar una respuesta inmune, al unirse con la región variable de un anticuerpo formando el paratopo.

El procedimiento implica obtener, en primer lugar, las estructuras proteínicas de los factores de virulencia del periodonto patógenos, los cuales se pudieron conseguir con una ardua y prolongada revisión bibliográfica en plataformas de investigación científica.

>WP_009530845.1 phage protein [Peptoanaerobacter stomatis]

MILFDRQATLQIGSKLYKSDDIDIEFNVPFSTENEPDISEISVYNLSPAISIANIKKDT
KVVLSAGYKNNIGLLISGNVATFKTTIETVDKKTMMKVATAINAWKEMKIHKTY
AKGTTSQDILSDLINNFGVTIADMSVVKNVMYKKGKTVSGRLKDVVKLALET
DSKFYMDKDRAYVRDYKKGTQSGFVLSSFTGLLGSPEAAEIKEGQKSTKQGWK
LKCLLNHNIFTDSIIVLDSKLVKGNFRVVKGRHTSEWITEMEVV
ISEISVYNLSPA

Imagen 127
Modelado 3D de phage protein

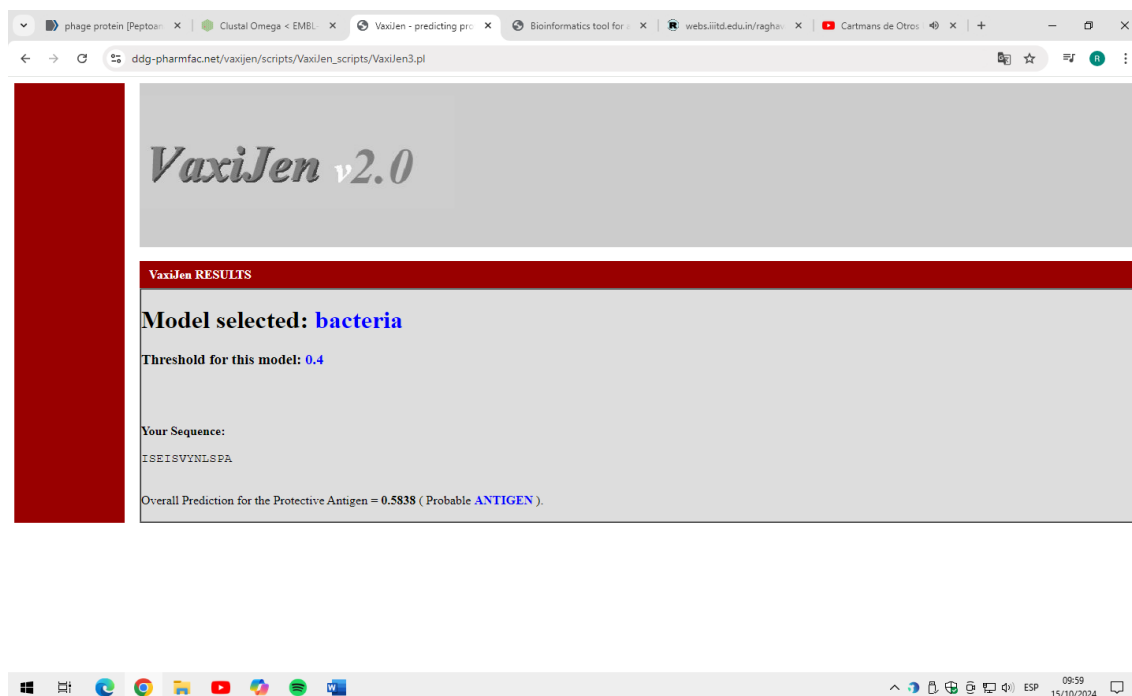


Posteriormente se procede a realizar el alineamiento de proteínas y encontrar estructuras comunes, de esta manera se logra obtener la secuencia de aminoácidos que constituyen el epítipo del factor de virulencia del periodontopatógenos.

Seguidamente, se procedió a llevar a cabo el testeo de dicho epítipo, en primer lugar,

determinar si el mismo, realmente es un epítopo, y para ello se utilizó el servidor VAXIJEN, que por medio de un algoritmo contratado con los datos obtenidos arroja un resultado en el sentido de que si la secuencia de aminoácidos es o no es un antígeno.

Imagen 128
Prueba de antigenicidad de ISEISVYNLSPA

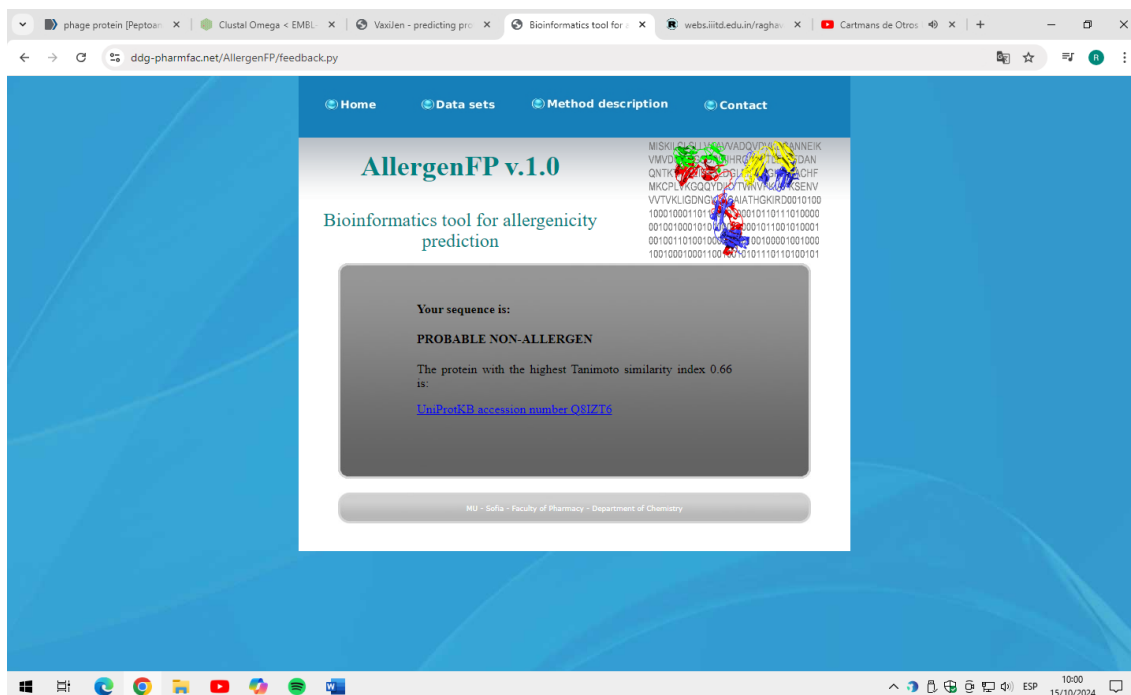


Cabe resaltar que, dichos antígenos, tienen como finalidad formar el complejo antígeno – anticuerpo, para lo cual tienen que unirse a este último, y para cumplir su función biológica deben tener afinidad por el complejo mayor de histocompatibilidad de tipo I (MHCI) o de tipo II (MHCII). En el primer caso, la unión a membrana del linfocito generara citotoxicidad, es decir, que la célula atacara y eliminara a aquellas que hayan sido infectadas o de alguna manera se hayan visto afectadas por un antígeno intracelular, por otro lado, en el segundo caso se producirá la unión a linfocitos Helper, lo que implica que la célula responderá frente a antígenos extracelulares.

El siguiente paso es llevar a cabo el testeo del posible epítopo, puesto que este debe cumplir con la particularidad de no tener potencial para generar reacciones alérgicas ni tampoco debe poder ser capaz de generar efectos tóxicos, dicho testeo se llevó a cabo en el servidor AllergenFP y ToxinPred respectivamente.

Imagen 129

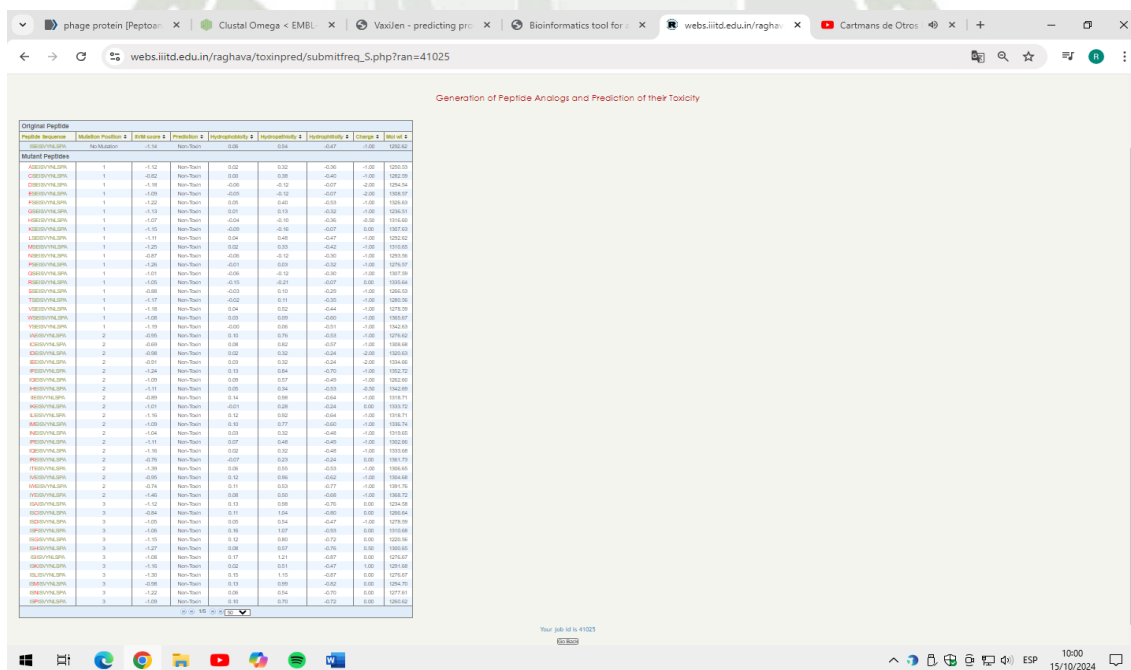
Prueba de alergenicidad de ISEISVYNLSPA



The screenshot shows the AllergenFP v.1.0 web application. The interface includes a navigation bar with links to Home, Data sets, Method description, and Contact. The main content area displays the title "AllergenFP v.1.0" and the subtitle "Bioinformatics tool for allergenicity prediction". A 3D protein structure model is shown on the right. The results section indicates that the sequence is "PROBABLE NON-ALLERGEN" with a Tanimoto similarity index of 0.66. The protein with the highest similarity is identified as UniProtKB accession number O8IZT6. The footer mentions "MU - Sofia - Faculty of Pharmacy - Department of Chemistry".

Imagen 130

Prueba de toxicidad de ISEISVYNLSPA

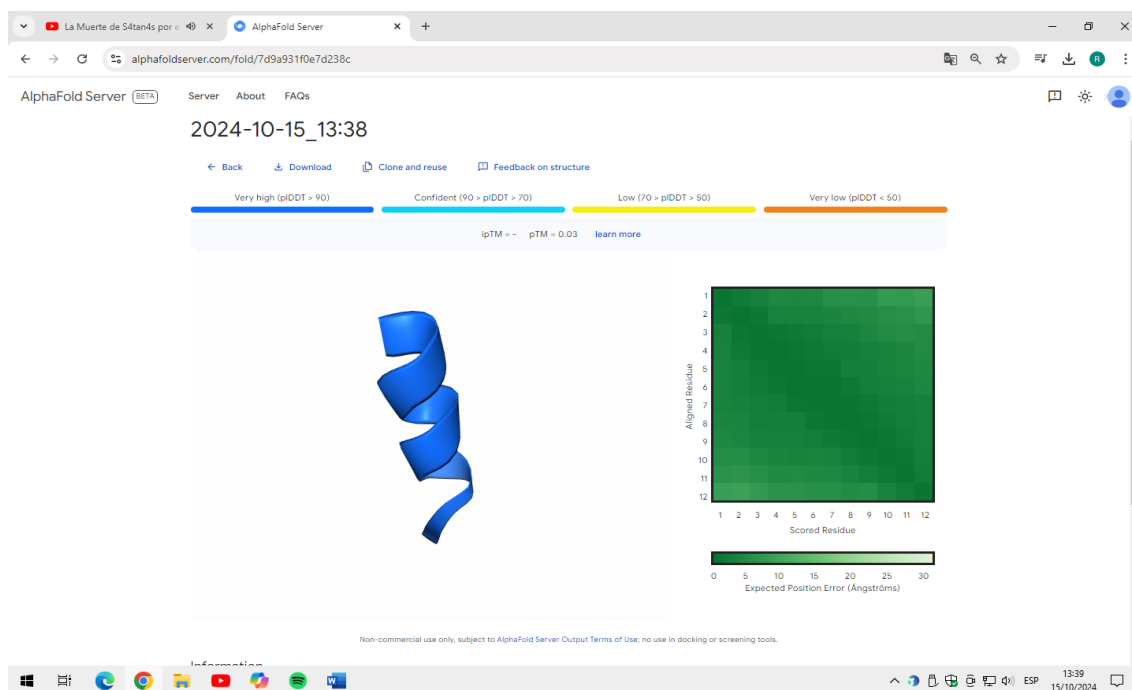


The screenshot shows the web application interface for generating peptide analogs and predicting their toxicity. The title is "Generation of Peptide Analogs and Prediction of their Toxicity". A table displays the results of the analysis, including columns for Peptide Sequence, Mutation Position, EPR score, Prediction, Hydrophobicity, Hydrophilicity, Charge, and Mol wt. The table lists various peptide sequences and their corresponding properties. The footer indicates "Your job id is 41025".

Peptide Sequence	Mutation Position	EPR score	Prediction	Hydrophobicity	Hydrophilicity	Charge	Mol wt
ISEISVYNLSPA	1	11.12	Non-Toxic	0.02	0.02	-0.06	1202.03
ISEISVYNLSPA	1	11.02	Non-Toxic	0.03	0.04	-0.06	1202.03
ISEISVYNLSPA	1	11.08	Non-Toxic	0.03	0.04	-0.07	1202.04
ISEISVYNLSPA	1	11.09	Non-Toxic	0.03	0.04	-0.07	1202.03
ISEISVYNLSPA	1	11.22	Non-Toxic	0.03	0.04	-0.03	1202.03
ISEISVYNLSPA	1	11.13	Non-Toxic	0.03	0.03	-0.02	1202.03
ISEISVYNLSPA	1	11.27	Non-Toxic	0.04	0.04	-0.06	1202.03
ISEISVYNLSPA	1	11.15	Non-Toxic	0.03	0.04	-0.07	1202.03
ISEISVYNLSPA	1	11.14	Non-Toxic	0.04	0.04	-0.07	1202.03
ISEISVYNLSPA	1	11.25	Non-Toxic	0.02	0.03	-0.02	1202.03
ISEISVYNLSPA	1	11.07	Non-Toxic	0.03	0.04	-0.02	1202.03
ISEISVYNLSPA	1	11.26	Non-Toxic	0.03	0.03	-0.02	1202.03
ISEISVYNLSPA	1	11.01	Non-Toxic	0.03	0.04	-0.02	1202.03
ISEISVYNLSPA	1	11.05	Non-Toxic	0.03	0.04	-0.07	1202.03
ISEISVYNLSPA	1	11.08	Non-Toxic	0.03	0.03	-0.03	1202.03
ISEISVYNLSPA	1	11.17	Non-Toxic	0.02	0.03	-0.02	1202.03
ISEISVYNLSPA	1	11.10	Non-Toxic	0.04	0.02	-0.04	1202.03
ISEISVYNLSPA	1	11.06	Non-Toxic	0.03	0.03	-0.03	1202.03
ISEISVYNLSPA	1	11.19	Non-Toxic	0.03	0.03	-0.01	1202.03
ISEISVYNLSPA	1	11.00	Non-Toxic	0.03	0.04	-0.03	1202.03
ISEISVYNLSPA	2	11.06	Non-Toxic	0.03	0.04	-0.07	1202.03
ISEISVYNLSPA	2	11.09	Non-Toxic	0.03	0.04	-0.07	1202.03
ISEISVYNLSPA	2	11.04	Non-Toxic	0.03	0.04	-0.07	1202.03
ISEISVYNLSPA	2	11.01	Non-Toxic	0.03	0.04	-0.07	1202.03
ISEISVYNLSPA	2	11.03	Non-Toxic	0.03	0.04	-0.07	1202.03
ISEISVYNLSPA	2	11.11	Non-Toxic	0.03	0.04	-0.07	1202.03
ISEISVYNLSPA	2	11.05	Non-Toxic	0.03	0.04	-0.07	1202.03
ISEISVYNLSPA	2	11.06	Non-Toxic	0.03	0.04	-0.07	1202.03
ISEISVYNLSPA	2	11.07	Non-Toxic	0.03	0.04	-0.07	1202.03
ISEISVYNLSPA	2	11.08	Non-Toxic	0.03	0.04	-0.07	1202.03
ISEISVYNLSPA	2	11.09	Non-Toxic	0.03	0.04	-0.07	1202.03
ISEISVYNLSPA	2	11.10	Non-Toxic	0.03	0.04	-0.07	1202.03
ISEISVYNLSPA	2	11.11	Non-Toxic	0.03	0.04	-0.07	1202.03
ISEISVYNLSPA	2	11.12	Non-Toxic	0.03	0.04	-0.07	1202.03
ISEISVYNLSPA	2	11.13	Non-Toxic	0.03	0.04	-0.07	1202.03
ISEISVYNLSPA	2	11.14	Non-Toxic	0.03	0.04	-0.07	1202.03
ISEISVYNLSPA	2	11.15	Non-Toxic	0.03	0.04	-0.07	1202.03
ISEISVYNLSPA	2	11.16	Non-Toxic	0.03	0.04	-0.07	1202.03
ISEISVYNLSPA	2	11.17	Non-Toxic	0.03	0.04	-0.07	1202.03
ISEISVYNLSPA	2	11.18	Non-Toxic	0.03	0.04	-0.07	1202.03
ISEISVYNLSPA	2	11.19	Non-Toxic	0.03	0.04	-0.07	1202.03
ISEISVYNLSPA	2	11.20	Non-Toxic	0.03	0.04	-0.07	1202.03
ISEISVYNLSPA	2	11.21	Non-Toxic	0.03	0.04	-0.07	1202.03
ISEISVYNLSPA	2	11.22	Non-Toxic	0.03	0.04	-0.07	1202.03
ISEISVYNLSPA	2	11.23	Non-Toxic	0.03	0.04	-0.07	1202.03
ISEISVYNLSPA	2	11.24	Non-Toxic	0.03	0.04	-0.07	1202.03
ISEISVYNLSPA	2	11.25	Non-Toxic	0.03	0.04	-0.07	1202.03
ISEISVYNLSPA	2	11.26	Non-Toxic	0.03	0.04	-0.07	1202.03
ISEISVYNLSPA	2	11.27	Non-Toxic	0.03	0.04	-0.07	1202.03
ISEISVYNLSPA	2	11.28	Non-Toxic	0.03	0.04	-0.07	1202.03
ISEISVYNLSPA	2	11.29	Non-Toxic	0.03	0.04	-0.07	1202.03
ISEISVYNLSPA	2	11.30	Non-Toxic	0.03	0.04	-0.07	1202.03
ISEISVYNLSPA	2	11.31	Non-Toxic	0.03	0.04	-0.07	1202.03
ISEISVYNLSPA	2	11.32	Non-Toxic	0.03	0.04	-0.07	1202.03
ISEISVYNLSPA	2	11.33	Non-Toxic	0.03	0.04	-0.07	1202.03
ISEISVYNLSPA	2	11.34	Non-Toxic	0.03	0.04	-0.07	1202.03
ISEISVYNLSPA	2	11.35	Non-Toxic	0.03	0.04	-0.07	1202.03
ISEISVYNLSPA	2	11.36	Non-Toxic	0.03	0.04	-0.07	1202.03
ISEISVYNLSPA	2	11.37	Non-Toxic	0.03	0.04	-0.07	1202.03
ISEISVYNLSPA	2	11.38	Non-Toxic	0.03	0.04	-0.07	1202.03
ISEISVYNLSPA	2	11.39	Non-Toxic	0.03	0.04	-0.07	1202.03
ISEISVYNLSPA	2	11.40	Non-Toxic	0.03	0.04	-0.07	1202.03
ISEISVYNLSPA	2	11.41	Non-Toxic	0.03	0.04	-0.07	1202.03
ISEISVYNLSPA	2	11.42	Non-Toxic	0.03	0.04	-0.07	1202.03
ISEISVYNLSPA	2	11.43	Non-Toxic	0.03	0.04	-0.07	1202.03
ISEISVYNLSPA	2	11.44	Non-Toxic	0.03	0.04	-0.07	1202.03
ISEISVYNLSPA	2	11.45	Non-Toxic	0.03	0.04	-0.07	1202.03
ISEISVYNLSPA	2	11.46	Non-Toxic	0.03	0.04	-0.07	1202.03
ISEISVYNLSPA	2	11.47	Non-Toxic	0.03	0.04	-0.07	1202.03
ISEISVYNLSPA	2	11.48	Non-Toxic	0.03	0.04	-0.07	1202.03
ISEISVYNLSPA	2	11.49	Non-Toxic	0.03	0.04	-0.07	1202.03
ISEISVYNLSPA	2	11.50	Non-Toxic	0.03	0.04	-0.07	1202.03
ISEISVYNLSPA	2	11.51	Non-Toxic	0.03	0.04	-0.07	1202.03
ISEISVYNLSPA	2	11.52	Non-Toxic	0.03	0.04	-0.07	1202.03
ISEISVYNLSPA	2	11.53	Non-Toxic	0.03	0.04	-0.07	1202.03
ISEISVYNLSPA	2	11.54	Non-Toxic	0.03	0.04	-0.07	1202.03
ISEISVYNLSPA	2	11.55	Non-Toxic	0.03	0.04	-0.07	1202.03
ISEISVYNLSPA	2	11.56	Non-Toxic	0.03	0.04	-0.07	1202.03
ISEISVYNLSPA	2	11.57	Non-Toxic	0.03	0.04	-0.07	1202.03
ISEISVYNLSPA	2	11.58	Non-Toxic	0.03	0.04	-0.07	1202.03
ISEISVYNLSPA	2	11.59	Non-Toxic	0.03	0.04	-0.07	1202.03
ISEISVYNLSPA	2	11.60	Non-Toxic	0.03	0.04	-0.07	1202.03
ISEISVYNLSPA	2	11.61	Non-Toxic	0.03	0.04	-0.07	1202.03
ISEISVYNLSPA	2	11.62	Non-Toxic	0.03	0.04	-0.07	1202.03
ISEISVYNLSPA	2	11.63	Non-Toxic	0.03	0.04	-0.07	1202.03
ISEISVYNLSPA	2	11.64	Non-Toxic	0.03	0.04	-0.07	1202.03
ISEISVYNLSPA	2	11.65	Non-Toxic	0.03	0.04	-0.07	1202.03
ISEISVYNLSPA	2	11.66	Non-Toxic	0.03	0.04	-0.07	1202.03
ISEISVYNLSPA	2	11.67	Non-Toxic	0.03	0.04	-0.07	1202.03
ISEISVYNLSPA	2	11.68	Non-Toxic	0.03	0.04	-0.07	1202.03
ISEISVYNLSPA	2	11.69	Non-Toxic	0.03	0.04	-0.07	1202.03
ISEISVYNLSPA	2	11.70	Non-Toxic	0.03	0.04	-0.07	1202.03
ISEISVYNLSPA	2	11.71	Non-Toxic	0.03	0.04	-0.07	1202.03
ISEISVYNLSPA	2	11.72	Non-Toxic	0.03	0.04	-0.07	1202.03
ISEISVYNLSPA	2	11.73	Non-Toxic	0.03	0.04	-0.07	1202.03
ISEISVYNLSPA	2	11.74	Non-Toxic	0.03	0.04	-0.07	1202.03
ISEISVYNLSPA	2	11.75	Non-Toxic	0.03	0.04	-0.07	1202.03
ISEISVYNLSPA	2	11.76	Non-Toxic	0.03	0.04	-0.07	1202.03
ISEISVYNLSPA	2	11.77	Non-Toxic	0.03	0.04	-0.07	1202.03
ISEISVYNLSPA	2	11.78	Non-Toxic	0.03	0.04	-0.07	1202.03
ISEISVYNLSPA	2	11.79	Non-Toxic	0.03	0.04	-0.07	1202.03
ISEISVYNLSPA	2	11.80	Non-Toxic	0.03	0.04	-0.07	1202.03
ISEISVYNLSPA	2	11.81	Non-Toxic	0.03	0.04	-0.07	1202.03
ISEISVYNLSPA	2	11.82	Non-Toxic	0.03	0.04	-0.07	1202.03
ISEISVYNLSPA	2	11.83	Non-Toxic	0.03	0.04	-0.07	1202.03
ISEISVYNLSPA	2	11.84	Non-Toxic	0.03	0.04	-0.07	1202.03
ISEISVYNLSPA	2	11.85	Non-Toxic	0.03	0.04	-0.07	1202.03
ISEISVYNLSPA	2	11.86	Non-Toxic	0.03	0.04	-0.07	1202.03
ISEISVYNLSPA	2	11.87	Non-Toxic	0.03	0.04	-0.07	1202.03
ISEISVYNLSPA	2	11.88	Non-Toxic	0.03	0.04	-0.07	1202.03
ISEISVYNLSPA	2	11.89	Non-Toxic	0.03	0.04	-0.07	1202.03
ISEISVYNLSPA	2	11.90	Non-Toxic	0.03	0.04	-0.07	1202.03
ISEISVYNLSPA	2	11.91	Non-Toxic	0.03	0.04	-0.07	1202.03
ISEISVYNLSPA	2	11.92	Non-Toxic	0.03	0.04	-0.07	1202.03
ISEISVYNLSPA	2	11.93	Non-Toxic	0.03	0.04	-0.07	1202.03
ISEISVYNLSPA	2	11.94	Non-Toxic	0.03	0.04	-0.07	1202.03
ISEISVYNLSPA	2	11.95	Non-Toxic	0.03	0.04	-0.07	1202.03
ISEISVYNLSPA	2	11.96	Non-Toxic	0.03	0.04	-0.07	1202.03
ISEISVYNLSPA	2	11.97	Non-Toxic	0.03	0.04	-0.07	1202.03
ISEISVYNLSPA	2	11.98	Non-Toxic	0.03	0.04	-0.07	1202.03
ISEISVYNLSPA	2	11.99	Non-Toxic	0.03	0.04	-0.07	1202.03
ISEISVYNLSPA	2	12.00	Non-Toxic	0.03	0.04	-0.07	1202.03

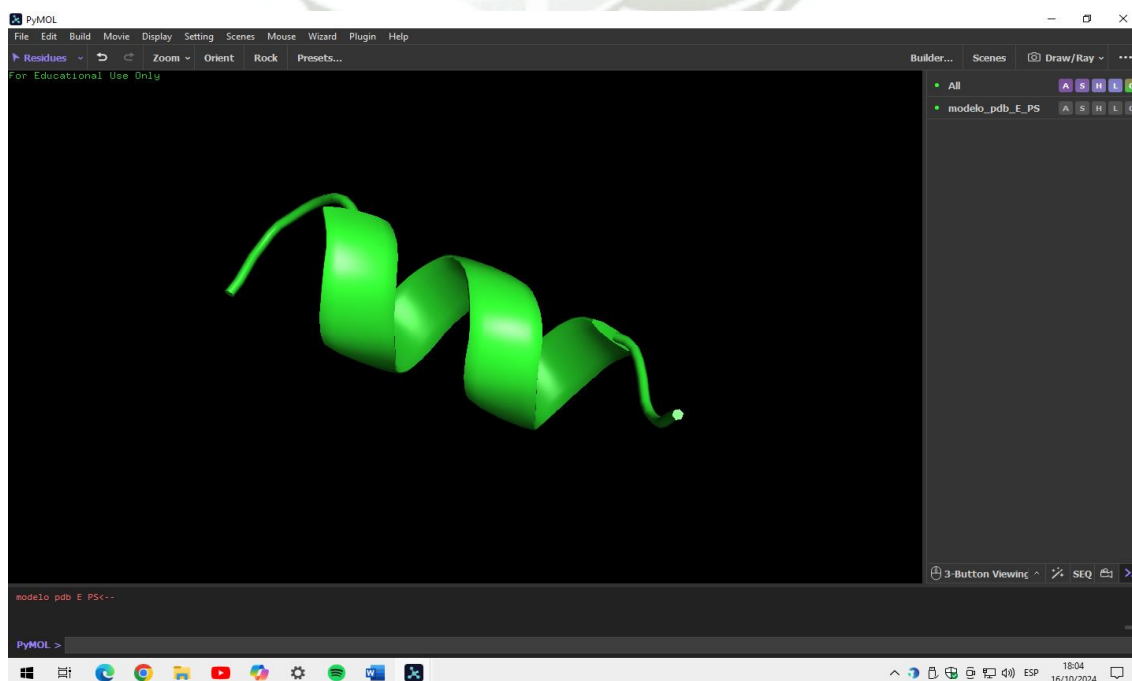
Una vez completado el testeo y abiendo optenido un epitopo optimo, se procede a realizar el plegado de la estructura para lo cual se utilizo el algoritmo de AlphaFold Server, como resultado se obtiene modelos 3d de la estructura en cuestion en formato CIF.

Imagen 131 Plegado de ISEISVYNLSPA



De los modelos proporcionados por AlphaFold Server, se elige el más óptimo, en relación a la estructura tridimensional, el mismo se procede a someterlo a un programa especializado en la generación de modelos 3D de estructuras proteínicas. El software PyMOL; este convierte el archivo CIF antes mencionado en un archivo de tipo PDB.

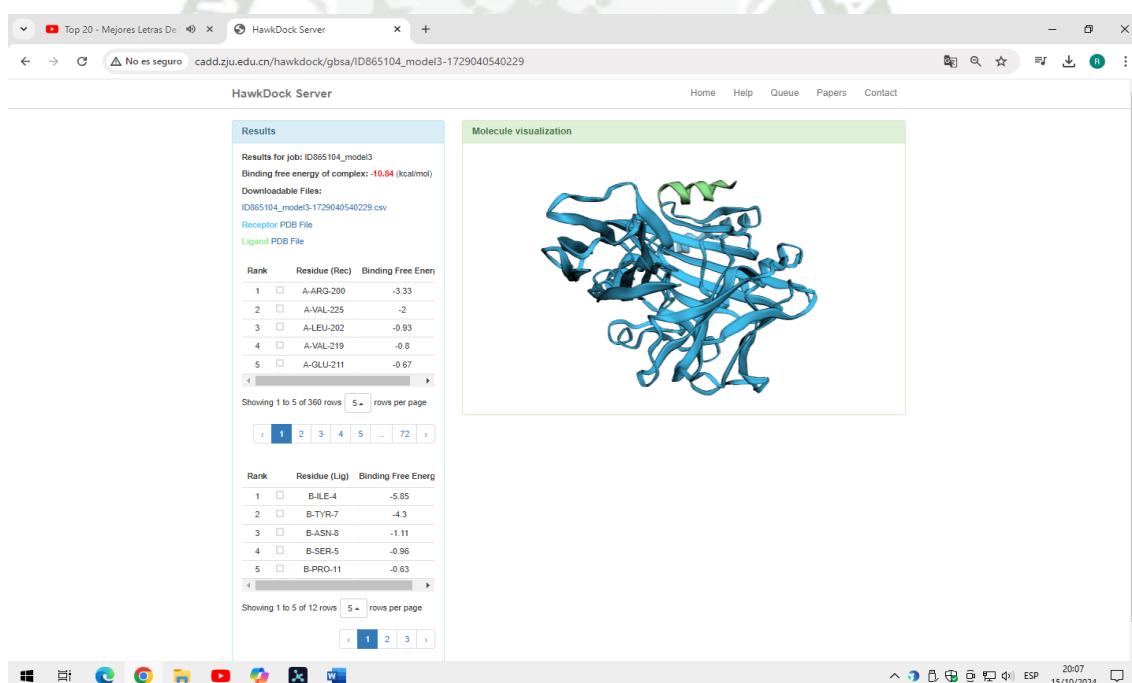
Imagen 132 Modelado 3D de ISEISVYNLSPA



Habiendo obtenido el modelo 3D del epítipo, se procede a realizar el Doking, es decir a acoplar dicho epítipo a la molécula de MHC1 o MHC2, en el presente trabajo, el acople se realiza a la molécula MHC2, dado que la presentación de antígenos por vía de acople a MHC2 permitirá que sean los linfocitos TCD4 quienes actúen contra el antígeno extracelular con el objetivo de poder neutralizarlo.

La mencionada operación se realizó en HawkDock Server, este software, permite determinar la afinidad en la unión de las estructuras antes mencionadas, es preciso señalar que en base a los principios de la termodinámica, cuando la unión entre dos elementos es positivo implica un gasto de energía para poder concretar la unión, por el contrario, si el valor es negativo, esto significa que la unión no requiere de energía y esta falta de requerimiento energético es mayor mientras más se aleje de la unidad 0, ya que el último valor mencionado implica un estado de equilibrio en el sistema.

Imagen 133
Doking con MHC II de ISEISVYNLSPA



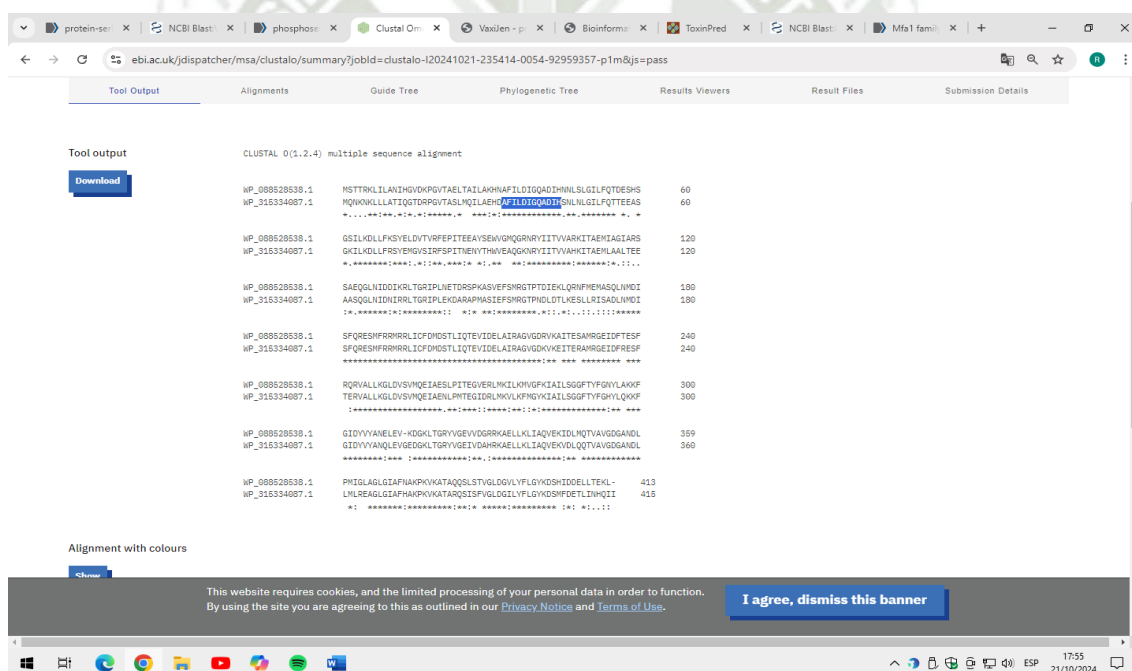
- o. >WP_088528538.1 protein-serine phosphatase SerB [Porphyromonas gingivalis]
y >WP_315334087.1 phosphoserine phosphatase SerB [Porphyromonas endodontalis]

En este caso el estudio de los epítipos, previamente se debe de entender la naturaleza del término, un epítipo es parte de un antígeno, entendiéndose por esta toda estructura ajena

al organismo que tiene la posibilidad de desencadenar una respuesta inmune, este es diferente a un inmunógeno (que es lo que se obtuvo en el presente trabajo), un agente ajeno al organismo que siempre va a generar una respuesta inmune, al unirse con la región variable de un anticuerpo formando el paratopo.

El procedimiento implica obtener, en primer lugar, las estructuras proteínicas de los factores de virulencia de ambos periodontopatógenos, los cuales se pudieron conseguir con una ardua y prolongada revisión bibliográfica en plataformas de investigación científica además de utilizar servidor Clustal Omega, con el fin de poder encontrar estructuras homologas en ambos microorganismos, dado que estos pertenecen a la misma familia.

Imagen 134
BLAST de protein-serine phosphatase SerB

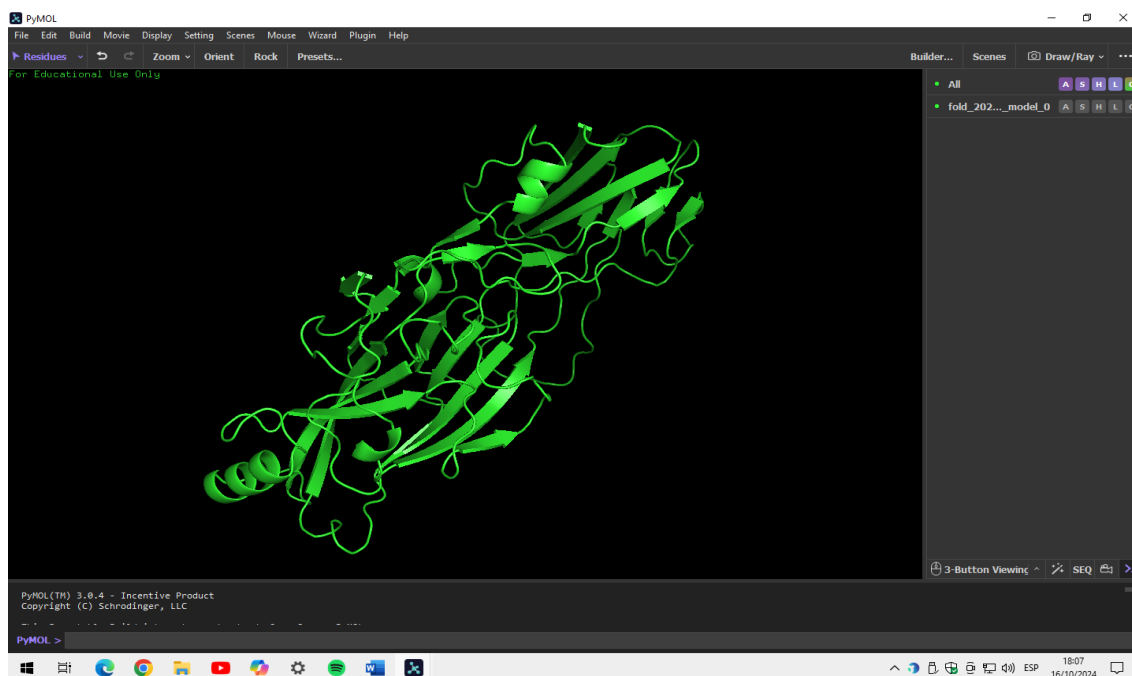


>WP_088528538.1 protein-serine phosphatase SerB [Porphyromonas gingivalis]

MSTTRKLILANIHGVDKPGVTAELTAILAKHNAFILDIGQADIHNNLSLGILFQT
DESHSGSILKDLLFKSYELDVTVRFEFITEEAYSEWVGMQGRNRYIITVVARKIT
AEMIAGIARSSAEQGLNIDDIKRLTGRIPNETDRSPKASVEFSMRGTPTDIEKLQ
RNFMEMASQLNMDISFQRESMFRMRRLICFDMDDSTLIQTEVIDELAIRAGVGD
RVKAITESAMRGEIDFTESFRQRVALLKGLDVSVMQEIAESLPITEGVERLMKIL
KMVGFKIAILSGGFTYFGNYLAKKFGIDYVYANELEVVDGKLTGRYVGEVVDG

RRKAELLKLIAQVEKIDLMQTVAVGDGANDLPMIGLAGLGIAFNAKPKVKATA
QQSLSTVGLDGVLYFLGYKDSHIDDELLTEKL
LYFLGYKDS

Imagen 135
Modelado 3D de protein-serine phosphatase SerB



>WP_315334087.1 phosphoserine phosphatase SerB [Porphyromonas endodontalis]

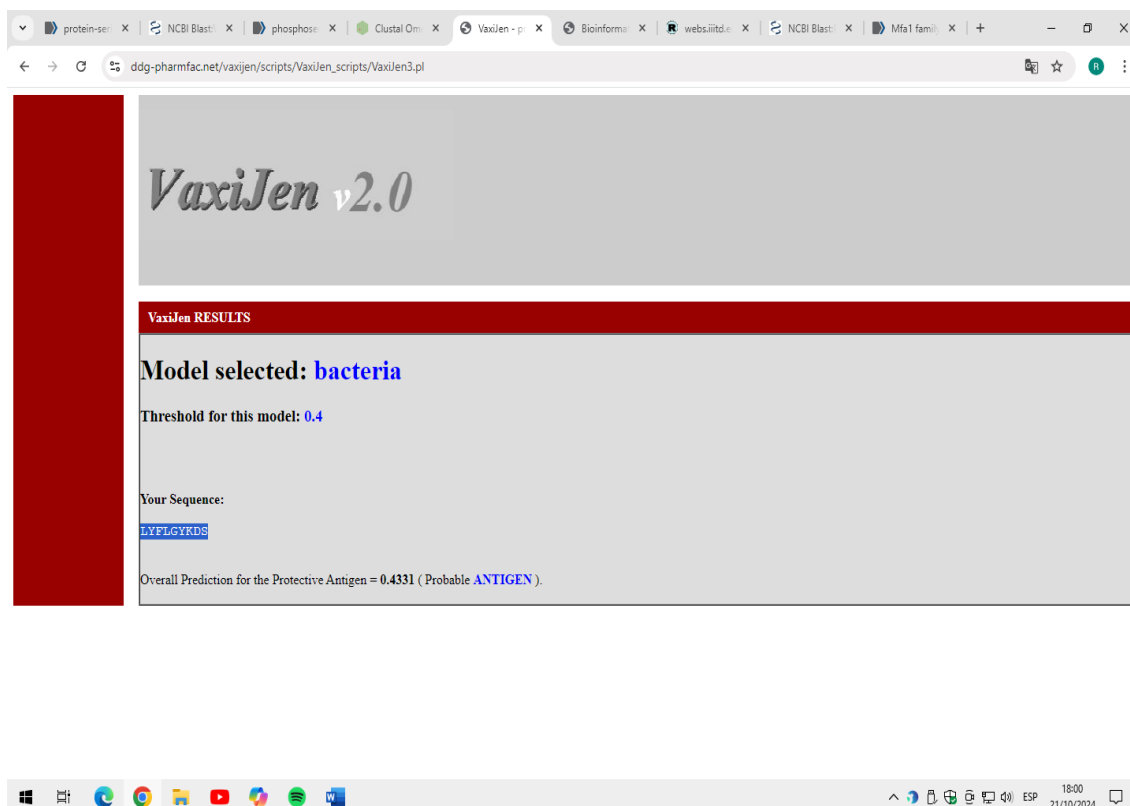
MQNKNKLLLATIQGTDRPGVTASLMQILAEHDAFILDIGQADIHSNLNLGILFQT
TEEASGKILKDLLFRSYEMGV SIRFSPITNENYTHWVEAQGNRYIITVVAHKIT
AEMLAALTEEAASQGLNIDNIRRLTGRIPLEKDARAPMASIEFSMRGTPNDLDT
LKESLLRISADLNMDISFQRESMFRRMRRLICFDMDSTLIQTEVIDELAIRAGVG
DKVKEITERAMRGEIDFRESFTERVALLKGLDV SVMQEIAENLPMTEGIDRLMK
VLKFMGYKIAILSGGFTYFGHYLQKKFGIDYVYANQLEVGEDGKLTGRYVGEI
VDAHRKAELLKLIAQVEKVDLQQTAVGDGANDLLMLREAGLGIAFHAKPKV
KATARQSISFVGLDGILYFLGYKDSMFDET LINHQII
LYFLGYKDS

Posteriormente se procede a realizar el alineamiento de proteínas y encontrar estructuras comunes, de esta manera se logra obtener la secuencia de aminoácidos que constituyen el epitopo del factor de virulencia del periodontopatógenos.

Seguidamente, se procedió a llevar a cabo el testeo de dicho epítopo, en primer lugar,

determinar si el mismo, realmente es un epítopo, y para ello se utilizó el servidor VAXIJEN, que por medio de un algoritmo contratado con los datos obtenidos arroja un resultado en el sentido de que si la secuencia de aminoácidos es o no es un antígeno.

Imagen 136
Prueba de antigenicidad de LYFLGYKDS

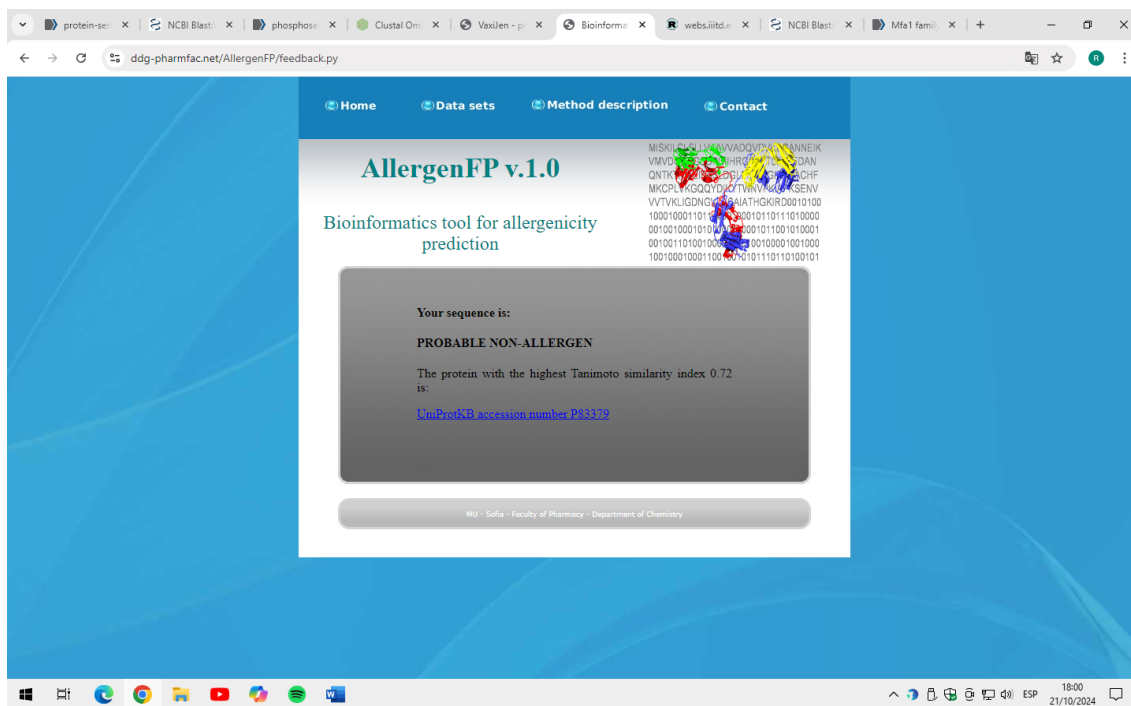


Cabe resaltar que, dichos antígenos, tienen como finalidad formar el complejo antígeno – anticuerpo, para lo cual tienen que unirse a este último, y para cumplir su función biológica deben tener afinidad por el complejo mayor de histocompatibilidad de tipo I (MHCI) o de tipo II (MHCII). En el primer caso, la unión a membrana del linfocito generara citotoxicidad, es decir, que la célula atacara y eliminara a aquellas que hayan sido infectadas o de alguna manera se hayan visto afectadas por un antígeno intracelular, por otro lado, en el segundo caso se producirá la unión a linfocitos Helper, lo que implica que la célula responderá frente a antígenos extracelulares.

El siguiente paso es llevar a cabo el testeo del posible epítopo, puesto que este debe cumplir con la particularidad de no tener potencial para generar reacciones alérgica ni tampoco debe poder ser capaz de generar efectos tóxicos, dicho testeo se llevó a cabo en el servidor AllergenFP y ToxinPred respectivamente.

Imagen 137

Prueba de alergenicidad de LYFLGYKDS



AllergenFP v.1.0

Bioinformatics tool for allergenicity prediction

Your sequence is:

PROBABLE NON-ALLERGEN

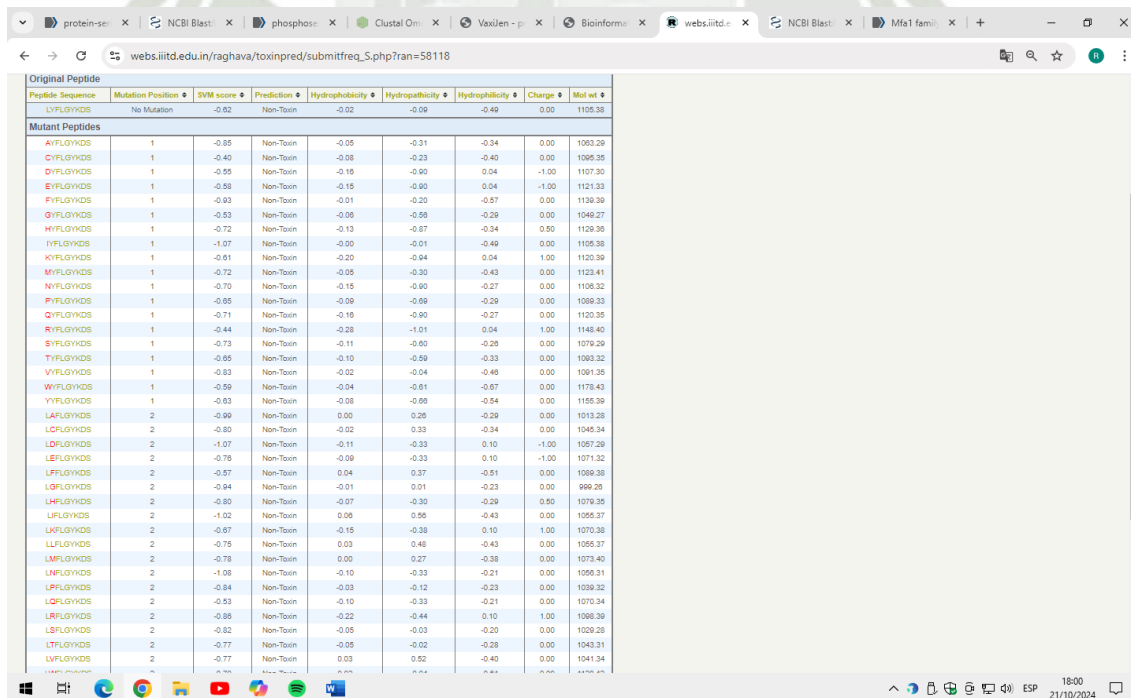
The protein with the highest Tanimoto similarity index 0.72 is:

[UniProtKB accession number P83379](#)

MU - Sofia - Faculty of Pharmacy - Department of Chemistry

Imagen 138

Prueba de toxicidad de LYFLGYKDS

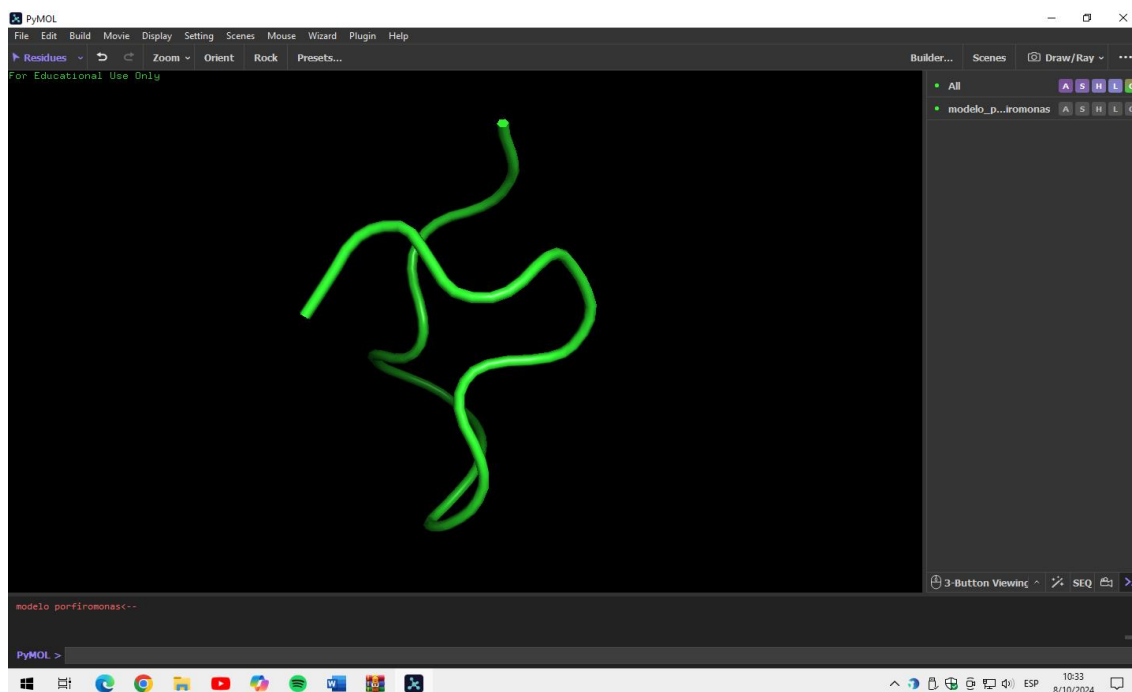


Peptide Sequence	Mutation Position	SVM score	Prediction	Hydrophobicity	Hydrophilicity	Charge	Mol wt
LYFLGYKDS	No Mutation	-0.62	Non-Toxin	-0.02	-0.09	-0.49	1105.38
AYFLGYKDS	1	-0.85	Non-Toxin	-0.05	-0.31	-0.34	1093.29
CYFLGYKDS	1	-0.40	Non-Toxin	-0.08	-0.23	-0.40	1096.35
DYFLGYKDS	1	-0.55	Non-Toxin	-0.16	-0.90	0.04	1107.30
EYFLGYKDS	1	-0.58	Non-Toxin	-0.15	-0.90	0.04	1121.33
FYFLGYKDS	1	-0.93	Non-Toxin	-0.01	-0.20	-0.57	1130.39
GYFLGYKDS	1	-0.53	Non-Toxin	-0.05	-0.58	-0.29	1049.27
HYFLGYKDS	1	-0.72	Non-Toxin	-0.13	-0.67	-0.34	1126.39
IYFLGYKDS	1	-1.07	Non-Toxin	-0.00	-0.01	-0.49	1105.38
KYFLGYKDS	1	-0.61	Non-Toxin	-0.20	-0.94	0.04	1120.39
MYFLGYKDS	1	-0.72	Non-Toxin	-0.05	-0.30	-0.43	1123.41
NYFLGYKDS	1	-0.70	Non-Toxin	-0.15	-0.90	-0.27	1106.32
PYFLGYKDS	1	-0.85	Non-Toxin	-0.09	-0.69	-0.29	1089.33
QYFLGYKDS	1	-0.71	Non-Toxin	-0.16	-0.90	-0.27	1120.35
RYFLGYKDS	1	-0.44	Non-Toxin	-0.28	-1.01	0.04	1148.40
SYFLGYKDS	1	-0.73	Non-Toxin	-0.11	-0.60	-0.28	1079.29
TYFLGYKDS	1	-0.85	Non-Toxin	-0.10	-0.59	-0.33	1060.32
VYFLGYKDS	1	-0.53	Non-Toxin	-0.02	-0.04	-0.49	1091.36
WYFLGYKDS	1	-0.59	Non-Toxin	-0.04	-0.61	-0.67	1175.43
XYFLGYKDS	1	-0.63	Non-Toxin	-0.08	-0.66	-0.54	1155.39
LYFLGYKDS	2	-0.99	Non-Toxin	0.00	0.28	-0.29	1013.28
LCFLGYKDS	2	-0.80	Non-Toxin	-0.02	0.33	-0.34	1045.34
LDFLGYKDS	2	-1.07	Non-Toxin	-0.11	-0.33	0.10	1057.28
LEFLGYKDS	2	-0.76	Non-Toxin	-0.09	-0.33	0.10	1071.32
LFFLGYKDS	2	-0.57	Non-Toxin	0.04	0.37	-0.51	1089.38
LGFLGYKDS	2	-0.94	Non-Toxin	-0.01	0.01	-0.23	1090.28
LHFLGYKDS	2	-0.60	Non-Toxin	-0.07	-0.30	-0.29	1079.35
LIFLGYKDS	2	-1.02	Non-Toxin	0.06	0.56	-0.43	1055.37
LJFLGYKDS	2	-0.67	Non-Toxin	-0.15	-0.38	0.10	1070.38
LKFLGYKDS	2	-0.75	Non-Toxin	0.03	0.48	-0.43	1055.37
LMFLGYKDS	2	-0.78	Non-Toxin	0.00	0.27	-0.38	1073.40
LNFLGYKDS	2	-1.08	Non-Toxin	-0.10	-0.33	-0.21	1059.31
LOFLGYKDS	2	-0.84	Non-Toxin	-0.03	-0.12	-0.23	1039.32
LQFLGYKDS	2	-0.53	Non-Toxin	-0.10	-0.33	-0.21	1070.34
LRFLGYKDS	2	-0.86	Non-Toxin	-0.22	-0.44	0.10	1068.39
LSFLGYKDS	2	-0.82	Non-Toxin	-0.05	-0.20	-0.20	1029.28
LTFLGYKDS	2	-0.77	Non-Toxin	-0.05	-0.02	-0.26	1043.21
LUFLGYKDS	2	-0.77	Non-Toxin	0.03	0.52	-0.40	1041.34

Una vez completado el testeo y abiendo optenido un epitopo optimo, se procede a realizar el plegado de la estructura para lo cual se utilizo el algoritmo de AlphaFold Server, como resultado se obtiene modelos 3d de la estructura en cuestion en formato CIF.

De los modelos proporcionados por AlphaFold Server, se elige el más óptimo, en relación a la estructura tridimensional, el mismo se procede a someterlo a un programa especializado en la generación de modelos 3D de estructuras proteínicas. El software PyMOL; este convierte el archivo CIF antes mencionado en un archivo de tipo PDB.

Imagen 139
Modelado 3D de LYFLGYKDS

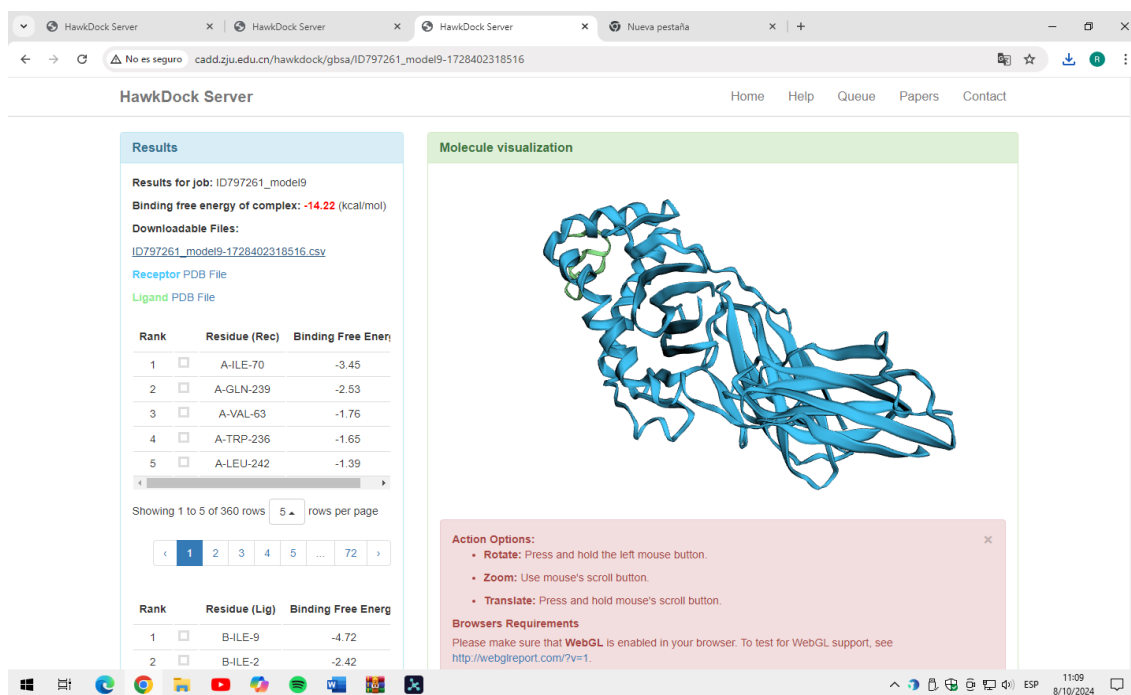


Habiendo obtenido el modelo 3D del epítipo, se procede a realizar el Doking, es decir a acoplar dicho epítipo a la molécula de MHC1 o MHC2, en el presente trabajo, el acople se realiza a la molécula MHC2, dado que la presentación de antígenos por vía de acople a MHC2 permitirá que sean los linfocitos TCD4 quienes actúen contra el antígeno extracelular con el objetivo de poder neutralizarlo.

La mencionada operación se realizó en HawkDock Server, este software, permite determinar la afinidad en la unión de las estructuras antes mencionadas, es preciso señalar que en base a los principios de la termodinámica, cuando la unión entre dos elementos es positivo implica un gasto de energía para poder concretar la unión, por el contrario, si el valor es negativo, esto significa que la unión no requiere de energía y esta falta de requerimiento energético es mayor mientras más se aleje de la unidad 0, ya que el último valor mencionado implica un estado de equilibrio en el sistema.

Imagen 140

Docking con MHC II de LYFLGYKDS



p. >BAA04626.1 fimbriin [Porphyromonas gingivalis] y >WP_314813268.1 fimbrial protein [Porphyromonas endodontalis]

Prosiguiendo con el estudio de los epítomos, previamente se debe de entender la naturaleza del término, un epítomo es parte de un antígeno, entendiéndose por esta toda estructura ajena al organismo que tiene la posibilidad de desencadenar una respuesta inmune, este es diferente a un inmunógeno (que es lo que se obtuvo en el presente trabajo), un agente ajeno al organismo que siempre va a generar una respuesta inmune, al unirse con la región variable de un anticuerpo formando el paratopo.

El procedimiento implica obtener, en primer lugar, las estructuras proteínicas de los factores de virulencia de ambos periodontopatógenos, los cuales se pudieron conseguir con una ardua y prolongada revisión bibliográfica en plataformas de investigación científica además de utilizar servidor Clustal Omega, con el fin de poder encontrar estructuras homologas en ambos microorganismos, dado que estos pertenecen a la misma familia.

Imagen 141

Determinación de proteínas comunes con fimbrilín

Sequences producing significant alignments

Download Select columns Show 100

☒ select all 100 sequences selected

GenPept Graphics Distance tree of results Multiple alignment MSA Viewer

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
☒ fimbrilín [Porphyrromonas gingivalis]	Porphyrromonas...	716	716	100%	0.0	100.00%	350	BAA04626.1
☒ RecName: Full=Major fimbrium subunit FimA; type-2; AltName: Full=Fimbrilín; Short=Fimbrilín; AltName: Full=...	Porphyrromonas...	716	716	100%	0.0	99.71%	386	Q51825.2
☒ fimbril protein [Porphyrromonas gingivalis]	Porphyrromonas...	712	712	100%	0.0	99.14%	386	WP_077083872.1
☒ fimbril protein [Porphyrromonas gingivalis]	Porphyrromonas...	702	702	100%	0.0	97.71%	386	WP_234234008.1
☒ fimbrilín [Porphyrromonas gingivalis]	Porphyrromonas...	699	699	100%	0.0	97.43%	386	BAN28870.1
☒ fimbrilín [Porphyrromonas gingivalis]	Porphyrromonas...	683	683	100%	0.0	94.90%	353	BAA04627.1
☒ RecName: Full=Major fimbrium subunit FimA; type-3; AltName: Full=Fimbrilín; Short=Fimbrilín; AltName: Full=...	Porphyrromonas...	682	682	100%	0.0	94.62%	389	Q51826.2
☒ fimbril protein [Porphyrromonas gingivalis]	Porphyrromonas...	679	679	100%	0.0	94.33%	389	WP_098986224.1
☒ fimbril protein [Porphyrromonas gulae]	Porphyrromonas...	662	662	100%	0.0	92.29%	386	WP_039431242.1
☒ fimbrilín [Porphyrromonas gulae]	Porphyrromonas...	660	660	100%	0.0	92.00%	386	BAL46696.1
☒ fimbril protein [Porphyrromonas gulae]	Porphyrromonas...	659	659	100%	0.0	92.00%	386	WP_039419467.1
☒ fimbrilín [Porphyrromonas gulae]	Porphyrromonas...	658	658	100%	0.0	91.71%	386	BAL46697.1
☒ fimbrilín [Porphyrromonas gulae]	Porphyrromonas...	653	653	100%	0.0	90.86%	386	BAL46694.1
☒ fimbril protein [Porphyrromonas gingivalis]	Porphyrromonas...	635	635	100%	0.0	88.57%	386	WP_021663765.1
☒ fimbrilín [Porphyrromonas gulae]	Porphyrromonas...	626	626	100%	0.0	91.43%	386	BBD13374.1
☒ fimbril protein [Porphyrromonas gingivalis]	Porphyrromonas...	624	624	100%	0.0	87.43%	384	WP_077070228.1
☒ Porphyrromonas gingivalis major fimbrial subunit protein (FimA) [Porphyrromonas gingivalis ATA1-28]	Porphyrromonas...	624	624	100%	0.0	87.43%	377	ALQ28935.1
☒ fimbril protein [Porphyrromonas gingivalis]	Porphyrromonas...	624	624	100%	0.0	88.00%	384	WP_097632920.1

Imagen 142

Aminoácidos comunes con fimbrilín

Download GenPept Graphics

Next Previous Descriptions

fimbril protein [Porphyrromonas endodontalis]

Sequence ID: [WP_314813268.1](#) Length: 392 Number of Matches: 1

Range 1: 48 to 392 GenPept Graphics

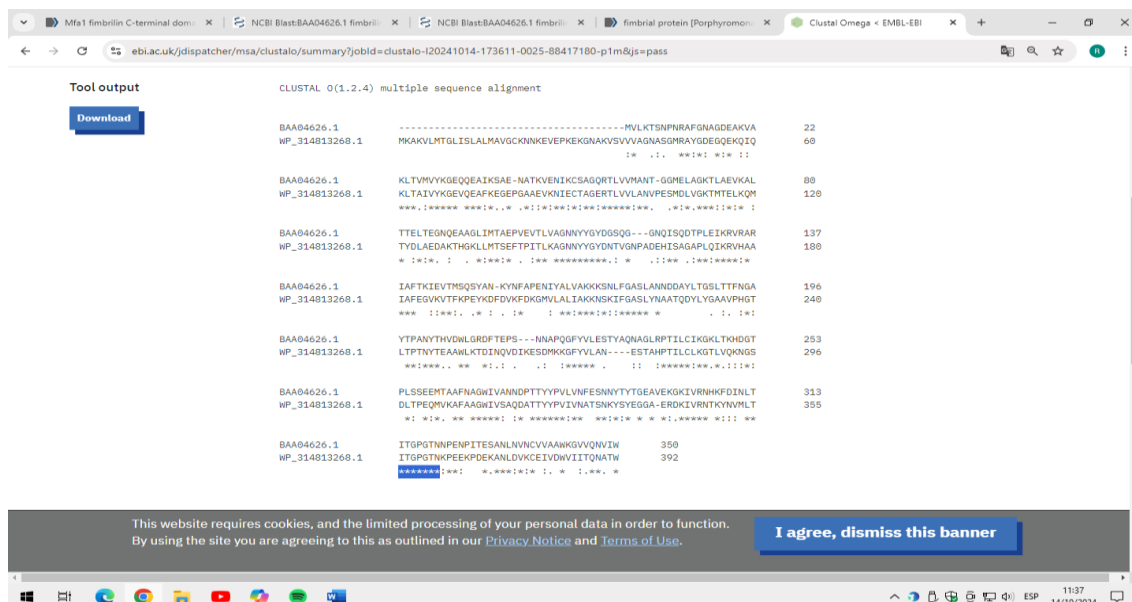
Next Match Previous Match

Score	Expect	Method	Identities	Positives	Gaps
295 bits(755)	6e-94	Compositional matrix adjust.	166/351(47%)	217/351(61%)	16/351(4%)
Query 10	RAFGNAGDEAKVAKLTVMVYKGEQGEAIAKSAE	-	NATKVENIKCSAGQRTLVMANT-GGM		67
Sbjct 48	RA+G+ G E ++ KLT +VYKGE QEA K E A +V+NI+C+AG+RTLW+AN M		RAYGDEGEQEQIKLTAIVYKGEVQEAKEGEPGAEEVKNIECTAGERTLVLANVPESM		107
Query 68	ELAGKTLAEVKALTTELTEGNQEAAGLINTAEPVEVTLVAGMNYGYD---GSQGGNQIS		+L GKT+ E+K +T +L E + L+MT+E +TL AGMNYGYD G+ IS		124
Sbjct 108	DLVGKTMTELKQMTYDLAEDAKTHGKLLMTSEFTPTILKAGMNYGYDNTVGNPADEHIS				167
Query 125	QDTPLEIKRVRARIAFTKIEVTMSQSYAN-KYNFAPENIYALVAKKKSILFGASLANN-D		PL+IKRV A IAF ++VT Y + F + AL+AKK S +FGASL N		182
Sbjct 168	AGAPLQIKRVHAAIAFEGVKVTFKPEYKDFDKGMLALIAKKNISKIFGASLYNAAT				227
Query 183	DAYLTGSLTTFNGAYTPAINYTHVDWLGRDFT---PSNINAPQGFVLESTYAQNAGLRPT		YL G+ +G TP NYT WL D + ++ +GFVVL A + PT		239
Sbjct 228	QDYLYGAAPV-HGTLTPNTYTEAANKLTDINQVDIKESDMKKGFVVL---ANIESTAHP				282
Query 240	ILCIKGLTKHDGTPLSSEEMTAFAFNAGHIVANNIDPTTYYPVLNFSINNYTYTGEAVEK		ILC+KG L + +G+ L+ E+M AF AGWIV+ D TTYYPV+VN SI Y+Y G A E+		299
Sbjct 283	ILCLKGLTVQKNGSDLTPEQMKVKAAGWIVSAQDATTYYPVIVNATSNIKYSYEGGA-ER				341
Query 300	GKIVRIHKFDINLTITGPTNINPENIPITESANLHMVCVAAHKGVVQVQVNIW		KIVRN K+++ LTITGPTN PE E ANL+V C + W + QN W		350
Sbjct 342	DKIVRNTKYVWMLTITGPTNKPPEKPKDEKANLDVKCEIVDWIITQATW				392

Download GenPept Graphics

Next Previous Descriptions

Imagen 143 BLAST de fimbrilin



Tool output

Download

CLUSTAL O(1.2.4) multiple sequence alignment

Accession	Sequence	Score
BAA04626.1	MVLKTSNPNRAFGNAGDEAKVA	22
WP_314813268.1	MKAKVLMTGLISLALMAVGCKNNKEVEPKEKGNKAKVSVVVAGNASGMRAYG	60
BAA04626.1	KLTVMVYKGEQQAISAE-NATKVENIKCSAGQRTLVMANT-GMELAGKTLAEVKAL	80
WP_314813268.1	KLTAIVYKGEVQEAFAKEGEPGAAEVKNIECTAGERTLVVLANVPE	120
BAA04626.1	TTELTGQEAAGLIMTAEPVEVTLVAGNNYYGYDGSQGGN-QISQDTPLEIKRVRAR	137
WP_314813268.1	TYDLAEDAKTHGKLLMTSEFTPTITLKAGNNYYGYDNTVGNPADEHISAGAPLQIKRVHAA	180
BAA04626.1	IAFTKIEVTMSQSYANKYNFAPENIYALVAKKKS NFLFGASLANND DAYLTGSLTTFN	196
WP_314813268.1	IAFEGVKVTFKPEYKDFDKGMVLALIAKKNSKIFGASLYNAATQDYLYGA	240
BAA04626.1	YTPANYTHVDWLGRDFTEPSNNAPQGFYVLESTYAQNAGLRPTILCIKGKLT	253
WP_314813268.1	LDTPNYTEAAWLKTDINQVDIKESD MKKGFYVLANESTAHPTILCLKGTLVQKNGS	296
BAA04626.1	PLSSEEMTAAFNAGWIVANNDPTTYPVLVNFESNNYTYTGEAVEKGKIVRNH	313
WP_314813268.1	DLTPEQMVKAFAAGWIVSAQDATTYYPVIVNATSNKYSYEGGAERDKIVRNTKYNV	355
BAA04626.1	ITGPGTNNPENPITESANLNVNVCVVA	350
WP_314813268.1	ITGPGTNKPEEKPDEKANLDVKCEIVDWVITQ	392

This website requires cookies, and the limited processing of your personal data in order to function. By using the site you are agreeing to this as outlined in our [Privacy Notice](#) and [Terms of Use](#).

I agree, dismiss this banner

>BAA04626.1 fimbrilin [*Porphyromonas gingivalis*]

MVLKTSNPNRAFGNAGDEAKVAKLTVMVYKGEQQAISAEATKVENIKCS
AGQRTLVMANTGGMELAGKTLAEVKALTTELTEGNQEAAGLIMTAEPVEVTL
VAGNNYYGYDGSQGGNQISQDTPLEIKRVRARIAFTKIEVTMSQSYANKYNFAP
ENIYALVAKKKS NFLFGASLANND DAYLTGSLTTFN GAYTPANYTHVDWLGRDFT
EPSNNAPQGFYVLESTYAQNAGLRPTILCIKGKLT KHDGTPLSSEEMTAAFNAG
WIVANNDPTTYPVLVNFESNNYTYTGEAVEKGKIVRNH KFDINLTITGPGTNNP
ENPITESANLNVNVCVVA AAWKGVVQNVIW
AGNNYYGYD

>WP_314813268.1 fimbrial protein [*Porphyromonas endodontalis*]

MKAKVLMTGLISLALMAVGCKNNKEVEPKEKGNKAKVSVVVAGNASGMRAYG
DEGQEKQIQKLTAIVYKGEVQEAFAKEGEPGAAEVKNIECTAGERTLVVLANVPE
SMDLVGKTMTELKQMTYDLAEDAKTHGKLLMTSEFTPTITLKAGNNYYGYDNT
VGNPADEHISAGAPLQIKRVHAAIAFEGVKVTFKPEYKDFDKGMVLALIA
KKNSKIFGASLYNAATQDYLYGA AAVPHGTLTPTNYTEAAWLKTDINQVDIKESD
MKKGFYVLANESTAHPTILCLKGTLVQKNGS DLTPEQMVKAFAAGWIVSAQDA
TTYYPVIVNATSNKYSYEGGAERDKIVRNTKYNVMLTITGPGTNKPEEKPDEKA
NLDVKCEIVDWVITQ NATW

AGNNYYGYD

Imagen 144
Modelado 3D de fimbrilin

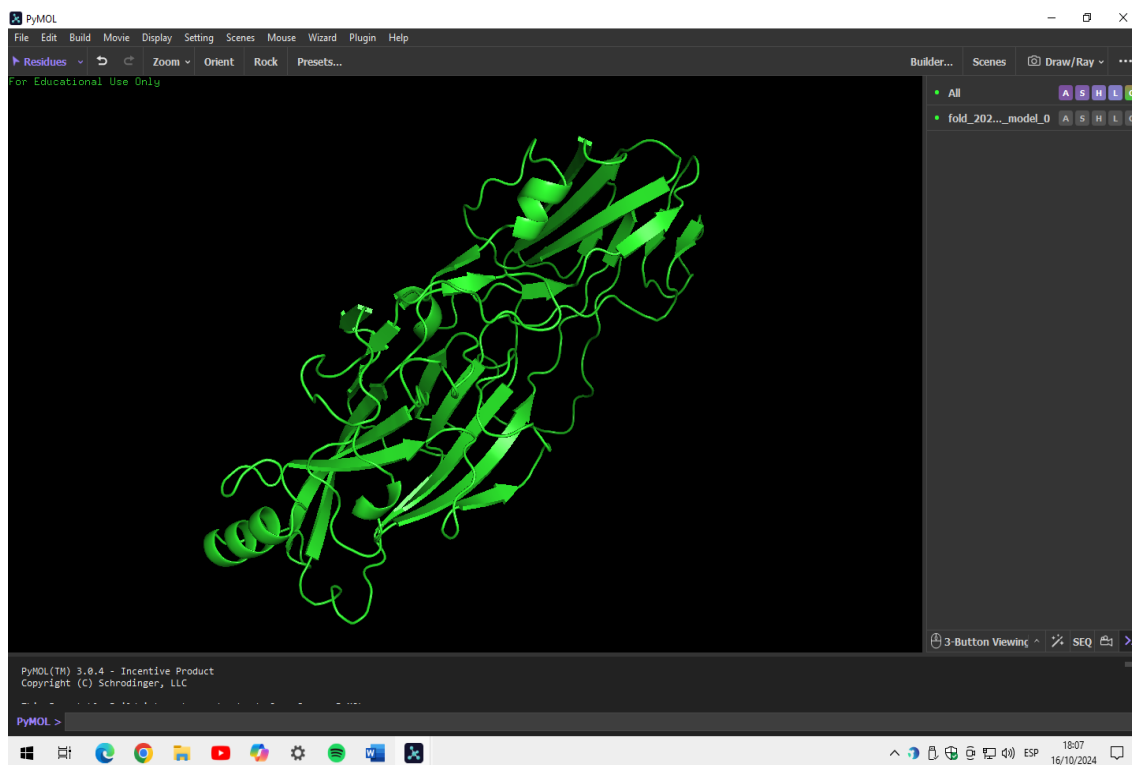
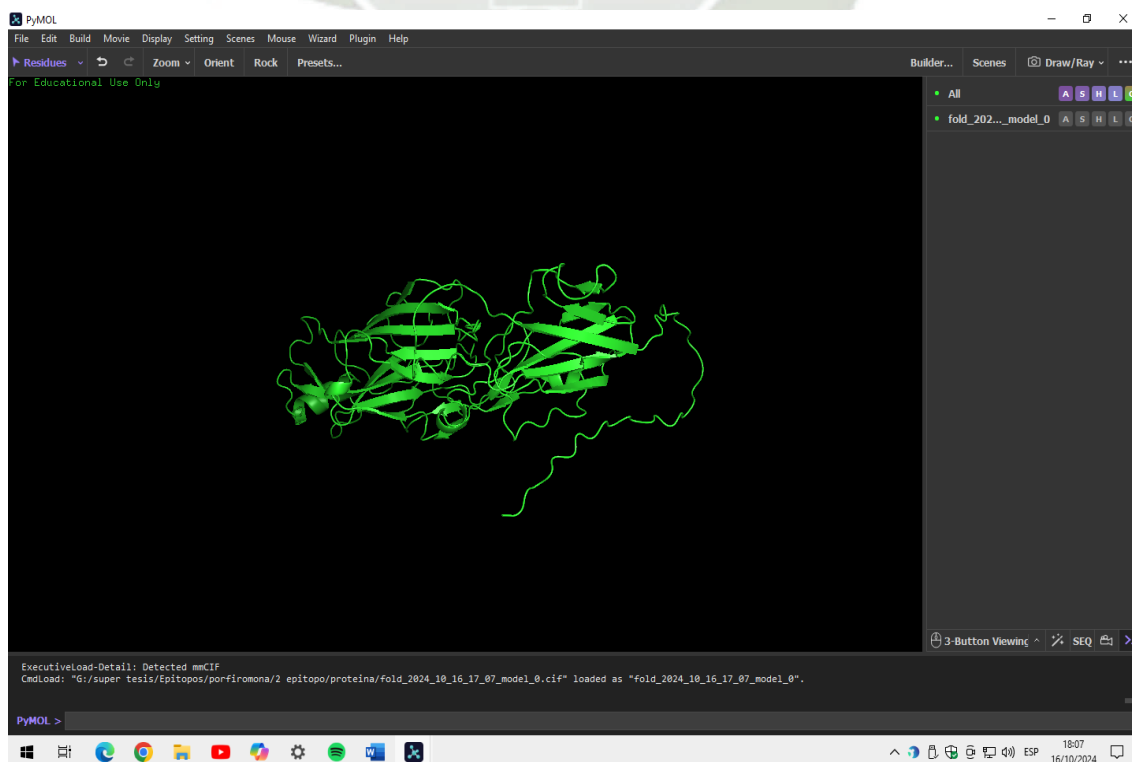


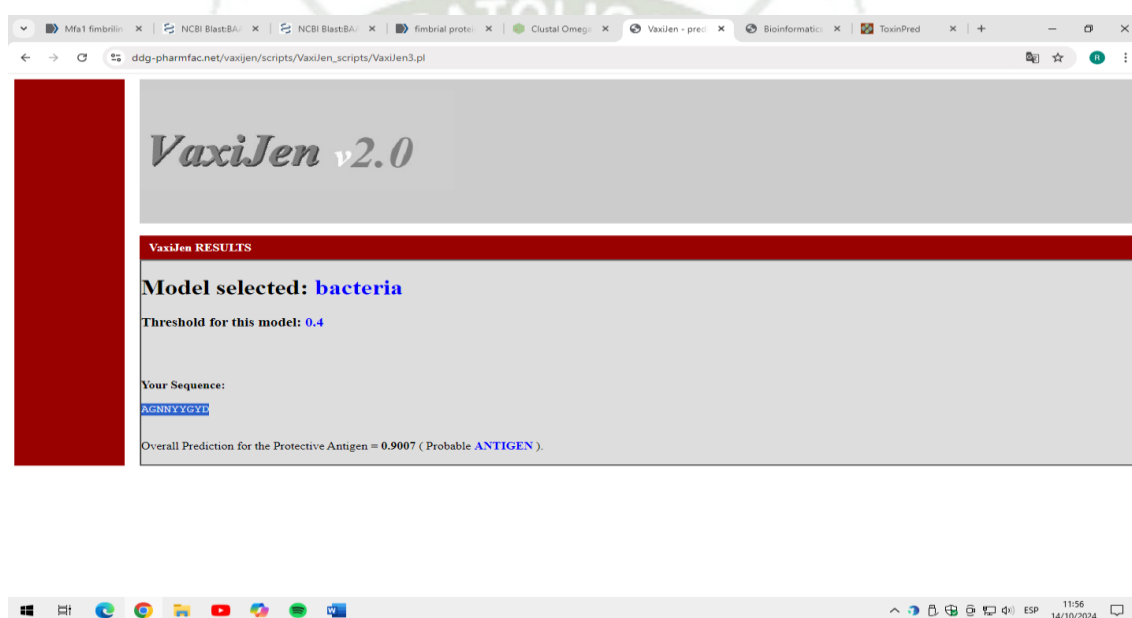
Imagen 145
Modelado 3D de fimbrial protein



Posteriormente se procede a realizar el alineamiento de proteínas y encontrar estructuras comunes, de esta manera se logra obtener la secuencia de aminoácidos que constituyen el epítipo del factor de virulencia del periodontopatógenos.

Seguidamente, se procedió a llevar a cabo el testeo de dicho epítipo, en primer lugar, determinar si el mismo, realmente es un epítipo, y para ello se utilizó el servidor VAXIJEN, que por medio de un algoritmo contratado con los datos obtenidos arroja un resultado en el sentido de que si la secuencia de aminoácidos es o no es un antígeno.

Imagen 146
Prueba de antigenicidad de AGNNYYGYD

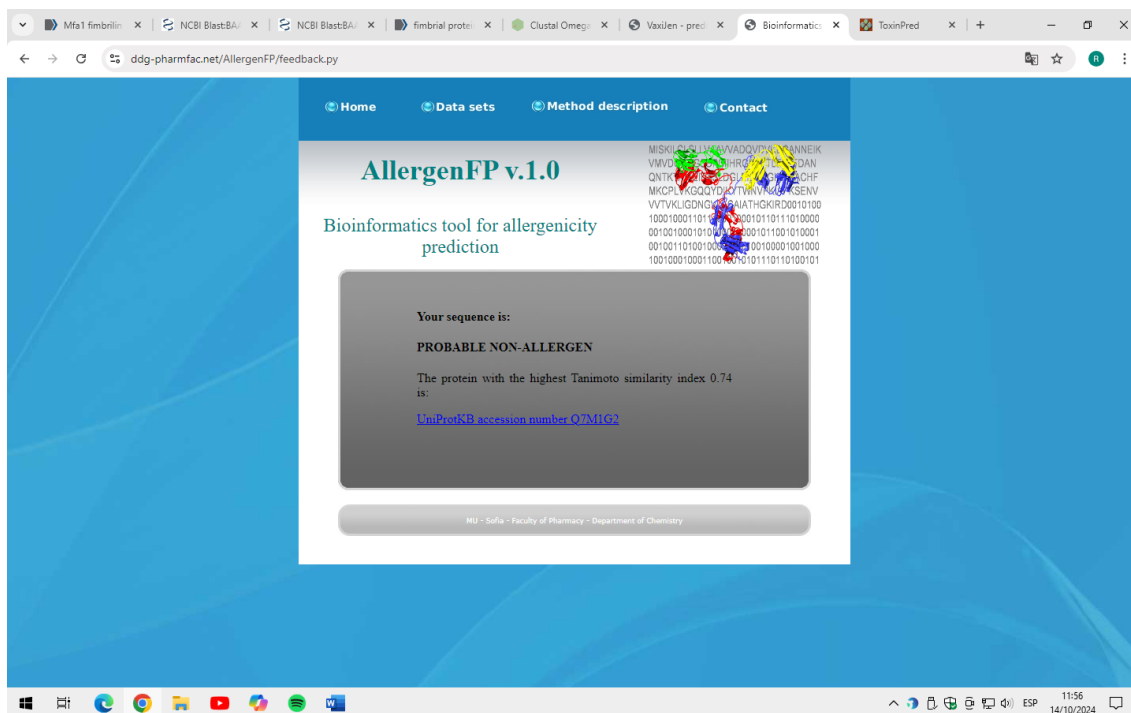


Cabe resaltar que, dichos antígenos, tienen como finalidad formar el complejo antígeno – anticuerpo, para lo cual tienen que unirse a este último, y para cumplir su función biológica deben tener afinidad por el complejo mayor de histocompatibilidad de tipo I (MHCI) o de tipo II (MHCII). En el primer caso, la unión a membrana del linfocito generara citotoxicidad, es decir, que la célula atacara y eliminara a aquellas que hayan sido infectadas o de alguna manera se hayan visto afectadas por un antígeno intracelular, por otro lado, en el segundo caso se producirá la unión a linfocitos Helper, lo que implica que la célula responderá frente a antígenos extracelulares.

El siguiente paso es llevar a cabo el testeo del posible epítipo, puesto que este debe cumplir con la particularidad de no tener potencial para generar reacciones alérgicas ni tampoco debe poder ser capaz de generar efectos tóxicos, dicho testeo se llevó a cabo en el servidor AllergenFP y ToxinPred respectivamente.

Imagen 147

Prueba de alergenicidad de AGNNYYGYD



AllergenFP v.1.0

Bioinformatics tool for allergenicity prediction

Your sequence is:

PROBABLE NON-ALLERGEN

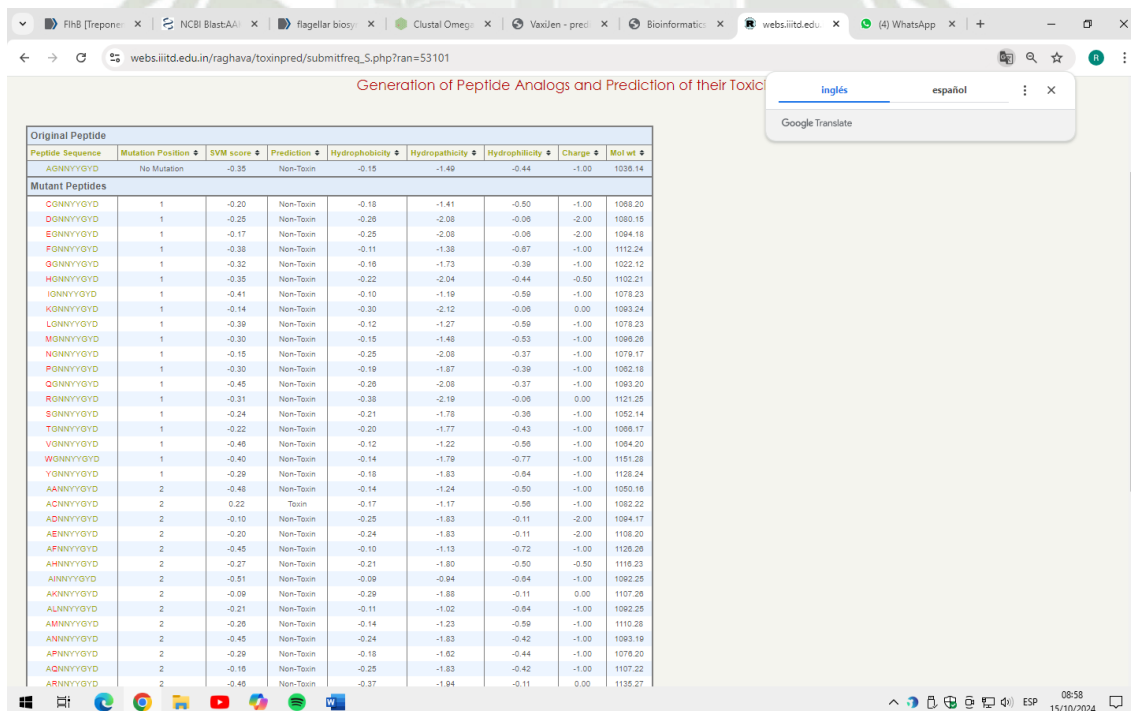
The protein with the highest Tanimoto similarity index 0.74 is:

[UniProtKB accession number Q7M1G2](#)

MU - Sofia - Faculty of Pharmacy - Department of Chemistry

Imagen 148

Prueba de toxicidad de AGNNYYGYD



Generation of Peptide Analogs and Prediction of their Toxicity

Original Peptide

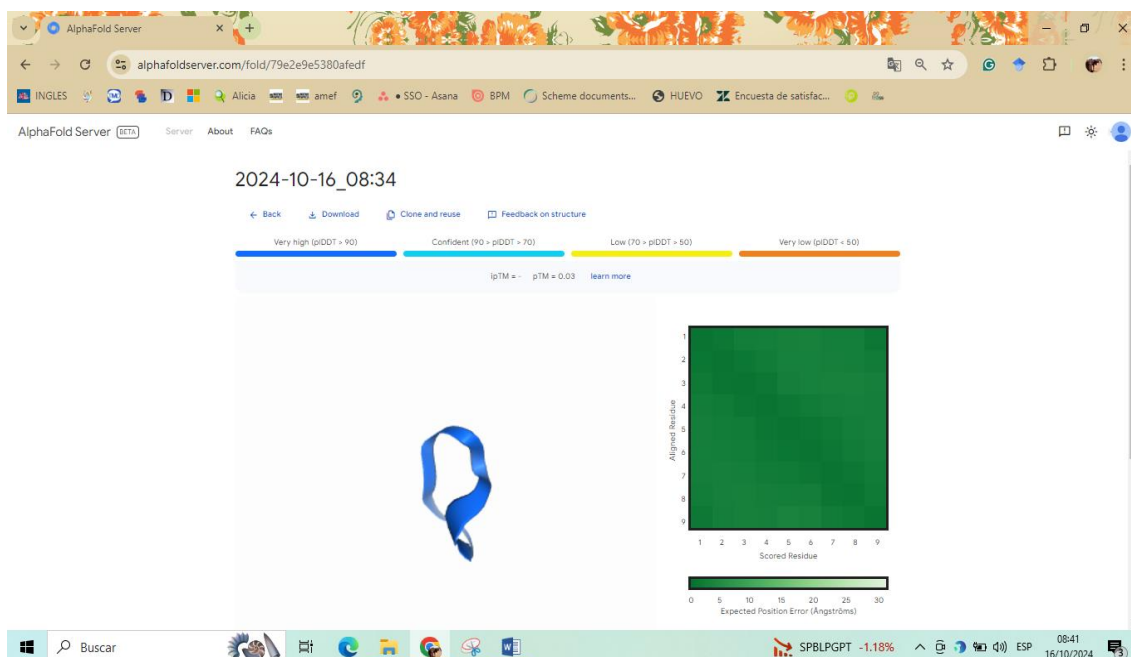
Peptide Sequence	Mutation Position	SVM score	Prediction	Hydrophobicity	Hydrophobicity	Hydrophobicity	Charge	Mol wt
AGNNYYGYD	No Mutation	-0.35	Non-Toxin	-0.15	-1.49	-0.44	-1.00	1036.14

Mutant Peptides

Peptide Sequence	Mutation Position	SVM score	Prediction	Hydrophobicity	Hydrophobicity	Hydrophobicity	Charge	Mol wt
QNNYYGYD	1	-0.20	Non-Toxin	-0.18	-1.41	-0.50	-1.00	1068.20
DNNYYGYD	1	-0.25	Non-Toxin	-0.28	-2.08	-0.08	-2.00	1080.15
EONYYGYD	1	-0.17	Non-Toxin	-0.25	-2.08	-0.08	-2.00	1084.18
FONNYYGYD	1	-0.38	Non-Toxin	-0.11	-1.38	-0.87	-1.00	1112.24
QNNYYGYD	1	-0.32	Non-Toxin	-0.16	-1.73	-0.39	-1.00	1022.12
HNNYYGYD	1	-0.35	Non-Toxin	-0.22	-2.04	-0.44	-0.50	1102.21
IONYYGYD	1	-0.41	Non-Toxin	-0.10	-1.19	-0.59	-1.00	1078.23
KNNYYGYD	1	-0.14	Non-Toxin	-0.30	-2.12	-0.08	0.00	1093.24
LNNYYGYD	1	-0.39	Non-Toxin	-0.12	-1.27	-0.59	-1.00	1078.23
MNNYYGYD	1	-0.30	Non-Toxin	-0.15	-1.48	-0.53	-1.00	1089.25
NNNYYGYD	1	-0.15	Non-Toxin	-0.25	-2.08	-0.37	-1.00	1079.17
PNNYYGYD	1	-0.30	Non-Toxin	-0.19	-1.87	-0.39	-1.00	1082.18
QNNYYGYD	1	-0.45	Non-Toxin	-0.28	-2.08	-0.37	-1.00	1093.20
RNNYYGYD	1	-0.31	Non-Toxin	-0.38	-2.18	-0.08	0.00	1121.25
SNNYYGYD	1	-0.24	Non-Toxin	-0.21	-1.78	-0.39	-1.00	1062.14
TNNYYGYD	1	-0.22	Non-Toxin	-0.20	-1.77	-0.43	-1.00	1066.17
VNNYYGYD	1	-0.48	Non-Toxin	-0.12	-1.22	-0.56	-1.00	1084.20
WNNYYGYD	1	-0.40	Non-Toxin	-0.14	-1.79	-0.77	-1.00	1151.28
YNNYYGYD	1	-0.29	Non-Toxin	-0.18	-1.83	-0.94	-1.00	1128.24
AANNYYGYD	2	-0.48	Non-Toxin	-0.14	-1.24	-0.50	-1.00	1050.16
ACNNYYGYD	2	0.22	Toxin	-0.17	-1.17	-0.56	-1.00	1082.22
ADNNYYGYD	2	-0.10	Non-Toxin	-0.25	-1.83	-0.11	-2.00	1084.17
AENNYYGYD	2	-0.20	Non-Toxin	-0.24	-1.83	-0.11	-2.00	1108.20
AFNNYYGYD	2	-0.45	Non-Toxin	-0.10	-1.13	-0.72	-1.00	1128.25
AGNNYYGYD	2	-0.27	Non-Toxin	-0.21	-1.80	-0.50	-0.50	1118.23
AIANNYYGYD	2	-0.51	Non-Toxin	-0.09	-0.94	-0.94	-1.00	1092.25
AKNNYYGYD	2	-0.09	Non-Toxin	-0.29	-1.88	-0.11	0.00	1107.25
ALNNYYGYD	2	-0.21	Non-Toxin	-0.11	-1.02	-0.54	-1.00	1092.25
AMNNYYGYD	2	-0.26	Non-Toxin	-0.14	-1.23	-0.59	-1.00	1110.26
ANNNYYGYD	2	-0.45	Non-Toxin	-0.24	-1.83	-0.42	-1.00	1093.16
APNNYYGYD	2	-0.29	Non-Toxin	-0.19	-1.62	-0.44	-1.00	1078.20
AQNNYYGYD	2	-0.16	Non-Toxin	-0.25	-1.83	-0.42	-1.00	1107.22
ARNNNYYGYD	2	-0.48	Non-Toxin	-0.37	-1.94	-0.11	0.00	1135.27

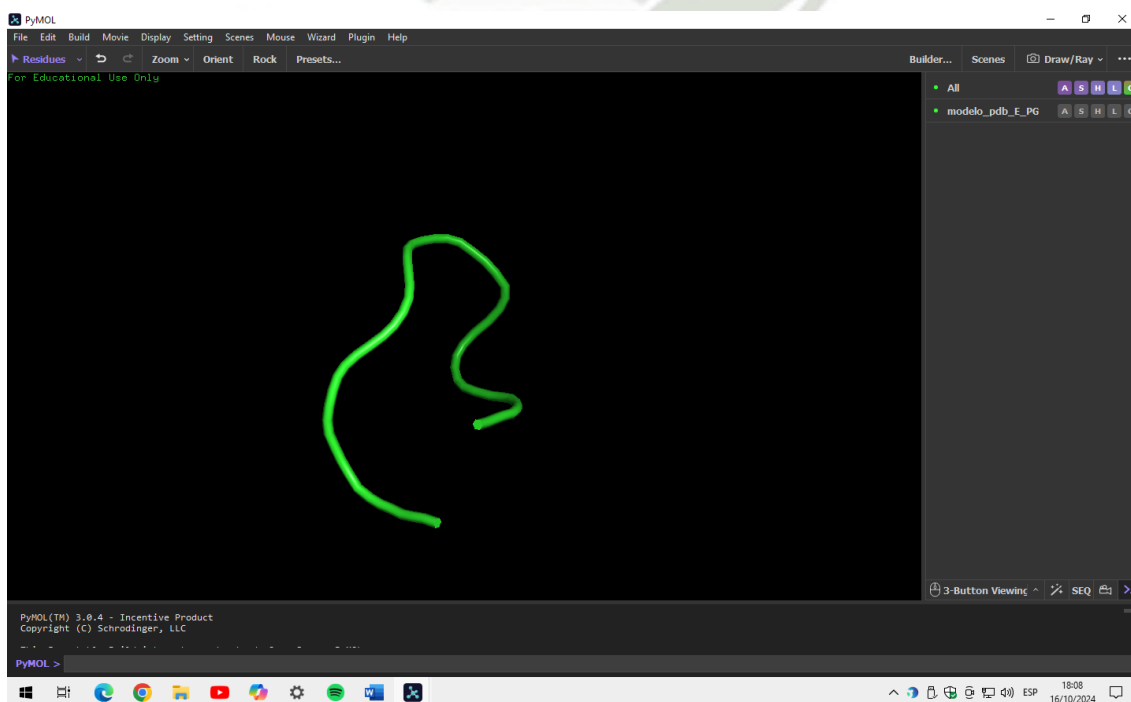
Una vez completado el testeo y abiendo optenido un epitopo optimo, se procede a realizar el plegado de la estructura para lo cual se utilizo el algoritmo de AlphaFold Server, como resultado se obtiene modelos 3d de la estructura en cuestion en formato CIF.

Imagen 149
Plegado de AGNNYYGYD



De los modelos proporcionados por AlphaFold Server, se elige el más óptimo, en relación a la estructura tridimensional, el mismo se procede a someterlo a un programa especializado en la generación de modelos 3D de estructuras proteínicas. El software PyMOL; este convierte el archivo CIF antes mencionado en un archivo de tipo PDB.

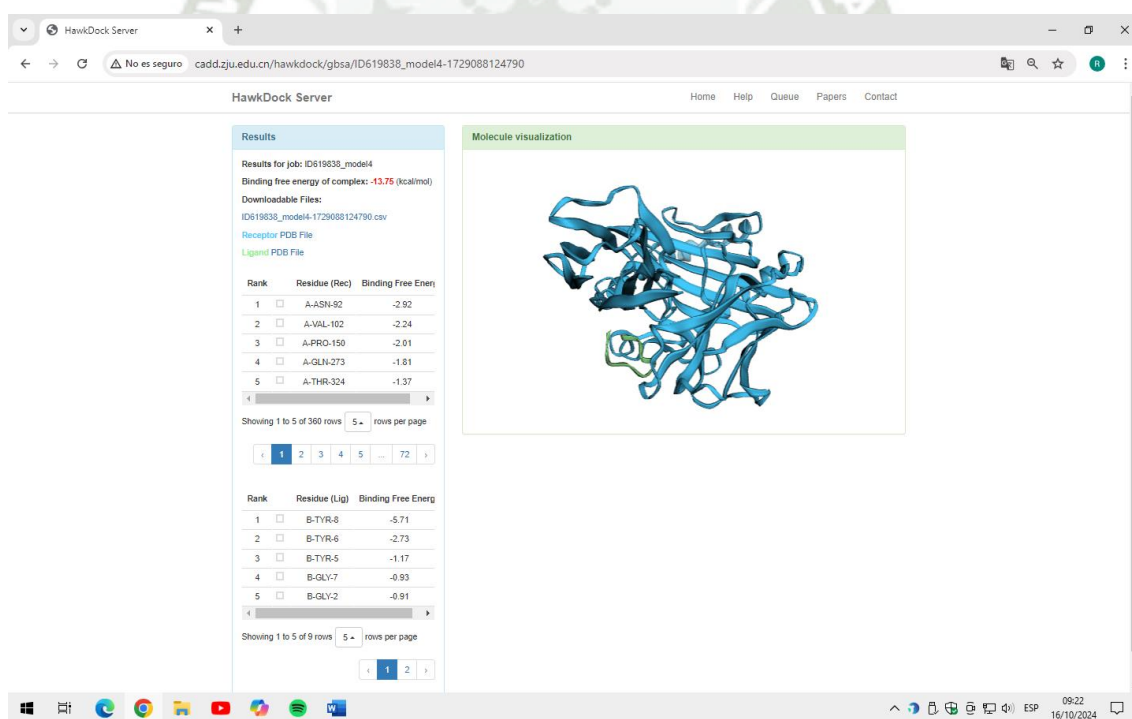
Imagen 150
Modelado 3D de AGNNYYGYD



Habiendo obtenido el modelo 3D del epitopo, se procede a realizar el Doking, es decir a acoplar dicho epitopo a la molécula de MHC1 o MHC2, en el presente trabajo, el acople se realiza a la molécula MHC2, dado que la presentación de antígenos por vía de acople a MHC2 permitirá que sean los linfocitos TCD4 quienes actúen contra el antígeno extracelular con el objetivo de poder neutralizarlo.

La mencionada operación se realizó en HawkDock Server, este software, permite determinar la afinidad en la unión de las estructuras antes mencionadas, es preciso señalar que en base a los principios de la termodinámica, cuando la unión entre dos elementos es positivo implica un gasto de energía para poder concretar la unión, por el contrario, si el valor es negativo, esto significa que la unión no requiere de energía y esta falta de requerimiento energético es mayor mientras más se aleje de la unidad 0, ya que el ultimo valor mencionado implica un estado de equilibrio en el sistema.

Imagen 151
Doking con MHC II de AGNNYYGYD



q. >WP_315273864.1 transglycosylase SLT domain-containing protein
[Selenomonas sputigena]

Prosiguiendo con el estudio de los epítomos, previamente se debe de entender la naturaleza del término, un epítomo es parte de un antígeno, entendiéndose por esta toda

estructura ajena al organismo que tiene la posibilidad de desencadenar una respuesta inmune, este es diferente a un inmunógeno (que es lo que se obtuvo en el presente trabajo), un agente ajeno al organismo que siempre va a generar una respuesta inmune, al unirse con la región variable de un anticuerpo formando el paratopo.

El procedimiento implica obtener, en primer lugar, las estructuras proteínicas de los factores de virulencia del periodonto patógenos, los cuales se pudieron conseguir con una ardua y prolongada revisión bibliográfica en plataformas de investigación científica.

>WP_315273864.1 transglycosylase SLT domain-containing protein [Selenomonas sputigena]

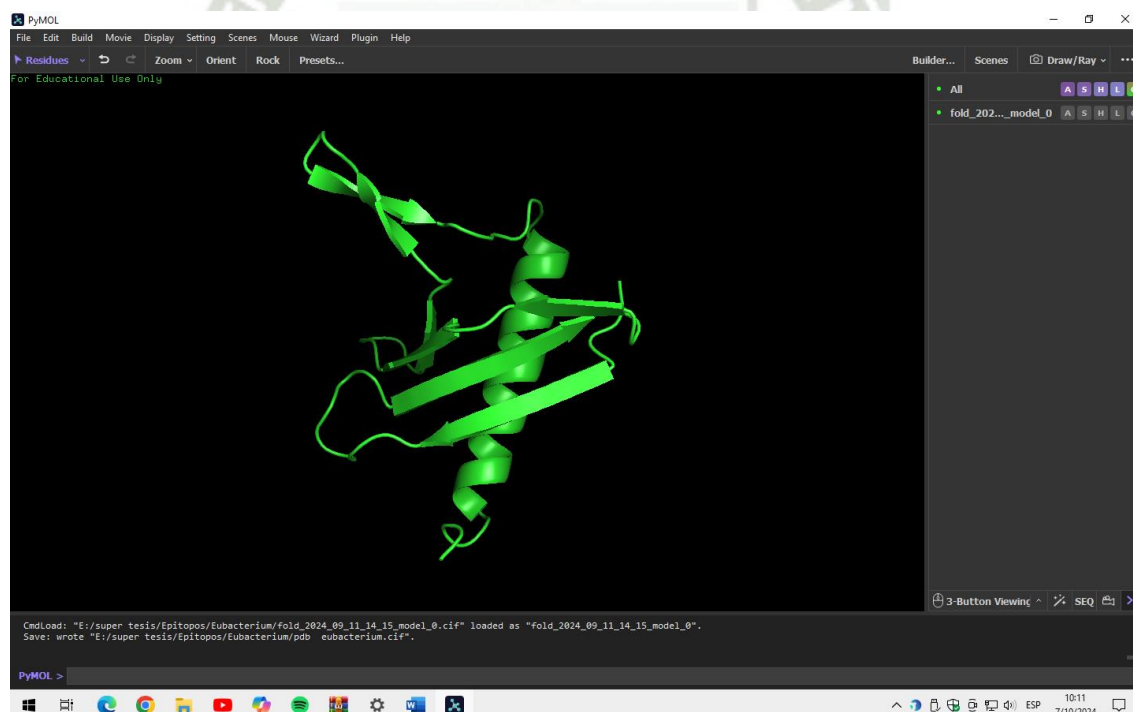
MAGHNDIIIRISGDNAQFLQSILAALRQLDSGAGNLNGTLNNLNNTINNLN
RRLDQMGGAAARNLSGDVFGGFLGGLAKAQLAAQAVLGVLSSIKDVAASIVM
PGFEFVRDMETAKLGMAGTLASMGQINGEAIDFNTALSISSDMMQKLNGDAIR
TAASTKDLVTTFQGILAPGLGAGLNLEQIREFTTTGVNAAKAMGLNSTQFVQEL
RDLLQGGITASSTIASAMGLTDADIKAAKDSAEGLF TLMKRM EGF KYSAEAY
PETFSGMFSMIEEYATQASAKITEAFGPEIKMVAQEVAELFGEVNKTTGEFEVN
PAILDFIVALQEVYFWVLEIIDGVVDFYTVLADIVPVEDLIGILEDLLVTIGHILR
MVWNIRKAWELFLDQLMFSEPIKKVIALVREL TQAIREFFKQGADNWEAIADR
AEEKIAEGTGDKLKHSNFAGEARARAADQREKLAAEKAERDKPTPNVTSKYPK
REDAKAAERAQKEAERKFFKAQEDALKRALAMIKANLSEQLKEIKKAMEEISV
LFDQGMISWQEKITKDAQAEIDKEQKTVDALVAQIERIKATPVRDEDREKQAQ
EIEKLTAELEDHRKTLQELSENQRYAAELIAAAAGNLLPAANGGVSQAAQSGG
QAAGIPQGATPEEGALYLALQELKSIDKTGQLNYETLLAIAEQESSGRHWDENG
NVKVSSDGGVGLMQLTSDEAQAMAGNPYDLVRNAYGGAKFFLEILKSVKGDV
REALRRYNGSGPAAEAYADEVMARIENKRARANELL SAPLVADPIVRQTSTSS
ASTGIGERAAAEGRKIIDGLTYADLKCTEFVIESLK RAGLDDTLGQYGKSILDY
LDPLVSGFGSDDEAEKIGIVAKTKAAGIWKDYVEGMELAAAGDVLLSLGSDGTL
RAPGHAMMYAGNGRVL TSSGRHGP GTPIDEVALENAGQIVGVVSISDILRHVS
GGSISDIISGAAGSAGGGANALPVAHNKAQLDMKRRAEQAQKQWEEETAKAF
FATQNNISLIQKKQLVRESEERIRKYELEKNEEA AVQERILLQHRLLDLNIEQVS
RYLDVGMRTIKDNAEDMVYKIGAHMYTLADAAKRYTSYIYDQSDMANVHFV
ADQLDALQKQFRDASELGNT ELAFKAKEKIKEVKKDLLSIENFKSAVKDNVS
WQTS MIDADSNMTTGQKGRAKAAVESWGRQQERRAEESMADRGWASYRKY

YREVEERLKEAADDAERARIKESAEIEKARILAEDILPHERAAALLERLERLPSV
LEKVRSAAKQSLEDGLVTFLTGINQAESMEDALSDLARTVLQAIQKAYAESIV
ADLMDKWFPAAQQMPDGGASVDAADAQVQMMEANYQRLLSSTSNFIGDFFPQ
TQTFQTGLQTTFTSIFSVMESANSRIHSFSLPLHNPFGLPSEATTQQTNVQQH
AAGGYIQGPGTGTSDSILSRLSNGEFVVKAAAVKKYGRETILERINNGTFANIHV
RIPKFAAGGMVGRHLDSAASRFTTEL GASIPIHLTANNYVDGKRIFDTYGKPFIR
SEIERD TVRNARLRSELGRRLR

ASVDAADA

Posteriormente se procede a realizar el alineamiento de proteínas y encontrar estructuras comunes, de esta manera se logra obtener la secuencia de aminoácidos que constituyen el epítipo del factor de virulencia del periodontopatógenos.

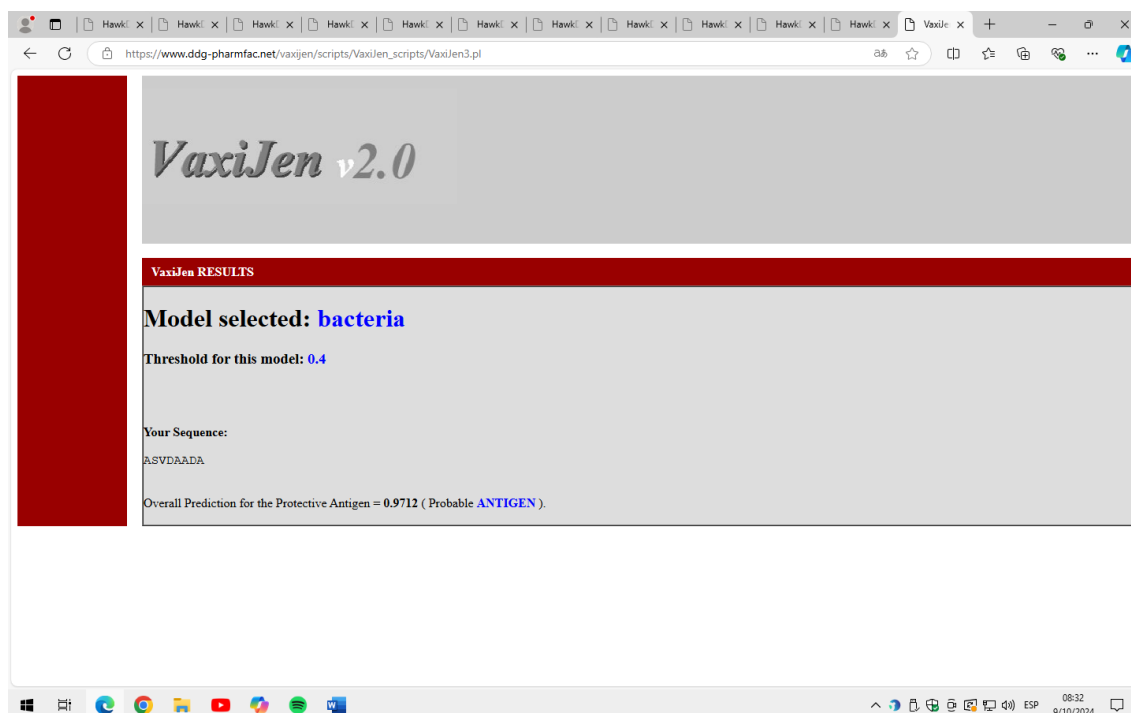
Imagen 152
Modelado 3D de transglycosylase SLT domain-containing protein



Seguidamente, se procedió a llevar a cabo el testeo de dicho epítipo, en primer lugar, determinar si el mismo, realmente es un epítipo, y para ello se utilizó el servidor VAXIJEN, que por medio de un algoritmo contratado con los datos obtenidos arroja un resultado en el sentido de que si la secuencia de aminoácidos es o no es un antígeno.

Imagen 153

Prueba de antigenicidad de ASVDAADA

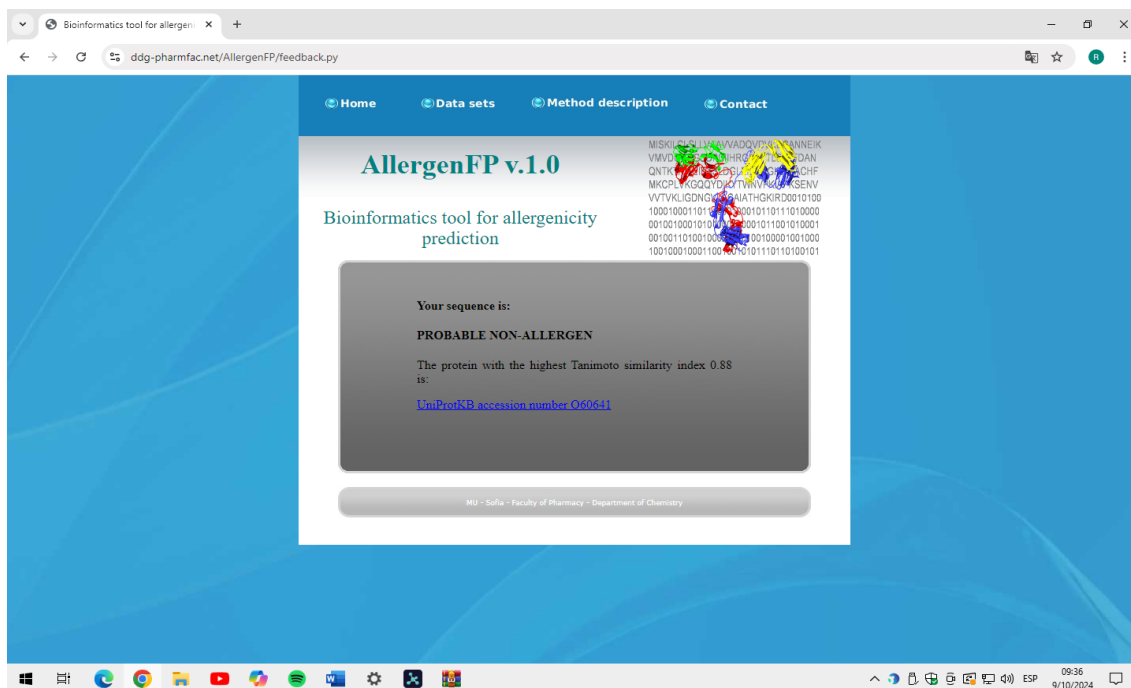


Cabe resaltar que, dichos antígenos, tienen como finalidad formar el complejo antígeno – anticuerpo, para lo cual tienen que unirse a este último, y para cumplir su función biológica deben tener afinidad por el complejo mayor de histocompatibilidad de tipo I (MHC I) o de tipo II (MHC II). En el primer caso, la unión a membrana del linfocito generara citotoxicidad, es decir, que la célula atacara y eliminara a aquellas que hayan sido infectadas o de alguna manera se hayan visto afectadas por un antígeno intracelular, por otro lado, en el segundo caso se producirá la unión a linfocitos Helper, lo que implica que la célula responderá frente a antígenos extracelulares.

El siguiente paso es llevar a cabo el testeo del posible epítipo, puesto que este debe cumplir con la particularidad de no tener potencial para generar reacciones alérgicas ni tampoco debe poder ser capaz de generar efectos tóxicos, dicho testeo se llevó a cabo en el servidor AllergenFP y ToxinPred respectivamente.

Imagen 154

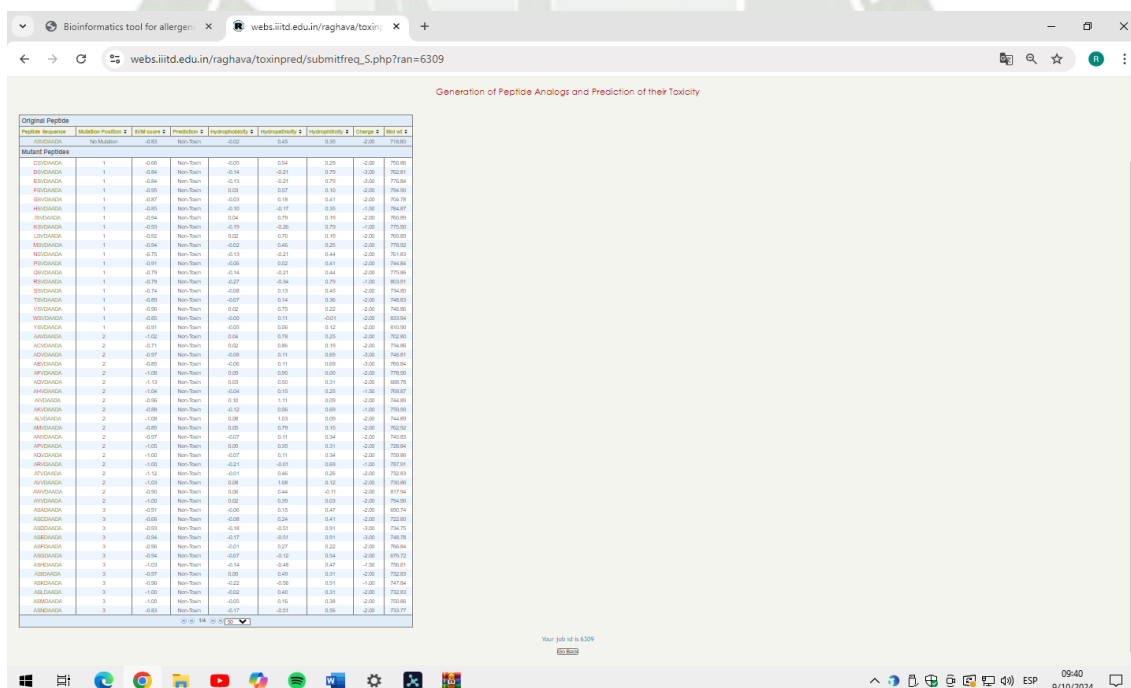
Prueba de alergenicidad de ASVDAADA



The screenshot shows the AllergenFP v.1.0 web application. The main heading is "AllergenFP v.1.0" with the subtitle "Bioinformatics tool for allergenicity prediction". The interface includes navigation links for Home, Data sets, Method description, and Contact. A 3D molecular model of the protein ASVDAADA is displayed on the right. The central panel shows the input sequence "ASVDAADA" and the prediction result: "PROBABLE NON-ALLERGEN". Below this, it states "The protein with the highest Tanimoto similarity index 0.88 is:" followed by a link to the UniProtKB accession number O60641. The footer indicates the tool is from MU - Sofia - Faculty of Pharmacy - Department of Chemistry.

Imagen 155

Prueba de toxicidad de ASVDAADA

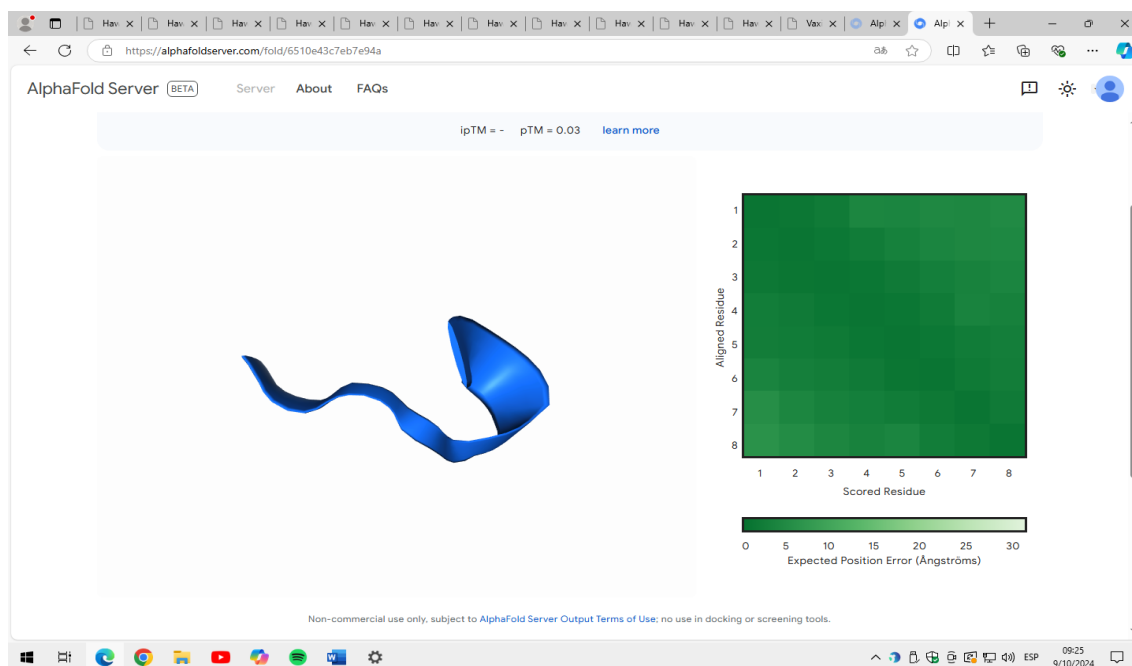


The screenshot shows the "Generation of Peptide Analogs and Prediction of their Toxicity" web application. It displays a table of generated peptide analogs and their predicted toxicity. The table has columns for Peptide Sequence, Mutation Position, ERM score, Prediction, Hydrophobicity, Hydrophilicity, Charge, and Mol wt. The peptides are listed in the first column, and the corresponding values for each metric are in the subsequent columns. The table is titled "Mutated Peptides" and lists various analogs of ASVDAADA.

Peptide Sequence	Mutation Position	ERM score	Prediction	Hydrophobicity	Hydrophilicity	Charge	Mol wt
ASVDAADA	1	-0.05	Non-Toxic	0.05	0.04	0.20	750.06
ASVDAADA	1	-0.04	Non-Toxic	-0.14	-0.21	0.75	750.01
ASVDAADA	1	-0.04	Non-Toxic	-0.13	-0.21	0.75	750.04
ASVDAADA	1	-0.05	Non-Toxic	0.03	0.07	0.10	750.00
ASVDAADA	1	-0.07	Non-Toxic	-0.03	-0.16	0.41	750.19
ASVDAADA	1	-0.05	Non-Toxic	-0.10	-0.17	0.35	750.07
ASVDAADA	1	-0.04	Non-Toxic	0.04	0.76	0.16	750.09
ASVDAADA	1	-0.03	Non-Toxic	-0.10	-0.20	0.75	750.00
ASVDAADA	1	-0.02	Non-Toxic	0.02	0.70	0.15	750.09
ASVDAADA	1	-0.04	Non-Toxic	-0.02	-0.40	-0.20	770.02
ASVDAADA	1	-0.70	Non-Toxic	-0.10	-0.21	0.44	701.03
ASVDAADA	1	-0.01	Non-Toxic	-0.00	-0.02	0.41	750.00
ASVDAADA	1	-0.79	Non-Toxic	-0.14	-0.21	0.44	770.06
ASVDAADA	1	-0.70	Non-Toxic	-0.07	-0.40	-0.20	800.01
ASVDAADA	1	-0.74	Non-Toxic	-0.08	-0.10	0.45	770.00
ASVDAADA	1	-0.00	Non-Toxic	-0.07	0.14	0.30	740.05
ASVDAADA	1	-0.00	Non-Toxic	0.02	0.75	0.22	740.00
ASVDAADA	1	-0.00	Non-Toxic	0.00	0.11	-0.01	830.04
ASVDAADA	1	-0.01	Non-Toxic	-0.00	0.00	0.12	810.00
ASVDAADA	2	-1.02	Non-Toxic	0.04	0.76	0.25	750.00
ASVDAADA	2	-0.71	Non-Toxic	0.02	0.06	0.16	750.06
ASVDAADA	2	-0.07	Non-Toxic	-0.08	0.11	0.05	740.01
ASVDAADA	2	-0.00	Non-Toxic	-0.00	0.11	0.05	750.04
ASVDAADA	2	-1.00	Non-Toxic	0.00	0.00	0.00	770.00
ASVDAADA	2	-1.10	Non-Toxic	0.00	0.00	0.31	680.70
ASVDAADA	2	-1.04	Non-Toxic	-0.04	0.10	0.20	740.07
ASVDAADA	2	-0.06	Non-Toxic	0.10	1.11	0.00	744.00
ASVDAADA	2	-0.06	Non-Toxic	-0.12	0.06	0.04	740.00
ASVDAADA	2	-1.08	Non-Toxic	0.08	1.00	0.00	744.00
ASVDAADA	2	-0.00	Non-Toxic	0.00	0.76	0.15	760.00
ASVDAADA	2	-0.07	Non-Toxic	-0.07	0.11	0.34	740.00
ASVDAADA	2	-1.00	Non-Toxic	0.00	0.00	0.31	720.04
ASVDAADA	2	-1.00	Non-Toxic	-0.07	0.11	0.34	750.00
ASVDAADA	2	-1.00	Non-Toxic	-0.21	-0.01	0.00	707.01
ASVDAADA	2	-1.12	Non-Toxic	-0.01	0.46	0.26	750.00
ASVDAADA	2	-1.00	Non-Toxic	0.08	1.08	0.12	750.00
ASVDAADA	2	-0.00	Non-Toxic	0.00	0.44	-0.11	817.04
ASVDAADA	2	-1.00	Non-Toxic	0.00	0.00	0.00	750.00
ASVDAADA	3	-0.01	Non-Toxic	-0.00	0.10	0.47	690.74
ASVDAADA	3	-0.00	Non-Toxic	-0.00	0.24	0.41	720.00
ASVDAADA	3	-0.00	Non-Toxic	-0.10	-0.01	0.01	750.75
ASVDAADA	3	-0.06	Non-Toxic	-0.17	-0.01	0.01	740.70
ASVDAADA	3	-0.06	Non-Toxic	-0.01	0.07	0.22	760.04
ASVDAADA	3	-0.04	Non-Toxic	-0.07	-0.12	0.04	870.72
ASVDAADA	3	-1.00	Non-Toxic	-0.14	-0.40	0.47	750.01
ASVDAADA	3	-0.07	Non-Toxic	0.00	0.40	0.31	750.00
ASVDAADA	3	-0.00	Non-Toxic	-0.22	-0.10	0.10	740.04
ASVDAADA	3	-1.00	Non-Toxic	-0.02	0.40	0.31	750.00
ASVDAADA	3	-1.00	Non-Toxic	-0.00	0.10	0.30	750.00
ASVDAADA	3	-0.00	Non-Toxic	-0.17	-0.01	0.10	751.77

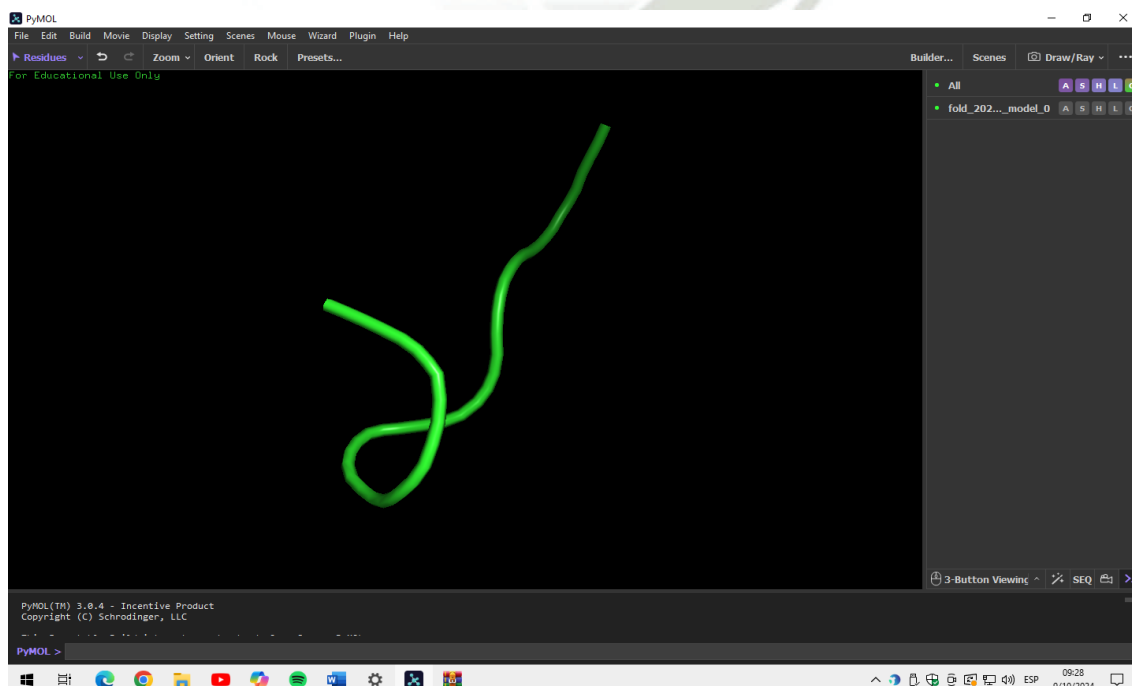
Una vez completado el testeo yabiendo obtenido un epitopo optimo, se procede a realizar el plegado de la estructura para lo cual se utilizo el algoritmo de AlphaFold Server, como resultado se obtiene modelos 3d de la estructura en cuestion en formato CIF.

Imagen 156
Plegado de ASVDAADA



De los modelos proporcionados por AlphaFold Server, se elige el más óptimo, en relación a la estructura tridimensional, el mismo se procede a someterlo a un programa especializado en la generación de modelos 3D de estructuras proteínicas. El software PyMOL; este convierte el archivo CIF antes mencionado en un archivo de tipo PDB.

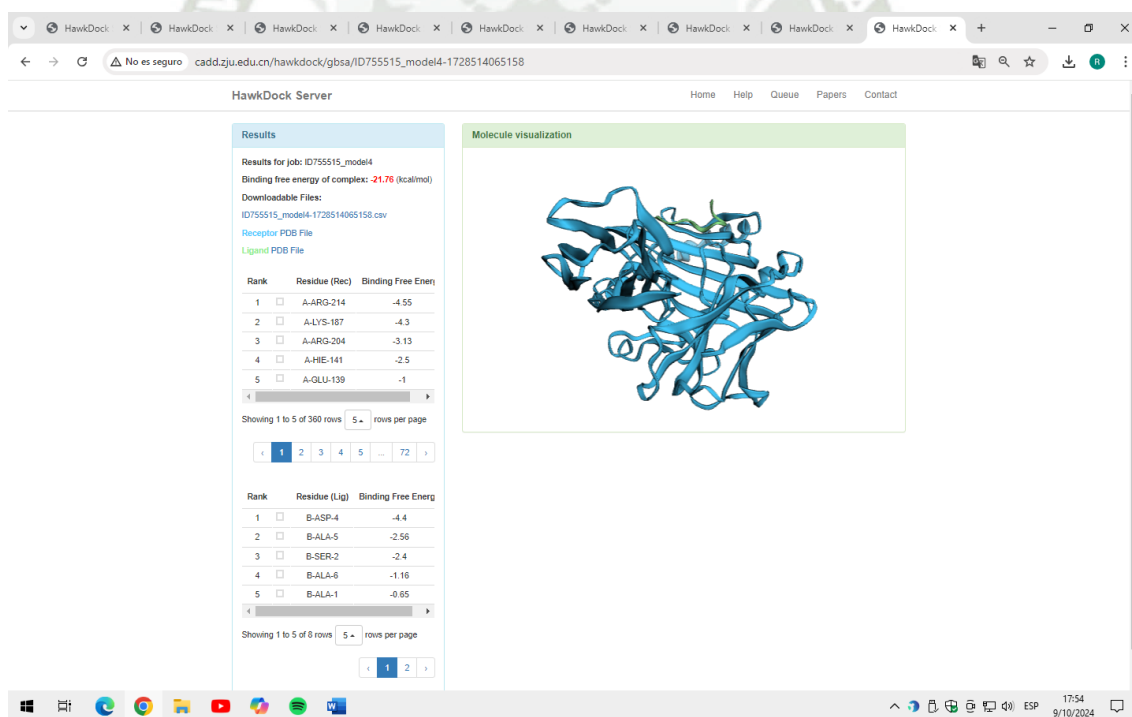
Imagen 157
Modelado 3D de ASVDAADA



Habiendo obtenido el modelo 3D del epítipo, se procede a realizar el Doking, es decir a acoplar dicho epítipo a la molécula de MHC1 o MHC2, en el presente trabajo, el acople se realiza a la molécula MHC2, dado que la presentación de antígenos por vía de acople a MHC2 permitirá que sean los linfocitos TCD4 quienes actúen contra el antígeno extracelular con el objetivo de poder neutralizarlo.

La mencionada operación se realizó en HawkDock Server, este software, permite determinar la afinidad en la unión de las estructuras antes mencionadas, es preciso señalar que en base a los principios de la termodinámica, cuando la unión entre dos elementos es positivo implica un gasto de energía para poder concretar la unión, por el contrario, si el valor es negativo, esto significa que la unión no requiere de energía y esta falta de requerimiento energético es mayor mientras más se aleje de la unidad 0, ya que el último valor mencionado implica un estado de equilibrio en el sistema.

Imagen 158
Doking con MHC de ASVDAADA



r. >UZE46631.1 response regulator transcription factor [Selenomonas sputigena]

Prosiguiendo con el estudio de los epítipos, previamente se debe de entender la naturaleza del término, un epítipo es parte de un antígeno, entendiéndose por esta toda estructura ajena al organismo que tiene la posibilidad de desencadenar una respuesta inmune, este

es diferente a un inmunógeno (que es lo que se obtuvo en el presente trabajo), un agente ajeno al organismo que siempre va a generar una respuesta inmune, al unirse con la región variable de un anticuerpo formando el paratopo.

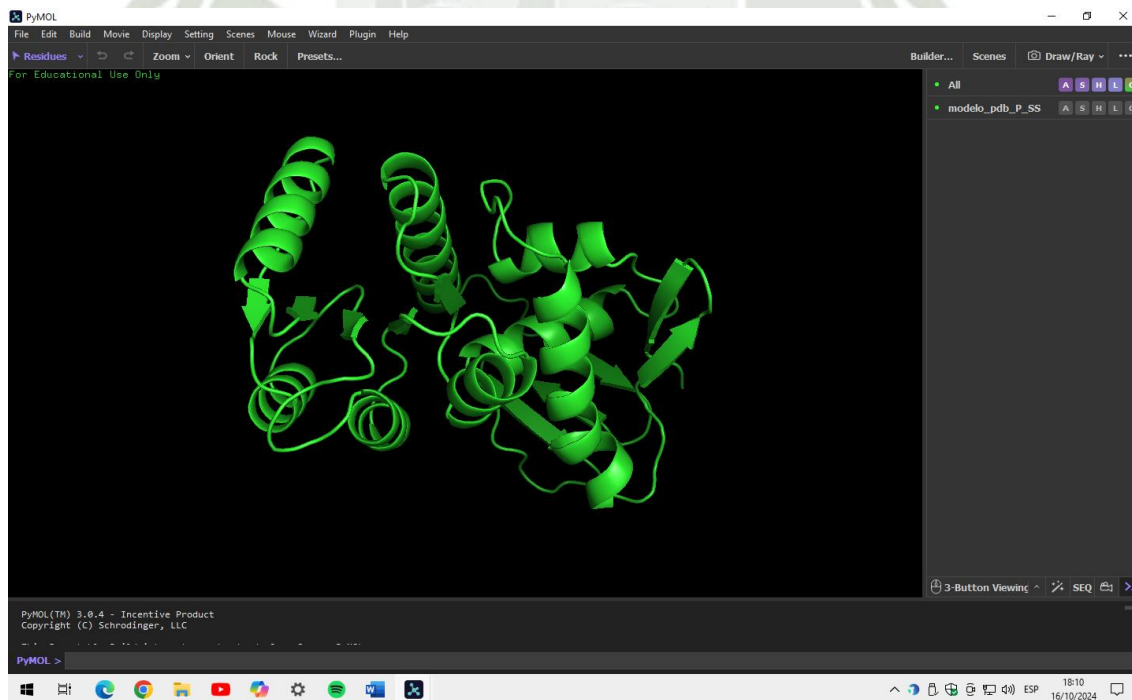
El procedimiento implica obtener, en primer lugar, las estructuras proteínicas de los factores de virulencia del periodonto patógenos, los cuales se pudieron conseguir con una ardua y prolongada revisión bibliográfica en plataformas de investigación científica.

>UZE46631.1 response regulator transcription factor [Selenomonas sputigena]

MIVEDERRIARFLQMELEHEGFETESEENGRRAYERIVQEYQDLVLLDIMLPDM
DGLEVCRRVREISDVPIMLTAKDDVEDKVNGLDIGADDYITKPFQELLARVR
AAIRVHKANEAGNRDERVLAVKDLVLYPGRYEVRVKGDLVELTKKEYSLLEYM
LRNKNVLTQILQEVWGYDYVGDTNVVDVYIRYLRAKIDERFDDKYYITVR
GVGYAIKG

AKIDERFDDK

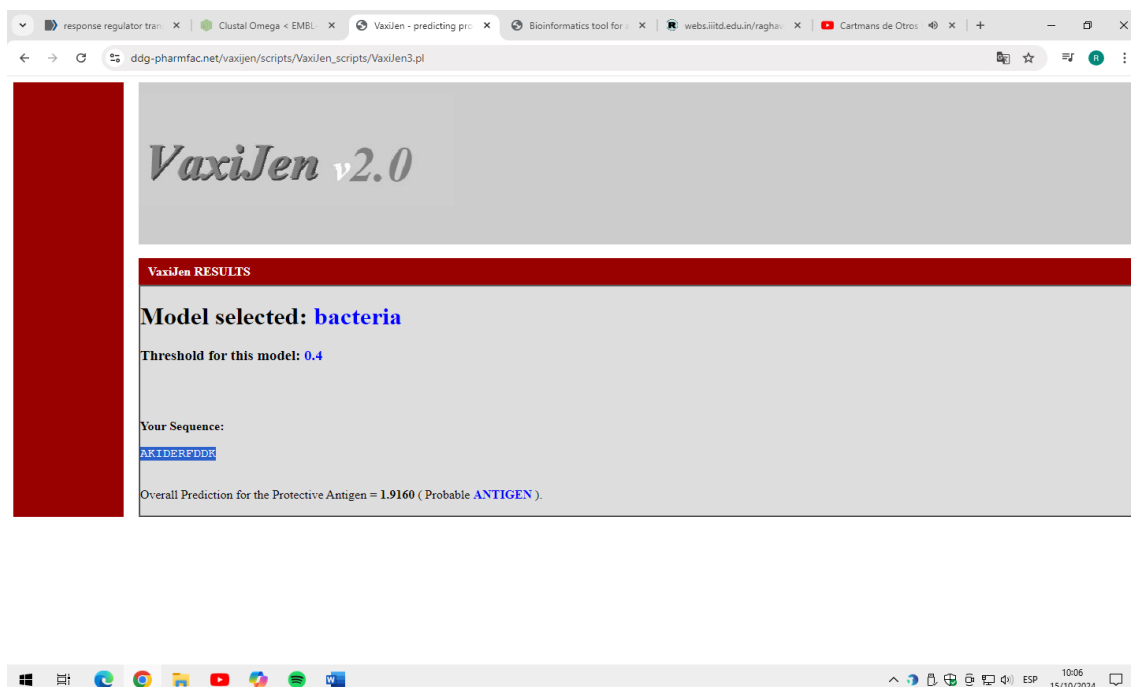
Imagen 159
Modelado 3D de response regulator transcription factor



Posteriormente se procede a realizar el alineamiento de proteínas y encontrar estructuras comunes, de esta manera se logra obtener la secuencia de aminoácidos que constituyen el epítipo del factor de virulencia del periodontopatógenos.

Seguidamente, se procedió a llevar a cabo el testeo de dicho epítopo, en primer lugar, determinar si el mismo, realmente es un epítopo, y para ello se utilizó el servidor VAXIJEN, que por medio de un algoritmo contratado con los datos obtenidos arroja un resultado en el sentido de que si la secuencia de aminoácidos es o no es un antígeno.

Imagen 160
Prueba de antigenicidad de AKIDERFDDK

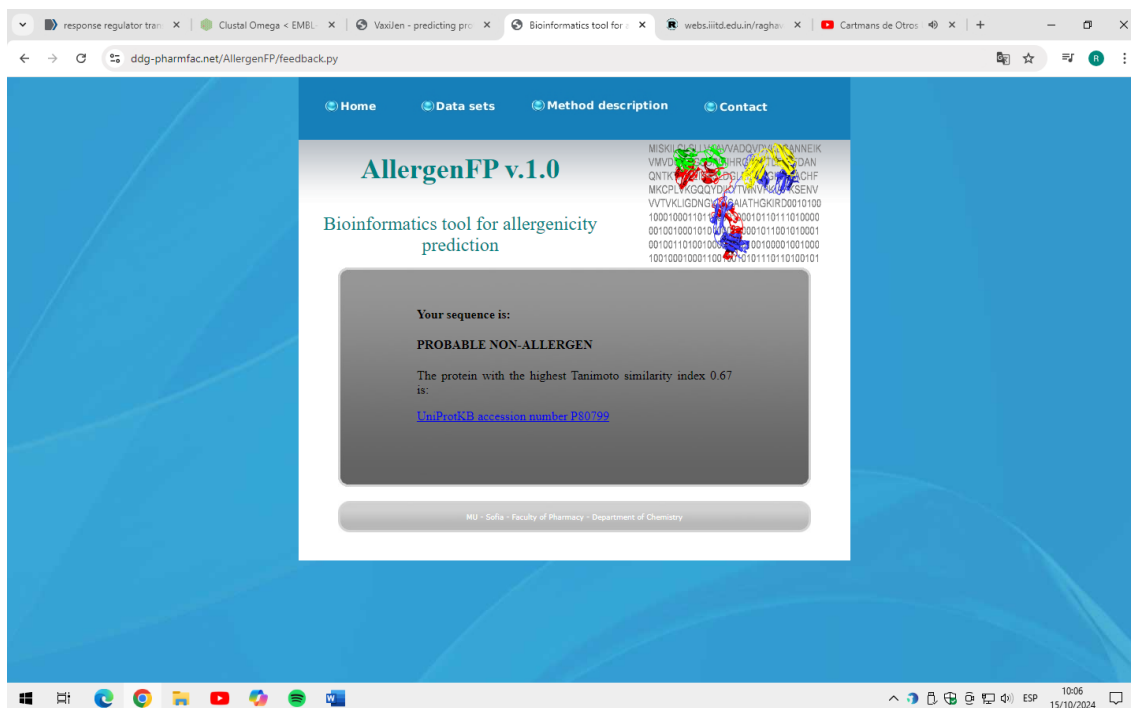


Cabe resaltar que, dichos antígenos, tienen como finalidad formar el complejo antígeno – anticuerpo, para lo cual tienen que unirse a este último, y para cumplir su función biológica deben tener afinidad por el complejo mayor de histocompatibilidad de tipo I (MHCI) o de tipo II (MHCII). En el primer caso, la unión a membrana del linfocito generara citotoxicidad, es decir, que la célula atacara y eliminara a aquellas que hayan sido infectadas o de alguna manera se hayan visto afectadas por un antígeno intracelular, por otro lado, en el segundo caso se producirá la unión a linfocitos Helper, lo que implica que la célula responderá frente a antígenos extracelulares.

El siguiente paso es llevar a cabo el testeo del posible epítopo, puesto que este debe cumplir con la particularidad de no tener potencial para generar reacciones alérgicas ni tampoco debe poder ser capaz de generar efectos tóxicos, dicho testeo se llevó a cabo en el servidor AllergenFP y ToxinPred respectivamente.

Imagen 161

Prueba de alergenidad de AKIDERFDDK



AllergenFP v.1.0

Bioinformatics tool for allergenicity prediction

Your sequence is:

PROBABLE NON-ALLERGEN

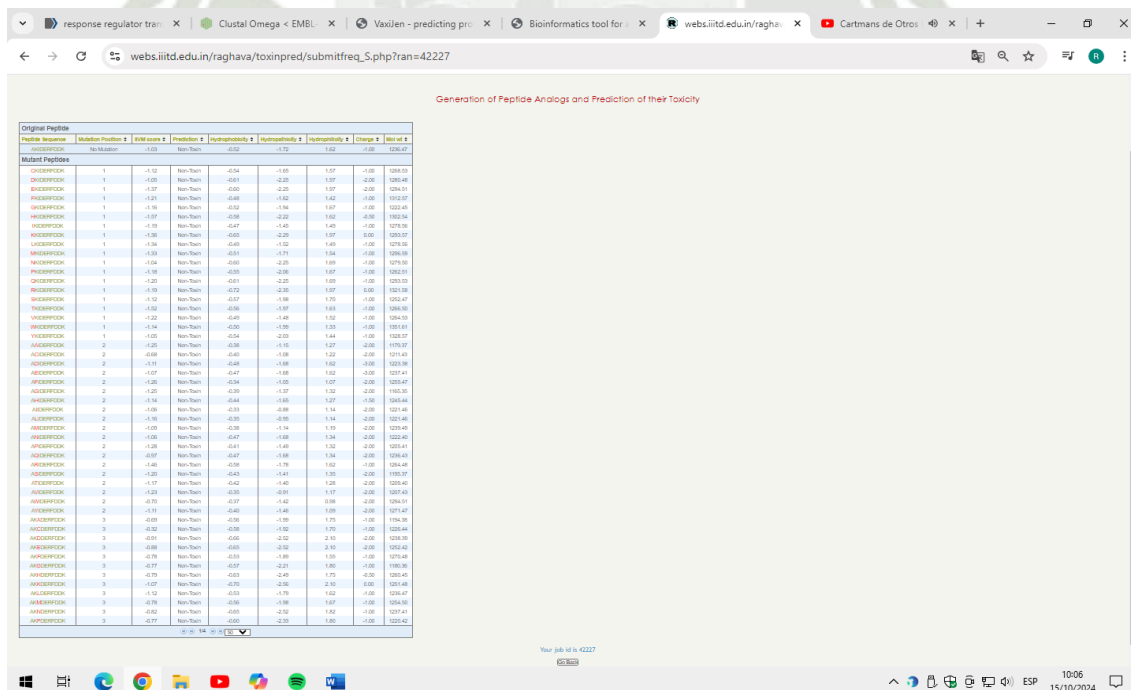
The protein with the highest Tanimoto similarity index 0.67 is:

[UniProtKB accession number P80799](#)

MU - Sofia - Faculty of Pharmacy - Department of Chemistry

Imagen 162

Prueba de toxicidad de AKIDERFDDK



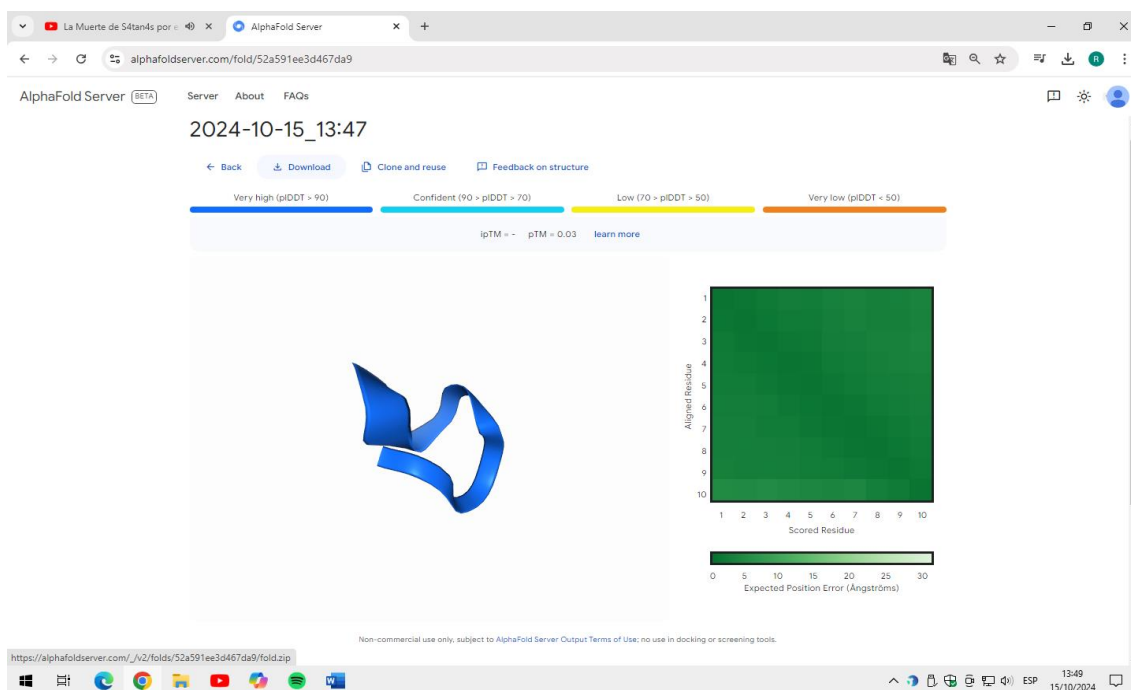
Generation of Peptide Analogs and Prediction of their Toxicity

Original Peptide	Mutation Position	EEM score	Prediction	Hydrophobicity	Hydrophilicity	Charge	Net pI
AKIDERFDDK	1	-1.12	Non-Toxic	-0.24	-1.88	1.57	-1.38
AKIDERFDDK	1	-1.05	Non-Toxic	-0.01	-2.25	1.97	-2.35
AKIDERFDDK	1	-1.07	Non-Toxic	-0.00	-2.22	1.97	-2.35
AKIDERFDDK	1	-1.21	Non-Toxic	-0.48	-1.42	1.42	-1.00
AKIDERFDDK	1	-1.16	Non-Toxic	-0.52	-1.36	1.97	-1.00
AKIDERFDDK	1	-1.07	Non-Toxic	-0.38	-2.22	1.62	-1.30
AKIDERFDDK	1	-1.10	Non-Toxic	-0.47	-1.46	1.46	-1.00
AKIDERFDDK	1	-1.36	Non-Toxic	-0.05	-2.25	1.97	-2.35
AKIDERFDDK	1	-1.34	Non-Toxic	-0.45	-1.52	1.45	-1.00
AKIDERFDDK	1	-1.33	Non-Toxic	-0.51	-1.71	1.54	-1.00
AKIDERFDDK	1	-1.04	Non-Toxic	-0.50	-2.25	1.69	-1.00
AKIDERFDDK	1	-1.16	Non-Toxic	-0.55	-2.39	1.97	-1.00
AKIDERFDDK	1	-1.20	Non-Toxic	-0.51	-2.25	1.69	-1.00
AKIDERFDDK	1	-1.10	Non-Toxic	-0.72	-2.22	1.97	-2.35
AKIDERFDDK	1	-1.12	Non-Toxic	-0.17	-1.88	1.70	-1.38
AKIDERFDDK	1	-1.02	Non-Toxic	-0.36	-1.97	1.63	-1.38
AKIDERFDDK	1	-1.22	Non-Toxic	-0.49	-1.48	1.52	-1.00
AKIDERFDDK	1	-1.14	Non-Toxic	-0.30	-1.39	1.33	-1.00
AKIDERFDDK	1	-1.00	Non-Toxic	-0.54	-2.25	1.44	-1.00
AKIDERFDDK	2	-1.25	Non-Toxic	-0.38	-1.10	1.27	-2.35
AKIDERFDDK	2	-0.88	Non-Toxic	-0.48	-1.38	1.22	-2.35
AKIDERFDDK	2	-1.11	Non-Toxic	-0.48	-1.68	1.62	-1.38
AKIDERFDDK	2	-1.07	Non-Toxic	-0.47	-1.68	1.62	-1.38
AKIDERFDDK	2	-1.20	Non-Toxic	-0.34	-1.68	1.67	-2.35
AKIDERFDDK	2	-1.20	Non-Toxic	-0.39	-1.57	1.52	-2.35
AKIDERFDDK	2	-1.14	Non-Toxic	-0.44	-1.68	1.27	-1.38
AKIDERFDDK	2	-1.08	Non-Toxic	-0.33	-0.89	1.14	-2.35
AKIDERFDDK	2	-1.16	Non-Toxic	-0.35	-0.96	1.14	-2.35
AKIDERFDDK	2	-1.09	Non-Toxic	-0.35	-1.14	1.19	-2.35
AKIDERFDDK	2	-1.00	Non-Toxic	-0.47	-1.68	1.34	-2.35
AKIDERFDDK	2	-1.28	Non-Toxic	-0.41	-1.48	1.52	-2.35
AKIDERFDDK	2	-0.97	Non-Toxic	-0.47	-1.48	1.34	-2.35
AKIDERFDDK	2	-1.48	Non-Toxic	-0.59	-1.79	1.52	-1.00
AKIDERFDDK	2	-1.20	Non-Toxic	-0.43	-1.41	1.35	-2.35
AKIDERFDDK	2	-1.17	Non-Toxic	-0.42	-1.44	1.28	-2.35
AKIDERFDDK	2	-1.23	Non-Toxic	-0.35	-0.91	1.17	-2.35
AKIDERFDDK	2	-0.70	Non-Toxic	-0.37	-1.42	0.98	-2.35
AKIDERFDDK	2	-1.11	Non-Toxic	-0.48	-1.48	1.68	-2.35
AKIDERFDDK	3	-0.69	Non-Toxic	-0.36	-1.59	1.75	-1.00
AKIDERFDDK	3	-0.50	Non-Toxic	-0.55	-1.52	1.79	-1.00
AKIDERFDDK	3	-0.91	Non-Toxic	-0.56	-2.02	2.10	-2.35
AKIDERFDDK	3	-0.86	Non-Toxic	-0.65	-2.12	2.15	-2.35
AKIDERFDDK	3	-0.76	Non-Toxic	-0.53	-1.69	1.55	-1.00
AKIDERFDDK	3	-0.77	Non-Toxic	-0.57	-2.21	1.85	-1.38
AKIDERFDDK	3	-0.79	Non-Toxic	-0.63	-2.45	1.75	-2.35
AKIDERFDDK	3	-1.07	Non-Toxic	-0.70	-2.30	2.10	-2.35
AKIDERFDDK	3	-1.12	Non-Toxic	-0.59	-1.79	1.52	-1.00
AKIDERFDDK	3	-0.78	Non-Toxic	-0.56	-1.59	1.67	-1.38
AKIDERFDDK	3	-0.62	Non-Toxic	-0.50	-2.02	1.92	-2.35
AKIDERFDDK	3	-0.77	Non-Toxic	-0.60	-2.32	1.85	-2.35

Your job id is 42227

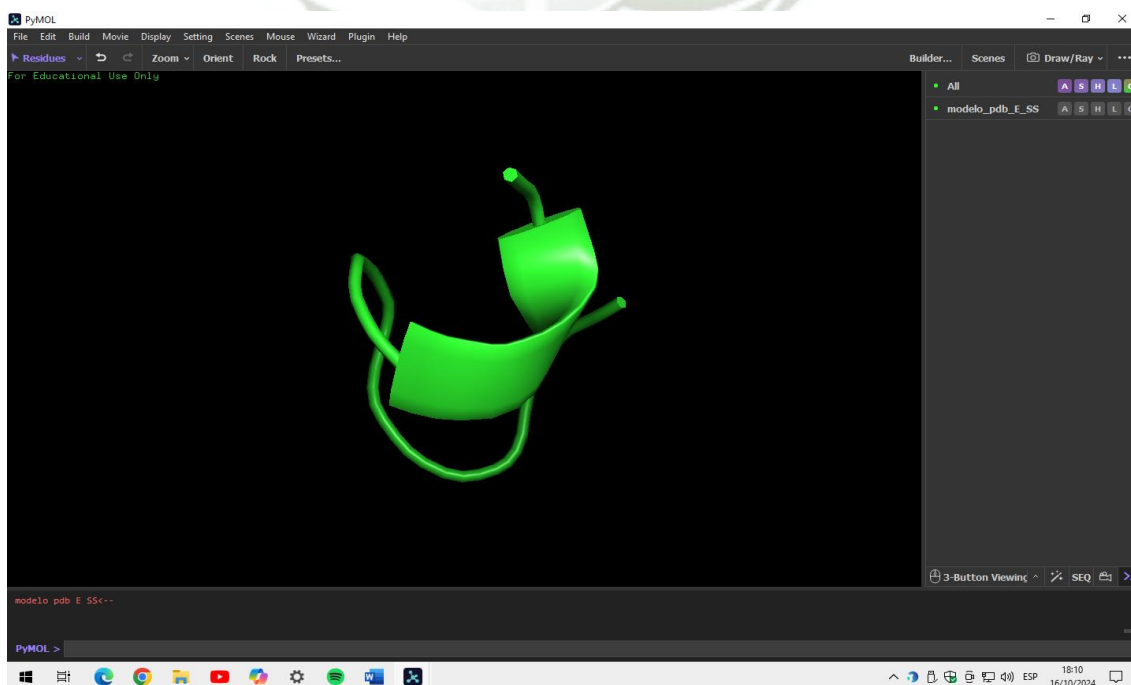
Una vez completado el testeo y abiendo optenido un epitopo optimo, se procede a realizar el plegado de la estructura para lo cual se utilizo el algoritmo de AlphaFold Server, como resultado se obtiene modelos 3D de la estructura en cuestion en formato CIF.

Imagen 163
Plegado de AKIDERFDDK



De los modelos proporcionados por AlphaFold Server, se elige el más óptimo, en relación a la estructura tridimensional, el mismo se procede a someterlo a un programa especializado en la generación de modelos 3D de estructuras proteínicas. El software PyMOL; este convierte el archivo CIF antes mencionado en un archivo de tipo PDB.

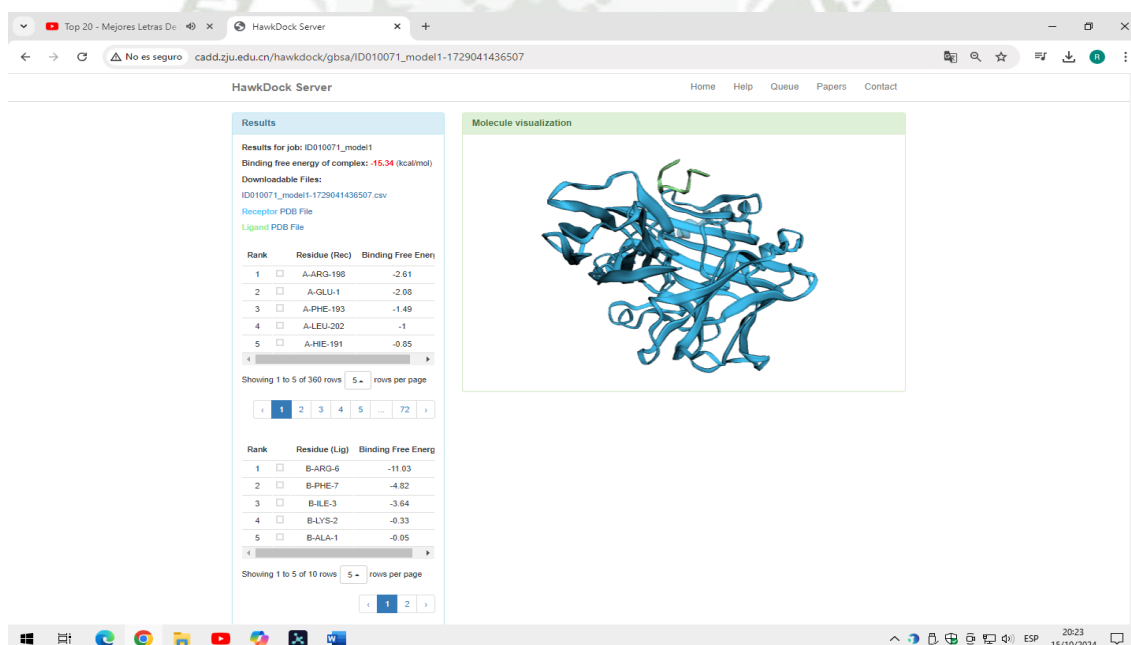
Imagen 164
Modelado 3D de AKIDERFDDK



Habiendo obtenido el modelo 3D del epítipo, se procede a realizar el Doking, es decir a acoplar dicho epítipo a la molécula de MHC1 o MHC2, en el presente trabajo, el acople se realiza a la molécula MHC2, dado que la presentación de antígenos por vía de acople a MHC2 permitirá que sean los linfocitos TCD4 quienes actúen contra el antígeno extracelular con el objetivo de poder neutralizarlo.

La mencionada operación se realizó en HawkDock Server, este software, permite determinar la afinidad en la unión de las estructuras antes mencionadas, es preciso señalar que en base a los principios de la termodinámica, cuando la unión entre dos elementos es positivo implica un gasto de energía para poder concretar la unión, por el contrario, si el valor es negativo, esto significa que la unión no requiere de energía y esta falta de requerimiento energético es mayor mientras más se aleje de la unidad 0, ya que el último valor mencionado implica un estado de equilibrio en el sistema.

Imagen 165
Doking con MHC II de AKIDERFDDK



s. >AAR82923.1 surface layer protein B, partial [*Tannerella forsythia*]

Prosiguiendo con el estudio de los epítipos, previamente se debe de entender la naturaleza del término, un epítipo es parte de un antígeno, entendiéndose por esta toda estructura ajena al organismo que tiene la posibilidad de desencadenar una respuesta inmune, este es diferente a un inmunógeno (que es lo que se obtuvo en el presente trabajo), un agente ajeno al organismo que siempre va a generar una respuesta inmune, al unirse con la región

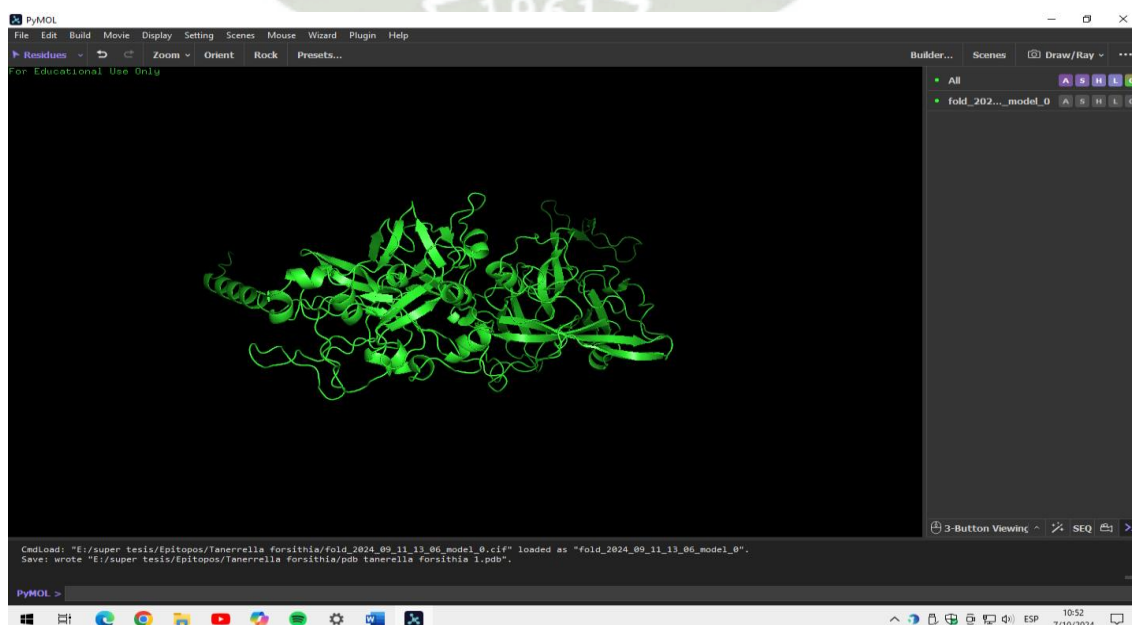
variable de un anticuerpo formando el paratopo.

El procedimiento implica obtener, en primer lugar, las estructuras proteínicas de los factores de virulencia del periodonto patógenos, los cuales se pudieron conseguir con una ardua y prolongada revisión bibliográfica en plataformas de investigación científica.

>AAR82923.1 surface layer protein B, partial [Tannerella forsythia]

MIMIMNKKIFTLLAGAFMGFAAVSSVTAQIALEQQQLRVKPYDNAKPTLKFKE
GANDGYYYLQVDSMVAYDKVTKRQKMIGFTPKKTPWPGVIPLDSFGTIRRGVT
LYMGPDASAGQNALWIDVMGRLSGTTGPRVPSAYPNTASIALESAAGLWCVTI
QKY YQGQNPTFDFTNK LQRMMLVENVYGHESWPKDVDGWRKSNEYKSSSNPN
AQTPGSISAWEFSEYKTVGVKGGRLVSYLDETMDTVAVLVGDTLNLGYVQ
VKIAPATDVKAGKINGMLLFTLKEAMPFALDKKSFETVLGTQASQEARSLKFSP
NGTPNPFTDQKWEVEYLDGISPVTAMLIDSSAWTNPWETNYRAWDVAPISQVG
TAGNPWFSDVRHMGQMGYVRLKNAGKYLVDTVYYNSGNSQFLKFNQNA
TFPSDGSPMIGQFVWRMVYYPSGDSIYINPFSATYLPYDPKAITDSTRFATDSV
VRSWYTFTAYPTPKLMVDTLPRYNQNGVFHPALQVPVDERMTARLKWGVNP
KRKIGAVTPGAGAPIDYSYYHRLYVSLQNLTVDGKPGTRVTLHNTKENGKINT
QINFGCYEPCKMATSDRVSIDPDLYLIRNERGQYLHVPLYSAHDSAVVWFELD
YQGQNPTFDFTNK

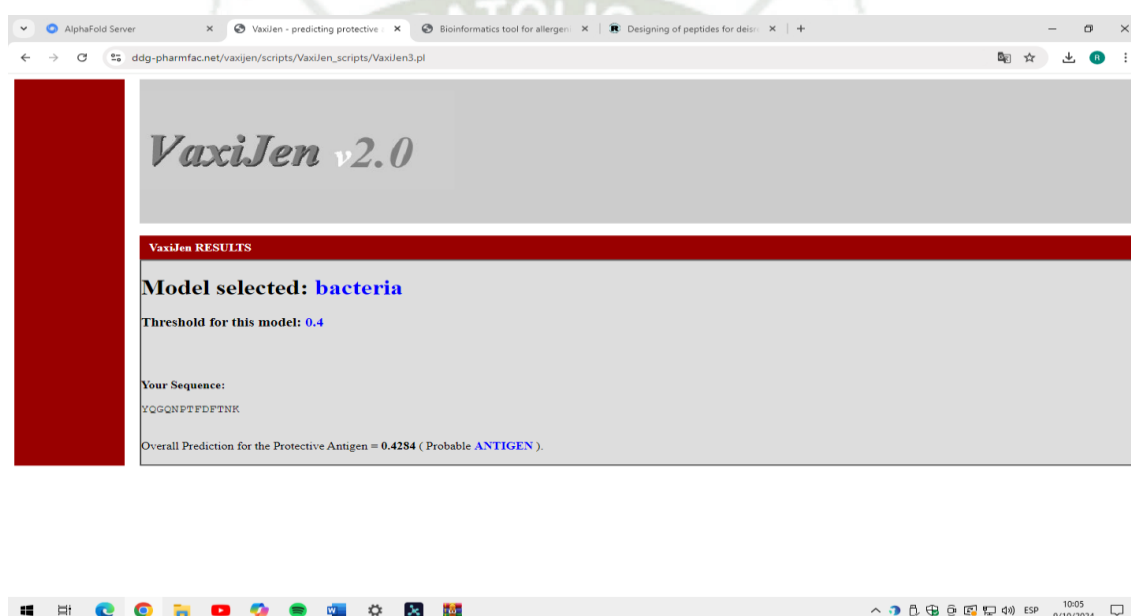
Imagen 166
Modelado 3D de surface layer protein B, partial



Posteriormente se procede a realizar el alineamiento de proteínas y encontrar estructuras comunes, de esta manera se logra obtener la secuencia de aminoácidos que constituyen el epítipo del factor de virulencia del periodontopatógenos.

Seguidamente, se procedió a llevar a cabo el testeo de dicho epítipo, en primer lugar, determinar si el mismo, realmente es un epítipo, y para ello se utilizó el servidor VAXIJEN, que por medio de un algoritmo contratado con los datos obtenidos arroja un resultado en el sentido de que si la secuencia de aminoácidos es o no es un antígeno.

Imagen 167
Prueba de antigenicidad YQGQNPTDFTNK

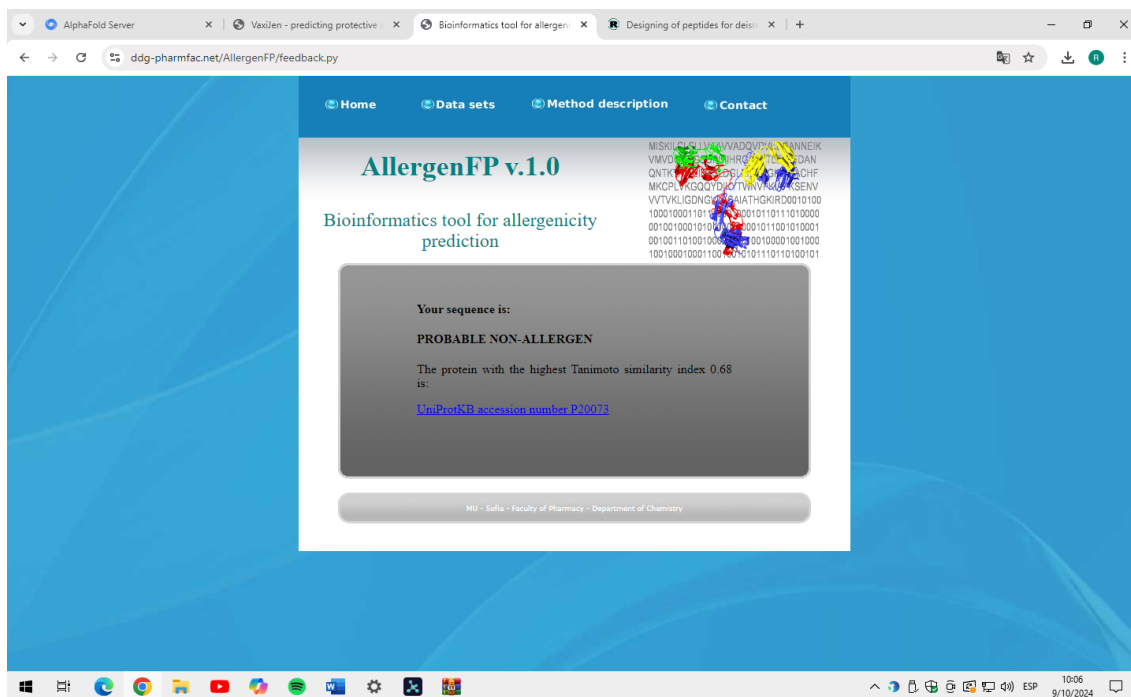


Cabe resaltar que, dichos antígenos, tienen como finalidad formar el complejo antígeno – anticuerpo, para lo cual tienen que unirse a este último, y para cumplir su función biológica deben tener afinidad por el complejo mayor de histocompatibilidad de tipo I (MHC I) o de tipo II (MHC II). En el primer caso, la unión a membrana del linfocito generara citotoxicidad, es decir, que la célula atacara y eliminara a aquellas que hayan sido infectadas o de alguna manera se hayan visto afectadas por un antígeno intracelular, por otro lado, en el segundo caso se producirá la unión a linfocitos Helper, lo que implica que la célula responderá frente a antígenos extracelulares.

El siguiente paso es llevar a cabo el testeo del posible epítipo, puesto que este debe cumplir con la particularidad de no tener potencial para generar reacciones alérgicas ni tampoco debe poder ser capaz de generar efectos tóxicos, dicho testeo se llevó a cabo en el servidor AllergenFP y ToxinPred respectivamente.

Imagen 168

Prueba de alergenicidad de YQGQNPTFDFTNK



AlphaFold Server | Vaxijen - predicting protective | Bioinformatics tool for allergenicity | Designing of peptides for deisn

ddg-pharmfac.net/AllergenFP/feedback.py

Home | Data sets | Method description | Contact

AllergenFP v.1.0

Bioinformatics tool for allergenicity prediction

Your sequence is:

PROBABLE NON-ALLERGEN

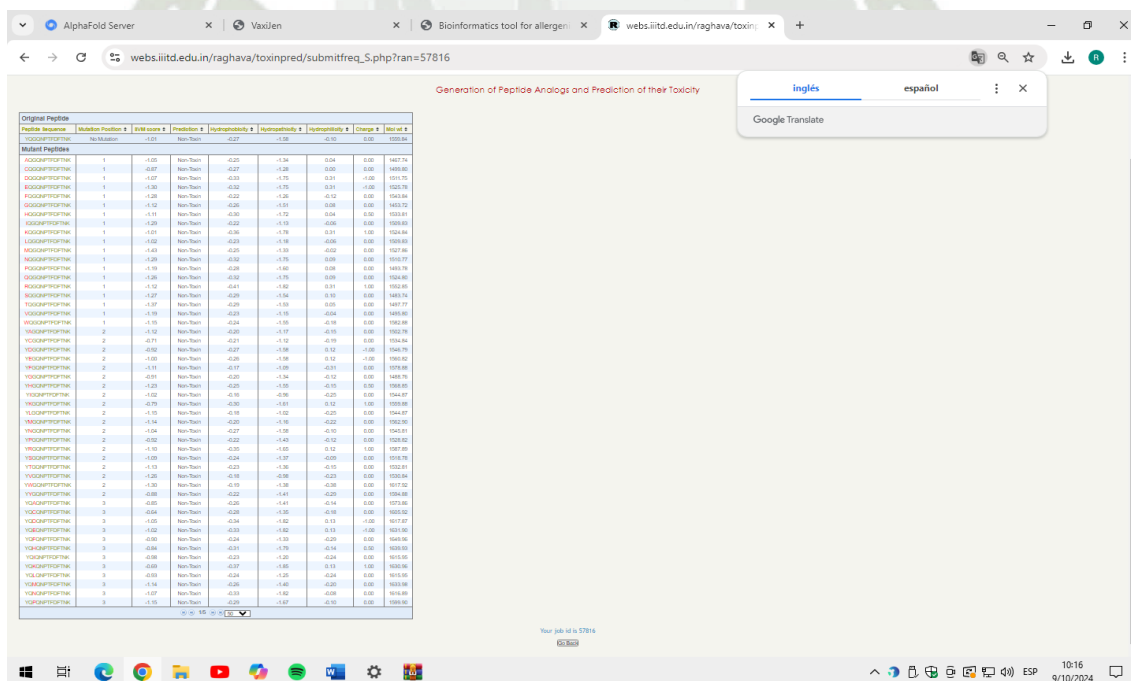
The protein with the highest Tanimoto similarity index 0.68 is:

[UniProtKB accession number P20073](#)

MU - Sofia - Faculty of Pharmacy - Department of Chemistry

Imagen 169

Prueba de toxicidad de YQGQNPTFDFTNK



AlphaFold Server | Vaxijen | Bioinformatics tool for allergenicity | webs.iitd.edu.in/raghava/toxin/

webs.iitd.edu.in/raghava/toxinpred/submitfreq_s.php?ran=57816

Generation of Peptide Analogs and Prediction of their Toxicity

Original Peptide

Peptide Sequence	Position	SwissProt	Protein	Hydrophobicity	Hydrophilicity	Charge	Net at 7
YQGQNPTFDFTNK	1-10	Non-Toxic	2.27	-1.36	-0.32	0.00	1000.00

Mutant Peptides

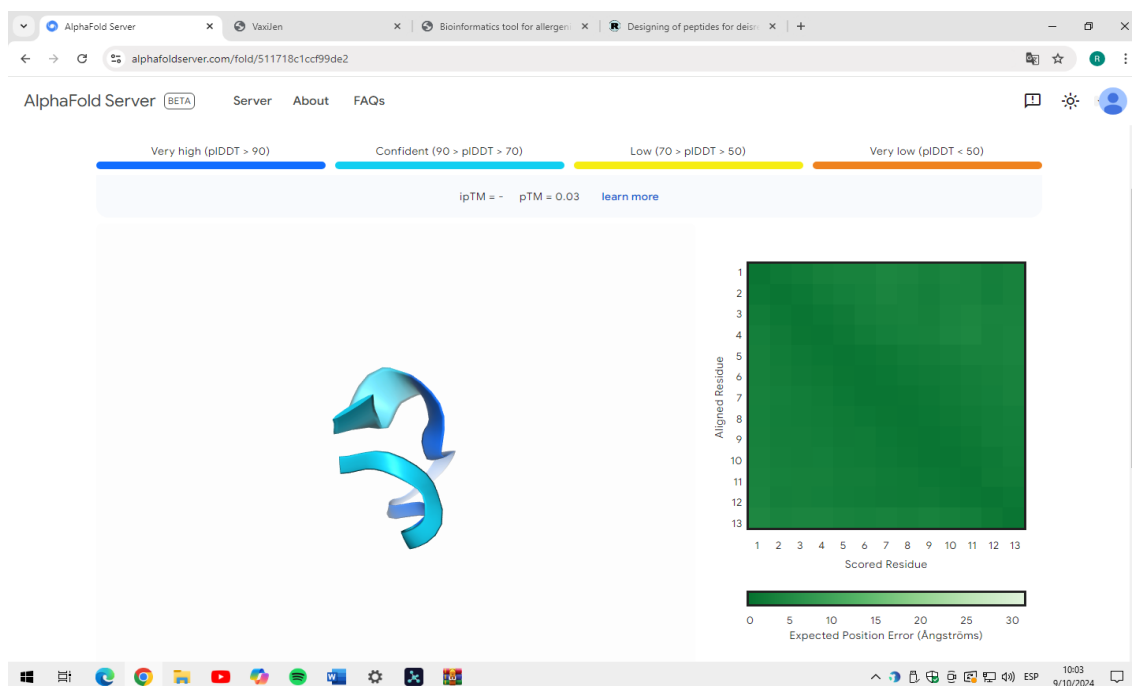
Peptide Sequence	Position	SwissProt	Protein	Hydrophobicity	Hydrophilicity	Charge	Net at 7
YQGQNPTFDFTNK	1	Non-Toxic	2.27	-1.36	-0.32	0.00	1000.00
YQGQNPTFDFTNK	2	Non-Toxic	2.27	-1.36	-0.32	0.00	1000.00
YQGQNPTFDFTNK	3	Non-Toxic	2.27	-1.36	-0.32	0.00	1000.00
YQGQNPTFDFTNK	4	Non-Toxic	2.27	-1.36	-0.32	0.00	1000.00
YQGQNPTFDFTNK	5	Non-Toxic	2.27	-1.36	-0.32	0.00	1000.00
YQGQNPTFDFTNK	6	Non-Toxic	2.27	-1.36	-0.32	0.00	1000.00
YQGQNPTFDFTNK	7	Non-Toxic	2.27	-1.36	-0.32	0.00	1000.00
YQGQNPTFDFTNK	8	Non-Toxic	2.27	-1.36	-0.32	0.00	1000.00
YQGQNPTFDFTNK	9	Non-Toxic	2.27	-1.36	-0.32	0.00	1000.00
YQGQNPTFDFTNK	10	Non-Toxic	2.27	-1.36	-0.32	0.00	1000.00

Your job id is 57816

Una vez completado el testeo y abiendo optenido un epitopo optimo, se procede a realizar el plegado de la estructura para lo cual se utilizo el algoritmo de AlphaFold Server, como resultado se obtiene modelos 3d de la estructura en cuestion en formato CIF.

Imagen 170

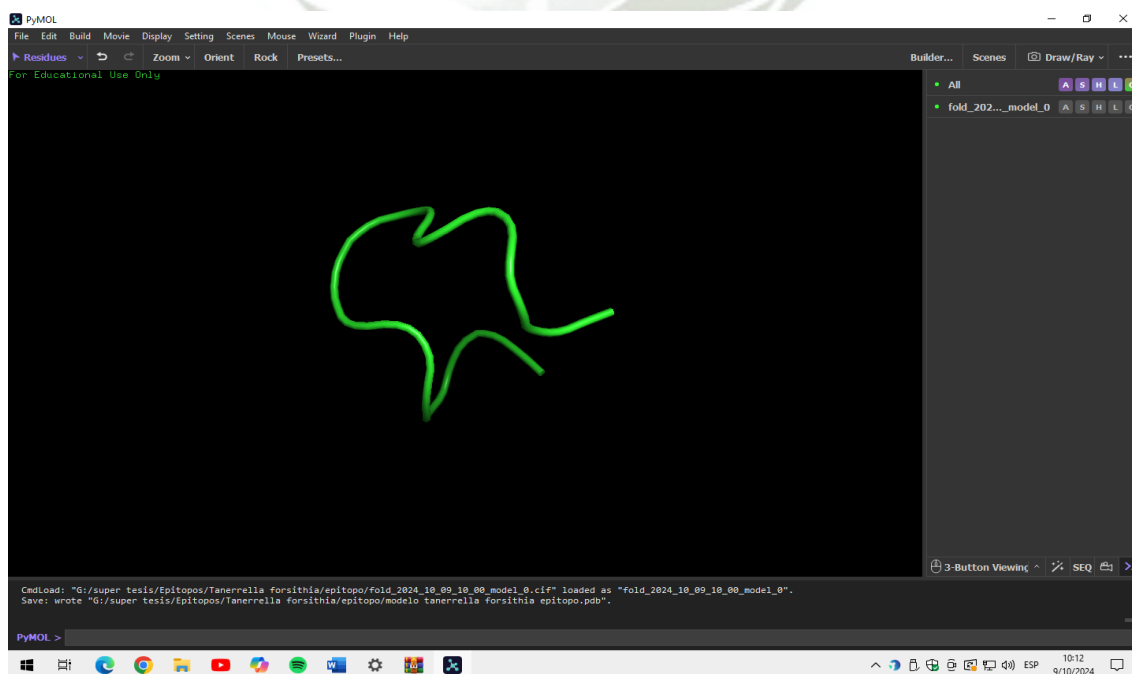
Plegado de YQGQNPTFDFTNK



De los modelos proporcionados por AlphaFold Server, se elige el más óptimo, en relación a la estructura tridimensional, el mismo se procede a someterlo a un programa especializado en la generación de modelos 3D de estructuras proteínicas. El software PyMOL; este convierte el archivo CIF antes mencionado en un archivo de tipo PDB.

Imagen 171

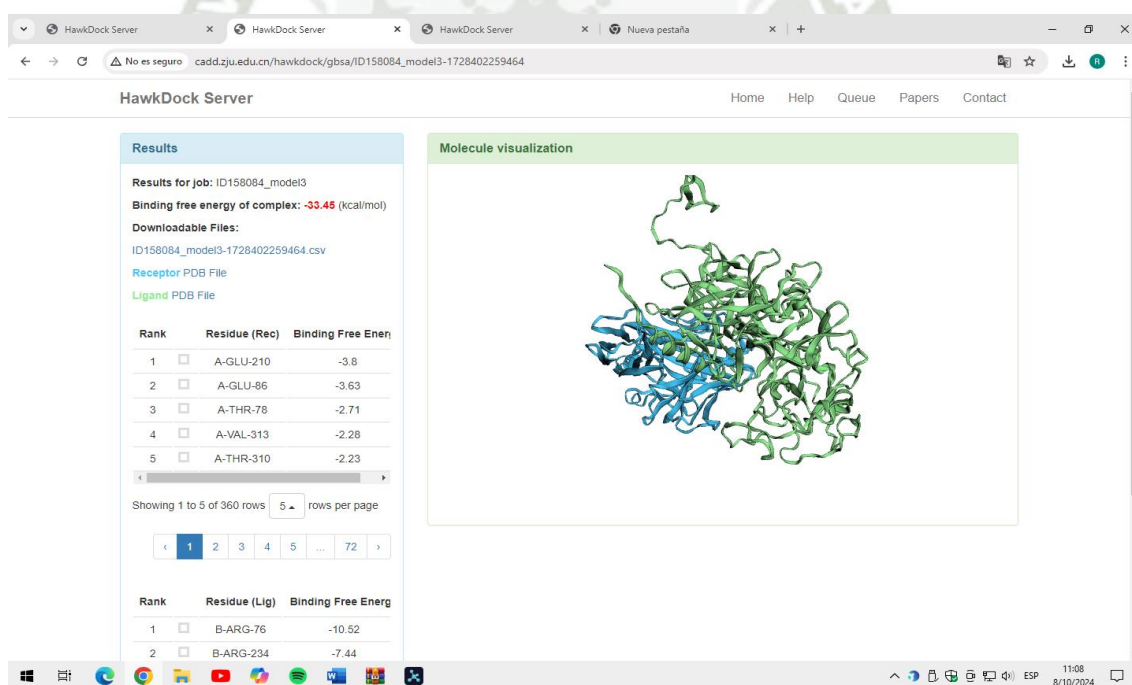
Modelado 3d de YQGQNPTFDFTNK



Habiendo obtenido el modelo 3D del epitopo, se procede a realizar el Doking, es decir a acoplar dicho epitopo a la molécula de MHC1 o MHC2, en el presente trabajo, el acople se realiza a la molécula MHC2, dado que la presentación de antígenos por vía de acople a MHC2 permitirá que sean los linfocitos TCD4 quienes actúen contra el antígeno extracelular con el objetivo de poder neutralizarlo.

La mencionada operación se realizó en HawkDock Server, este software, permite determinar la afinidad en la unión de las estructuras antes mencionadas, es preciso señalar que en base a los principios de la termodinámica, cuando la unión entre dos elementos es positivo implica un gasto de energía para poder concretar la unión, por el contrario, si el valor es negativo, esto significa que la unión no requiere de energía y esta falta de requerimiento energético es mayor mientras más se aleje de la unidad 0, ya que el último valor mencionado implica un estado de equilibrio en el sistema.

Imagen 172
Doking con MHC II de YQGQNPTDFFTNK



t. >PDP70203.1 nucleotidyltransferase family protein [Tannerella forsythia]

Prosiguiendo con el estudio de los epítomos, previamente se debe de entender la naturaleza del término, un epítomo es parte de un antígeno, entendiéndose por esta toda estructura ajena al organismo que tiene la posibilidad de desencadenar una respuesta inmune, este es diferente a un inmunógeno (que es lo que se obtuvo en el presente trabajo), un agente

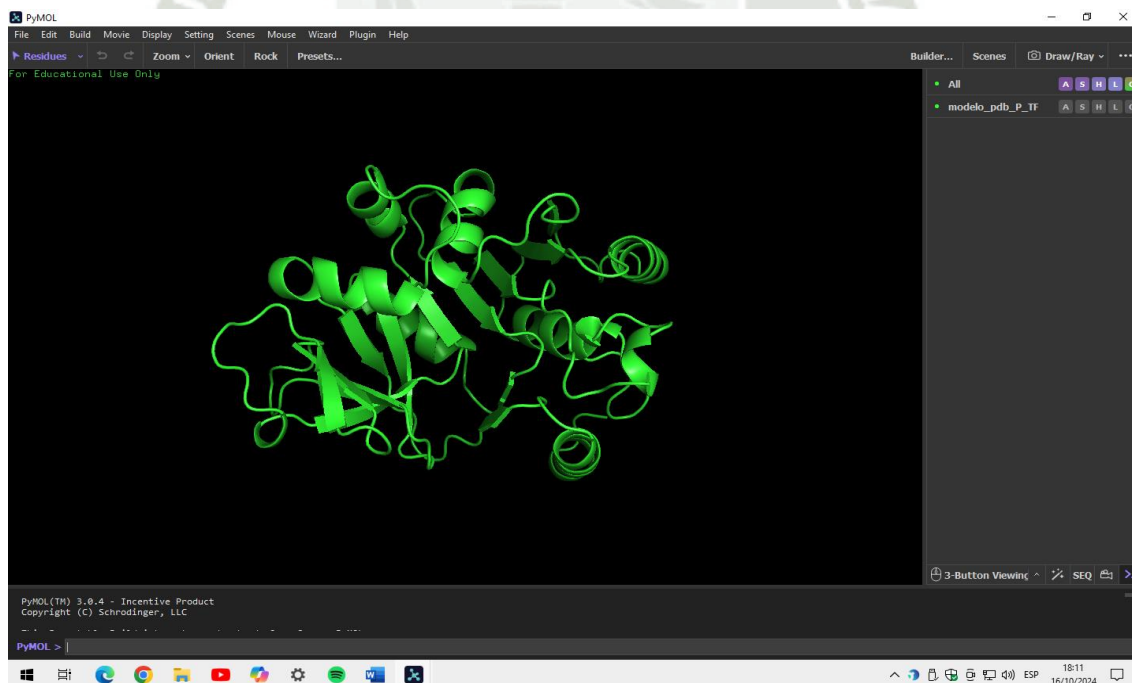
ajeno al organismo que siempre va a generar una respuesta inmune, al unirse con la región variable de un anticuerpo formando el paratopo.

El procedimiento implica obtener, en primer lugar, las estructuras proteínicas de los factores de virulencia del periodonto patógenos, los cuales se pudieron conseguir con una ardua y prolongada revisión bibliográfica en plataformas de investigación científica.

>PDP70203.1 nucleotidyltransferase family protein [Tannerella forsythia]

MKAMIFAAGLGSRLKPLTDETPKALLPVGGKPMLEHIILKLKAAGFTHLVINIHH
LGEQIIIEFLTskshfGLHIDISDERNYLMDTGGGIKQAQSFLKGDEPFLVHNVDIF
SNIDLEALYRHHLTSDALATLVVSHRQTARRLLFGQKKDHRLYGWRNRNTGEV
RSHYPQFDPSKYLEYAFGGIHVISPKIFDLMEEWTKGFSIINFYLSVCAKAPICPY
VQDGLRLIDIGKPEALAEADTWLRDNGLL
GGIHVISPKI

Imagen 173
Modelado 3D de nucleotidyltransferase family protein

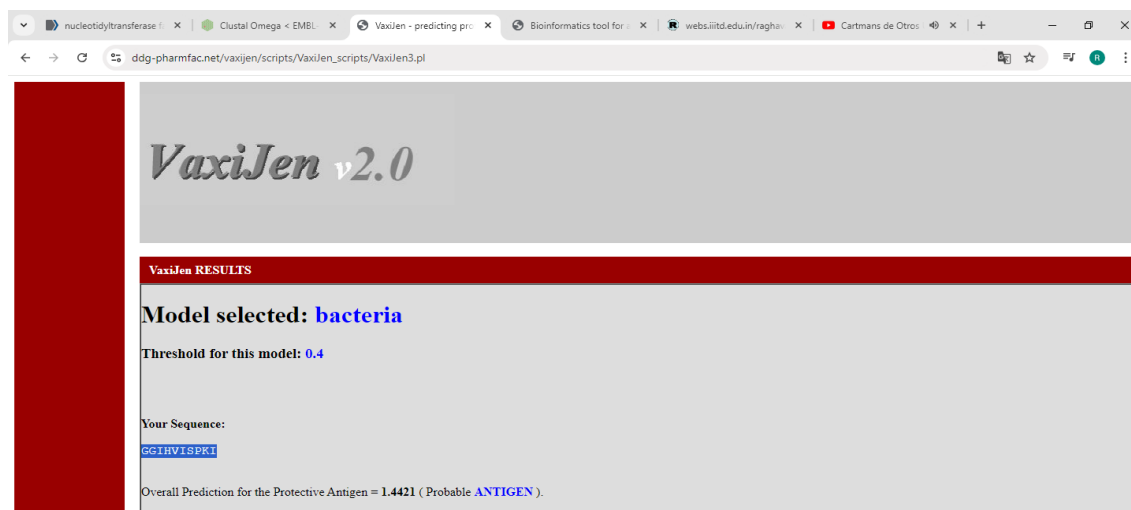


Posteriormente se procede a realizar el alineamiento de proteínas y encontrar estructuras comunes, de esta manera se logra obtener la secuencia de aminoácidos que constituyen el epítipo del factor de virulencia del periodontopatógenos.

Seguidamente, se procedió a llevar a cabo el testeo de dicho epítipo, en primer lugar,

determinar si el mismo, realmente es un epítopo, y para ello se utilizó el servidor VAXIJEN, que por medio de un algoritmo contratado con los datos obtenidos arroja un resultado en el sentido de que si la secuencia de aminoácidos es o no es un antígeno.

Imagen 174
Prueba de antigenicidad de GGIHVISPKE

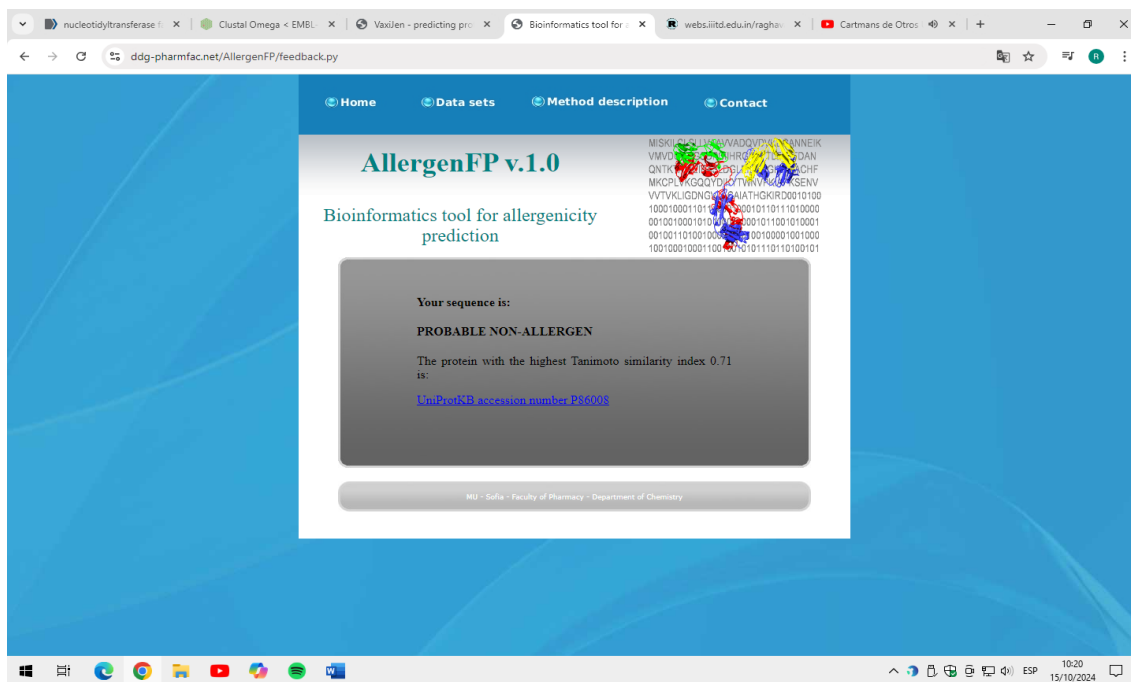


Cabe resaltar que, dichos antígenos, tienen como finalidad formar el complejo antígeno – anticuerpo, para lo cual tienen que unirse a este último, y para cumplir su función biológica deben tener afinidad por el complejo mayor de histocompatibilidad de tipo I (MHCI) o de tipo II (MHCII). En el primer caso, la unión a membrana del linfocito generara citotoxicidad, es decir, que la célula atacara y eliminara a aquellas que hayan sido infectadas o de alguna manera se hayan visto afectadas por un antígeno intracelular, por otro lado, en el segundo caso se producirá la unión a linfocitos Helper, lo que implica que la célula responderá frente a antígenos extracelulares.

El siguiente paso es llevar a cabo el testeo del posible epítopo, puesto que este debe cumplir con la particularidad de no tener potencial para generar reacciones alérgicas ni tampoco debe poder ser capaz de generar efectos tóxicos, dicho testeo se llevó a cabo en el servidor AllergenFP y ToxinPred respectivamente.

Imagen 175

Prueba de alergenicidad de GGIHVSPKI



The screenshot shows the AllergenFP v.1.0 web application. The interface includes a navigation bar with links to Home, Data sets, Method description, and Contact. The main content area displays the title "AllergenFP v.1.0" and the subtitle "Bioinformatics tool for allergenicity prediction". A 3D molecular model of the protein structure is shown on the right. The results section indicates that the sequence is "PROBABLE NON-ALLERGEN". It also provides the protein with the highest Tanimoto similarity index (0.71) and its UniProtKB accession number (P86008).

AllergenFP v.1.0
Bioinformatics tool for allergenicity prediction

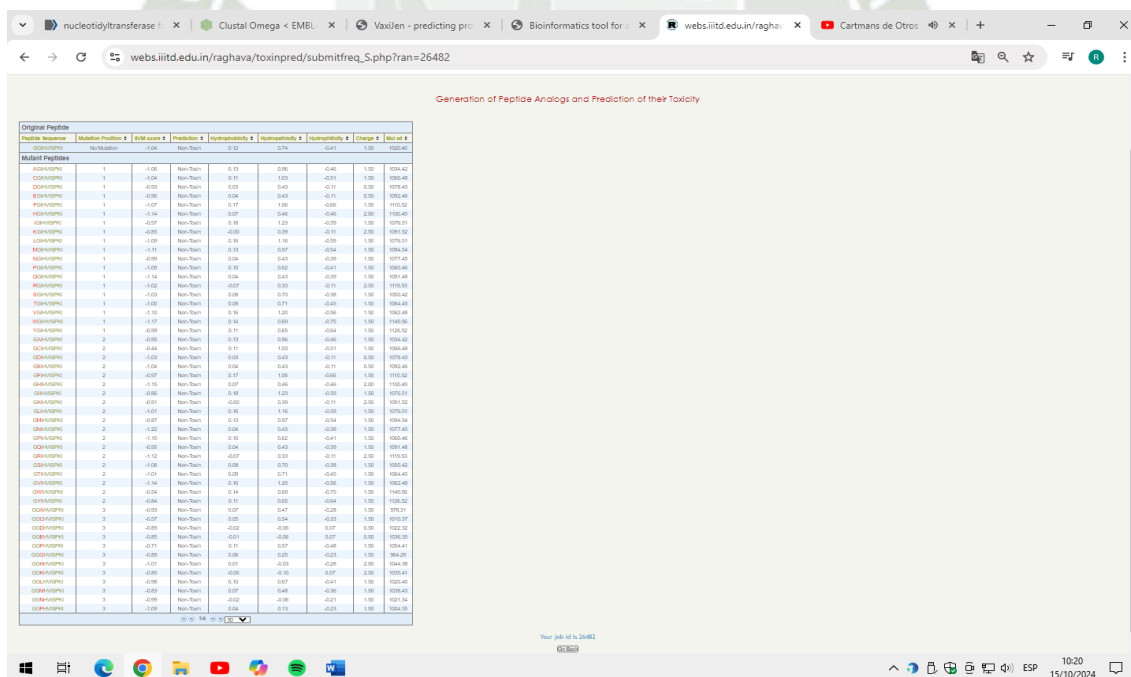
Your sequence is:
PROBABLE NON-ALLERGEN

The protein with the highest Tanimoto similarity index 0.71 is:
[UniProtKB accession number P86008](#)

MJ - Soria - Faculty of Pharmacy - Department of Chemistry

Imagen 176

Prueba de toxicidad de GGIHVSPKI

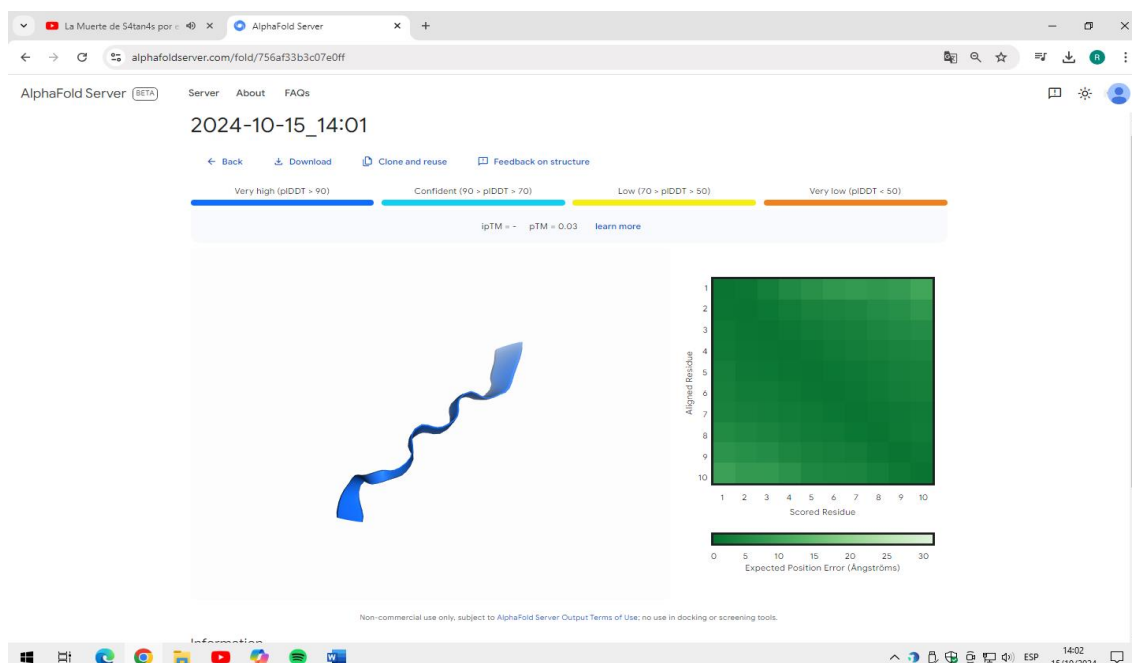


The screenshot shows the web application interface for toxicity prediction. The title is "Generation of Peptide Analogs and Prediction of their Toxicity". The interface displays a table with columns for Peptide Sequence, Mutation Position, ERM score, Prediction, Hydrophobicity, Hydrophilicity, Charge, and Ref id. The table lists various peptide sequences and their corresponding toxicity predictions.

Peptide Sequence	Mutation Position	ERM score	Prediction	Hydrophobicity	Hydrophilicity	Charge	Ref id
GGIHVSPKI	1	-1.05	Non-Toxic	0.13	0.36	-0.46	1.30
GGIHVSPKI	1	-1.04	Non-Toxic	0.11	0.33	-0.51	1.30
GGIHVSPKI	1	-0.93	Non-Toxic	0.20	0.42	-0.11	0.30
GGIHVSPKI	1	-0.90	Non-Toxic	0.24	0.43	-0.11	0.30
GGIHVSPKI	1	-0.87	Non-Toxic	0.17	0.36	-0.56	1.30
GGIHVSPKI	1	-1.14	Non-Toxic	0.07	0.40	-0.40	2.30
GGIHVSPKI	1	-0.87	Non-Toxic	0.10	0.22	-0.59	1.30
GGIHVSPKI	1	-0.85	Non-Toxic	0.20	0.39	-0.11	2.30
GGIHVSPKI	1	-1.09	Non-Toxic	0.16	0.36	-0.59	1.30
GGIHVSPKI	1	-1.11	Non-Toxic	0.13	0.37	-0.54	1.30
GGIHVSPKI	1	-0.89	Non-Toxic	0.24	0.43	-0.39	1.30
GGIHVSPKI	1	-1.09	Non-Toxic	0.10	0.32	-0.41	1.30
GGIHVSPKI	1	-1.14	Non-Toxic	0.04	0.43	-0.39	1.30
GGIHVSPKI	1	-1.02	Non-Toxic	0.07	0.30	-0.11	2.30
GGIHVSPKI	1	-1.03	Non-Toxic	0.08	0.30	-0.39	1.30
GGIHVSPKI	1	-1.00	Non-Toxic	0.09	0.31	-0.40	1.30
GGIHVSPKI	1	-1.10	Non-Toxic	0.16	0.20	-0.56	1.30
GGIHVSPKI	1	-1.17	Non-Toxic	0.14	0.40	-0.70	1.30
GGIHVSPKI	1	-0.89	Non-Toxic	0.11	0.33	-0.54	1.30
GGIHVSPKI	2	-0.85	Non-Toxic	0.13	0.36	-0.46	1.30
GGIHVSPKI	2	-0.84	Non-Toxic	0.11	0.33	-0.51	1.30
GGIHVSPKI	2	-1.03	Non-Toxic	0.09	0.43	-0.11	0.30
GGIHVSPKI	2	-1.04	Non-Toxic	0.04	0.43	-0.11	0.30
GGIHVSPKI	2	-1.10	Non-Toxic	0.04	0.43	-0.11	0.30
GGIHVSPKI	2	-0.87	Non-Toxic	0.17	0.36	-0.56	1.30
GGIHVSPKI	2	-1.10	Non-Toxic	0.07	0.40	-0.40	2.30
GGIHVSPKI	2	-0.86	Non-Toxic	0.18	0.20	-0.59	1.30
GGIHVSPKI	2	-0.91	Non-Toxic	0.02	0.30	-0.11	2.30
GGIHVSPKI	2	-1.01	Non-Toxic	0.16	0.16	-0.59	1.30
GGIHVSPKI	2	-0.87	Non-Toxic	0.13	0.37	-0.54	1.30
GGIHVSPKI	2	-1.02	Non-Toxic	0.04	0.43	-0.39	1.30
GGIHVSPKI	2	-1.10	Non-Toxic	0.10	0.32	-0.41	1.30
GGIHVSPKI	2	-0.90	Non-Toxic	0.04	0.43	-0.39	1.30
GGIHVSPKI	2	-1.12	Non-Toxic	0.07	0.30	-0.11	2.30
GGIHVSPKI	2	-1.00	Non-Toxic	0.08	0.31	-0.40	1.30
GGIHVSPKI	2	-1.01	Non-Toxic	0.09	0.31	-0.40	1.30
GGIHVSPKI	2	-1.14	Non-Toxic	0.10	0.20	-0.56	1.30
GGIHVSPKI	2	-0.84	Non-Toxic	0.14	0.30	-0.70	1.30
GGIHVSPKI	2	-0.84	Non-Toxic	0.11	0.33	-0.54	1.30
GGIHVSPKI	3	-0.93	Non-Toxic	0.07	0.47	-0.29	1.30
GGIHVSPKI	3	-0.87	Non-Toxic	0.08	0.44	-0.33	1.30
GGIHVSPKI	3	-0.89	Non-Toxic	0.02	0.30	-0.57	0.30
GGIHVSPKI	3	-0.85	Non-Toxic	0.01	0.36	-0.57	0.30
GGIHVSPKI	3	-0.71	Non-Toxic	0.11	0.37	-0.46	1.30
GGIHVSPKI	3	-0.80	Non-Toxic	0.08	0.20	-0.57	1.30
GGIHVSPKI	3	-1.01	Non-Toxic	0.03	0.30	-0.29	2.30
GGIHVSPKI	3	-0.80	Non-Toxic	0.08	0.30	-0.57	1.30
GGIHVSPKI	3	-0.80	Non-Toxic	0.08	0.30	-0.57	1.30
GGIHVSPKI	3	-0.89	Non-Toxic	0.10	0.37	-0.41	1.30
GGIHVSPKI	3	-0.80	Non-Toxic	0.07	0.40	-0.39	1.30
GGIHVSPKI	3	-0.89	Non-Toxic	0.02	0.30	-0.21	1.30
GGIHVSPKI	3	-1.09	Non-Toxic	0.07	0.10	-0.57	1.30

Una vez completado el testeo y abiendo optenido un epitopo optimo, se procede a realizar el plegado de la estructura para lo cual se utilizo el algoritmo de AlphaFold Server, como resultado se obtiene modelos 3d de la estructura en cuestion en formato CIF.

Imagen 177
Plegado de GGIHVISPKI



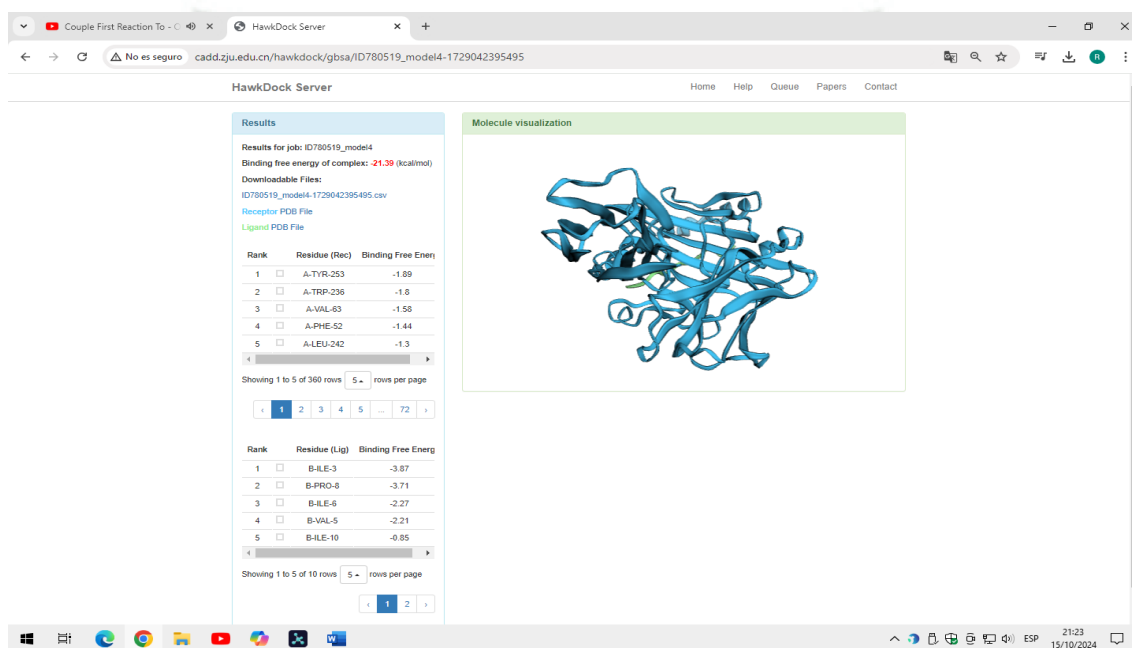
De los modelos proporcionados por AlphaFold Server, se elige el más óptimo, en relación a la estructura tridimensional, el mismo se procede a someterlo a un programa especializado en la generación de modelos 3D de estructuras proteínicas. El software PyMOL; este convierte el archivo CIF antes mencionado en un archivo de tipo PDB.

Imagen 178
Modelado 3D de GGIHVISPKI



Habiendo obtenido el modelo 3D del epítipo, se procede a realizar el Doking, es decir a acoplar dicho epítipo a la molécula de MHC1 o MHC2, en el presente trabajo, el acople se realiza a la molécula MHC2, dado que la presentación de antígenos por vía de acople a MHC2 permitirá que sean los linfocitos TCD4 quienes actúen contra el antígeno extracelular con el objetivo de poder neutralizarlo.

Imagen 179
Doking con MHC II de GGIHVISPKI



u. >WP _162663253.1 MULTISPECIES: flagellar hook-basal body complex protein FlhE [Treponema]

Prosiguiendo con el estudio de los epítipos, previamente se debe de entender la naturaleza del término, un epítipo es parte de un antígeno, entendiéndose por esta toda estructura ajena al organismo que tiene la posibilidad de desencadenar una respuesta inmune, este es diferente a un inmunógeno (que es lo que se obtuvo en el presente trabajo), un agente ajeno al organismo que siempre va a generar una respuesta inmune, al unirse con la región variable de un anticuerpo formando el paratopo.

El procedimiento implica obtener, en primer lugar, las estructuras proteínicas de los factores de virulencia del periodonto patógenos, los cuales se pudieron conseguir con una ardua y prolongada revisión bibliográfica en plataformas de investigación científica.

Posteriormente se procede a realizar el alineamiento de proteínas y encontrar estructuras

comunes, de esta manera se logra obtener la secuencia de aminoácidos que constituyen el epítipo del factor de virulencia del periodontopatógenos.

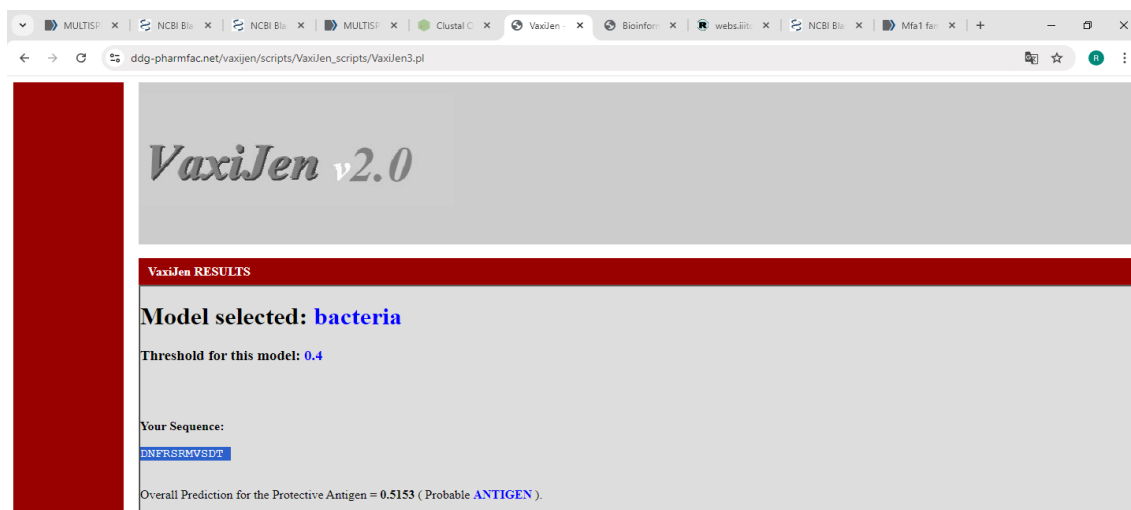
Imagen 180 Búsqueda de estructura multispecies

Imagen 181 Determinación de proteínas en común para BLAST

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
Flagellar hook-basal body complex protein FliC [Treponema]	Treponema	243	243	100%	5e-05	100.00%	120	WP_162663253.1
Treponema vincentii	Treponema vincentii	239	239	100%	1e-83	96.67%	120	WP_006189382.1
Treponema vincentii	Treponema vincentii	238	238	100%	5e-83	95.83%	120	WP_253806816.1
Treponema vincentii	Treponema vincentii	237	237	100%	6e-83	95.83%	120	WP_253819087.1
Treponema vincentii	Treponema vincentii	237	237	100%	9e-83	95.83%	120	WP_212566429.1
Treponema lecithinolyticum	Treponema lecithinolyticum	73.2	73.2	61%	6e-18	45.95%	116	WP_021687705.1
Treponema lecithinolyticum	Treponema lecithinolyticum	72.8	72.8	61%	8e-18	45.95%	116	WP_314948931.1

Seguidamente, se procedió a llevar a cabo el testeo de dicho epítopo, en primer lugar, determinar si el mismo, realmente es un epítopo, y para ello se utilizó el servidor VAXIJEN, que por medio de un algoritmo contratado con los datos obtenidos arroja un resultado en el sentido de que si la secuencia de aminoácidos es o no es un antígeno.

Imagen 182
Prueba de antigenicidad de DNFRSRMVSDT



Cabe resaltar que, dichos antígenos, tienen como finalidad formar el complejo antígeno – anticuerpo, para lo cual tienen que unirse a este último, y para cumplir su función biológica deben tener afinidad por el complejo mayor de histocompatibilidad de tipo I (MHCI) o de tipo II (MHCII). En el primer caso, la unión a membrana del linfocito generara citotoxicidad, es decir, que la célula atacara y eliminara a aquellas que hayan sido infectadas o de alguna manera se hayan visto afectadas por un antígeno intracelular, por otro lado, en el segundo caso se producirá la unión a linfocitos Helper, lo que implica que la célula responderá frente a antígenos extracelulares.

El siguiente paso es llevar a cabo el testeo del posible epítopo, puesto que este debe cumplir con la particularidad de no tener potencial para generar reacciones alérgica ni tampoco debe poder ser capaz de generar efectos tóxicos, dicho testeo se llevó a cabo en el servidor AllergenFP y ToxinPred respectivamente.

DSD



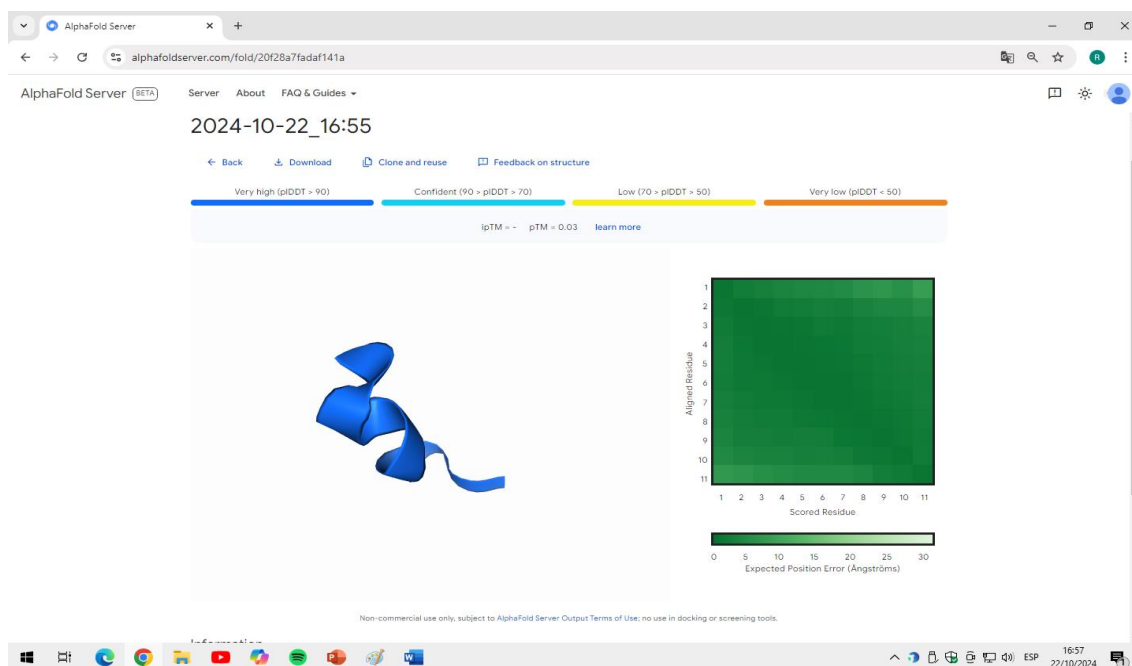
Imagen 184

Generation of Peptide Analogs and Prediction of their Toxicity

170

Imagen 185

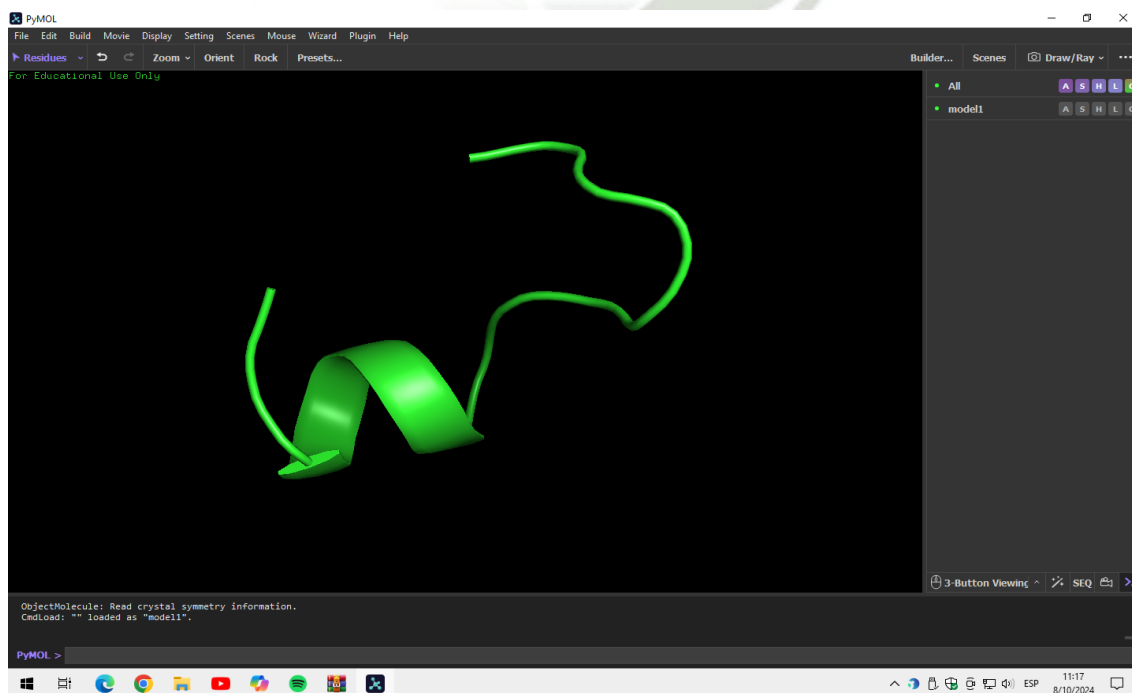
Plegado de DNFRSRMVSDT



De los modelos proporcionados por AlphaFold Server, se elige el más óptimo, en relación a la estructura tridimensional, el mismo se procede a someterlo a un programa especializado en la generación de modelos 3D de estructuras proteínicas. El software PyMOL; este convierte el archivo CIF antes mencionado en un archivo de tipo PDB.

Imagen 186

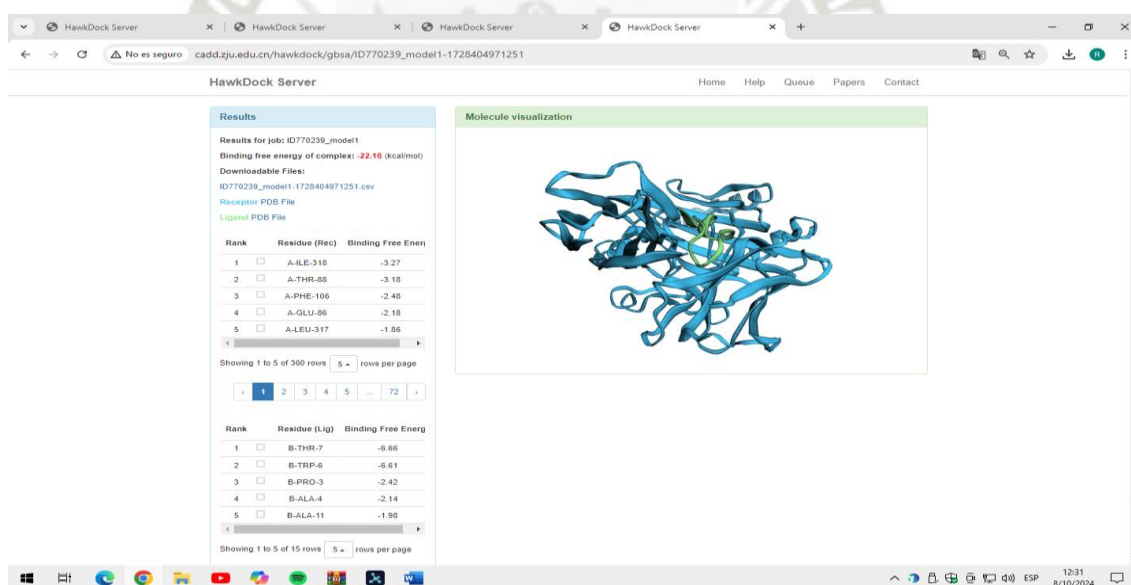
Modelado 3D de DNFRSRMVSDT



Habiendo obtenido el modelo 3D del epítipo, se procede a realizar el Doking, es decir a acoplar dicho epítipo a la molécula de MHC1 o MHC2, en el presente trabajo, el acople se realiza a la molécula MHC2, dado que la presentación de antígenos por vía de acople a MHC2 permitirá que sean los linfocitos TCD4 quienes actúen contra el antígeno extracelular con el objetivo de poder neutralizarlo.

La mencionada operación se realizó en HawkDock Server, este software, permite determinar la afinidad en la unión de las estructuras antes mencionadas, es preciso señalar que en base a los principios de la termodinámica, cuando la unión entre dos elementos es positivo implica un gasto de energía para poder concretar la unión, por el contrario, si el valor es negativo, esto significa que la unión no requiere de energía y esta falta de requerimiento energético es mayor mientras más se aleje de la unidad 0, ya que el último valor mencionado implica un estado de equilibrio en el sistema.

Imagen 187
Doking con MHC II de DNFRSRMVSDT



v. >AAK12645.1 FlhB [Treponema denticola]

Prosiguiendo con el estudio de los epítipos, previamente se debe de entender la naturaleza del término, un epítipo es parte de un antígeno, entendiéndose por esta toda estructura ajena al organismo que tiene la posibilidad de desencadenar una respuesta inmune, este es diferente a un inmunógeno (que es lo que se obtuvo en el presente trabajo), un agente ajeno al organismo que siempre va a generar una respuesta inmune, al unirse con la región variable de un anticuerpo formando el paratopo.

El procedimiento implica obtener, en primer lugar, las estructuras proteínicas de los factores de virulencia del periodonto patógenos, los cuales se pudieron conseguir con una ardua y prolongada revisión bibliográfica en plataformas de investigación científica.

>AAK12645.1 FlhB [*Treponema denticola*]

MISGKSPLLYRKYFSQEDLLLNTIGLQWFAAEDEGRTEDPTEYKIRKAREEGRV
AKSQDLNAAMVVLLPVISLIIMGPYIFKSLMQVIAFFFERCTTEDVVNGTWFRIF
VLYFFKTVFPITGVALISGVLGNIIQNRGFLFSTKPIQPDKRVTPNFARFFKRALF
SAEGLFNLA KSLFKVVIIGFIGYLVIKNNITKMIAL LQSDFPNSIIFIAKTAAQILVY
AAVALVLLSIPDYFFQKRQFSESLKMSKTEVTDEYKELEGDPMVKAQINRQMQA
ILQKTGIKNVPDADVITNPTHYAVALQWKQGIMPAPMVISKGVDATAQNIKRIA
RENNIPTIENVPLARALYANVDLGQIIPSEYYQSLSIIFLKIYSMKEKEMLRKRWR
LQWFAAEDEGRTE

>WP_385903018.1 flagellar biosynthesis protein FlhB [*Treponema vincentii*]

MRKFVTEAASGYNERNFFIDLQWFAAEDEGRTEDPDYEYKIRKAREEGRVAKSQ
DINAALVLLFPAGALIFLSSFFLEECMEILRFFFLRSTQSDINSIGWFGIFVQYFLKL
ALPLALIAMLAGVIANILQNNGFLFSTKPIQPQFNKIVPNFMRFKRALFSAEGLF
NFAKSLTKVVVLVFSFLMIRANLSHFIELLSVSFPQAVFFIAGLGAKLLATAALL
LLILAIPDYFFQQRKQFIDSLKMTKQEIKEEYKELEGDPQVKGRIRQQMQAILSQN
AIRNVPKADVITNPTHFAIAMQWDSKTMAAPMVLA KGADAMAQRIKAIARE
HNIPLIENKPLARALYAKVQIGDIIPEEYYRALS LVFAEVYTLNNKKQEFYRR
LQWFAAEDEGRTE

>WP_016523511.1 flagellar biosynthesis protein FlhB [*Treponema medium*]

MRQLAIETSSEYNERHFFIDLQWFAAEDEGRTEDPDYEYKIRKAREEGRVAKSQDI
NAALVLLFPAGALIFLSSFFLEECMEILRFFFLRSTQADIRSGIWFGIFVQYFLKLA
LPLALIAMLAGVIANIIQNNGFLFSTKPIQPQFNKIVPDFIRFFKRALFSTEGLFNF
AKSLTKVVVLVFAFLVIRANLPHFIELLTVSFPQAIFFIAGLAAKLLATAALLLI
LAIPDYFFQQRKQFIDSLKMTKQEIKEEYKELEGDPLVKGRIRQQMQAILSQNAIR
NVPKADVITNPTHFAIAMQWDSKTMAAPMVLA KGADAMAQRIKAIAREHNI
PLIENKPLARALYAKVQIGDIIPEEYYRALS LVFAEVYTLNNKKQEFYRR
LQWFAAEDEGRTE

>WP_306699017.1 flagellar biosynthesis protein FlhB [*Treponema lecithinolyticum*]

MSVPINGYEPMNAYTLVNGYTDEHLIYFDLQWFAAEDEGRTEQPSEYKLRKAR
EEGRVAKSQELNGALVMLLPVLT LIVLSPWLFKKSIEIRFYFERCTQAQLNGML

VRSFFHYFIAMVSPVCIAALIAGISANLIQNKGFMFSLKPIEPKFSKVLPHFGEYF
RKTLSFEGAFNVFKSLLKVIVVFICAYITIKNDLPKLLSLLNVNLWNGIVHIAVM
SAKLLVIASFIFLIISIPDYLQRRQFIESMKMTKQEVKEEFKTLEGDPLVKSRLRQ
IMRELMRGNIRENVAKADVITNPTHFVAVLYDKEVMQGPVMCAKGGDALA
QRIKEIARENDVTLIENRPLARALYAEVEIGDIIPETYYTVLATILGKVYAMKGKK
I
LQWFAAEDEGRTE

Imagen 188
Modelado 3D de FlhB (*Treponema denticola*)

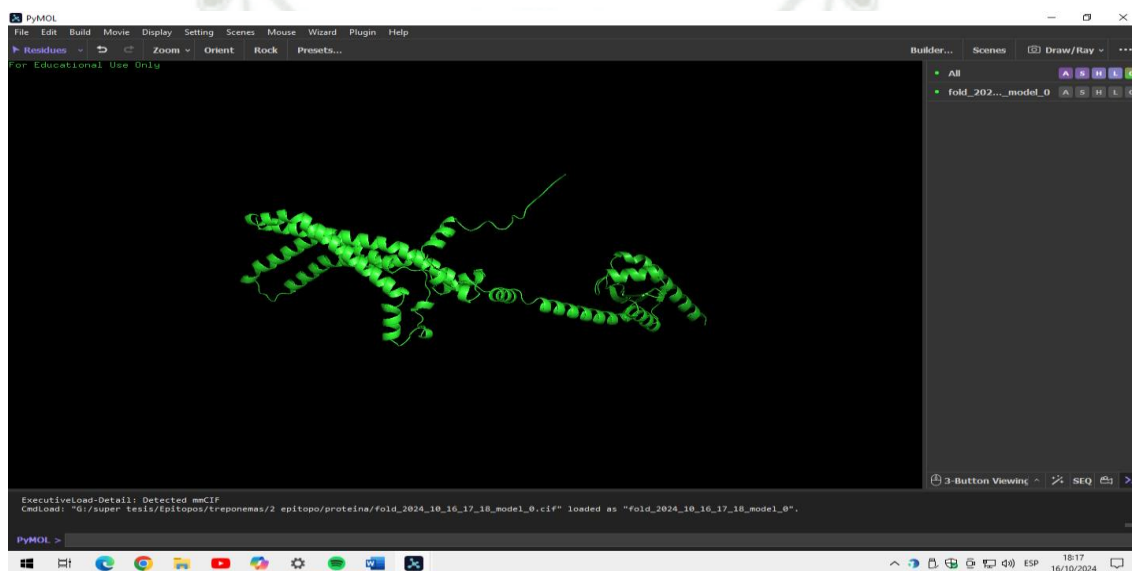


Imagen 189
Modelado 3D de flagellar biosynthesis protein FlhB (*Treponema vincentii*)

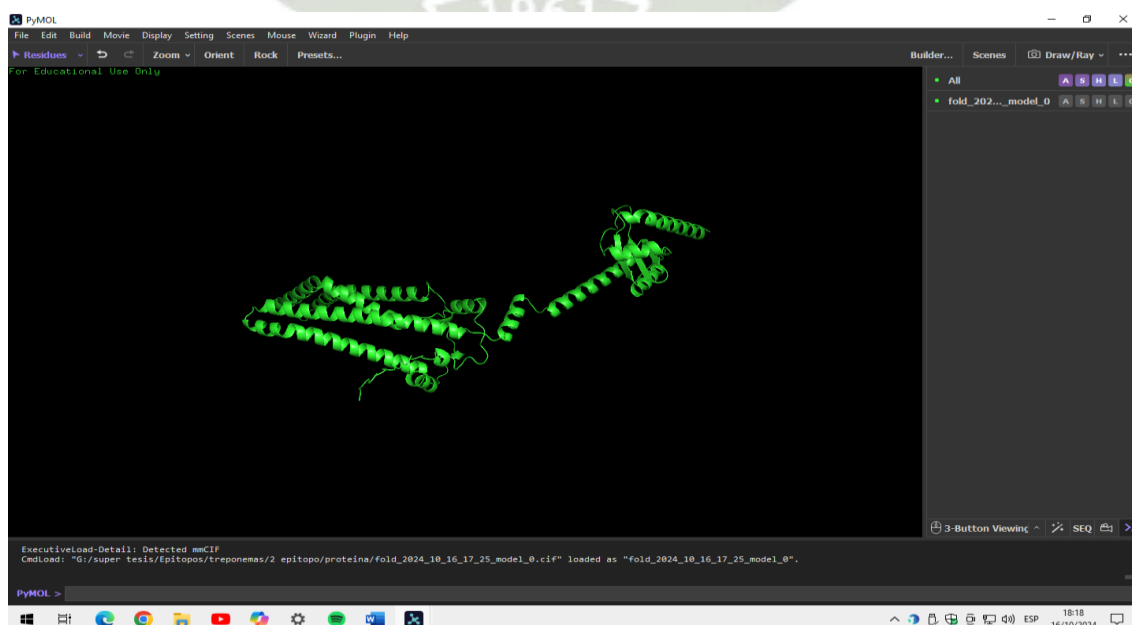


Imagen 190
Modelado 3D de flagellar biosynthesis protein FlhB (*Treponema medium*)

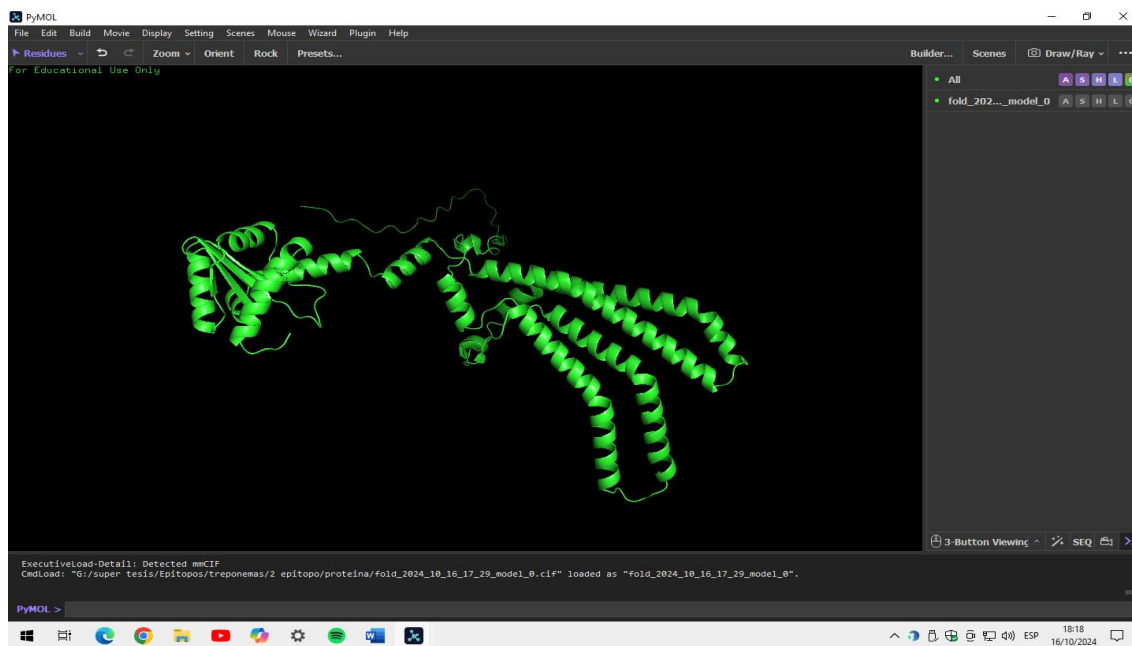


Imagen 191
Modelado 3D de flagellar biosynthesis protein FlhB (*Treponema lecithinolyticum*)

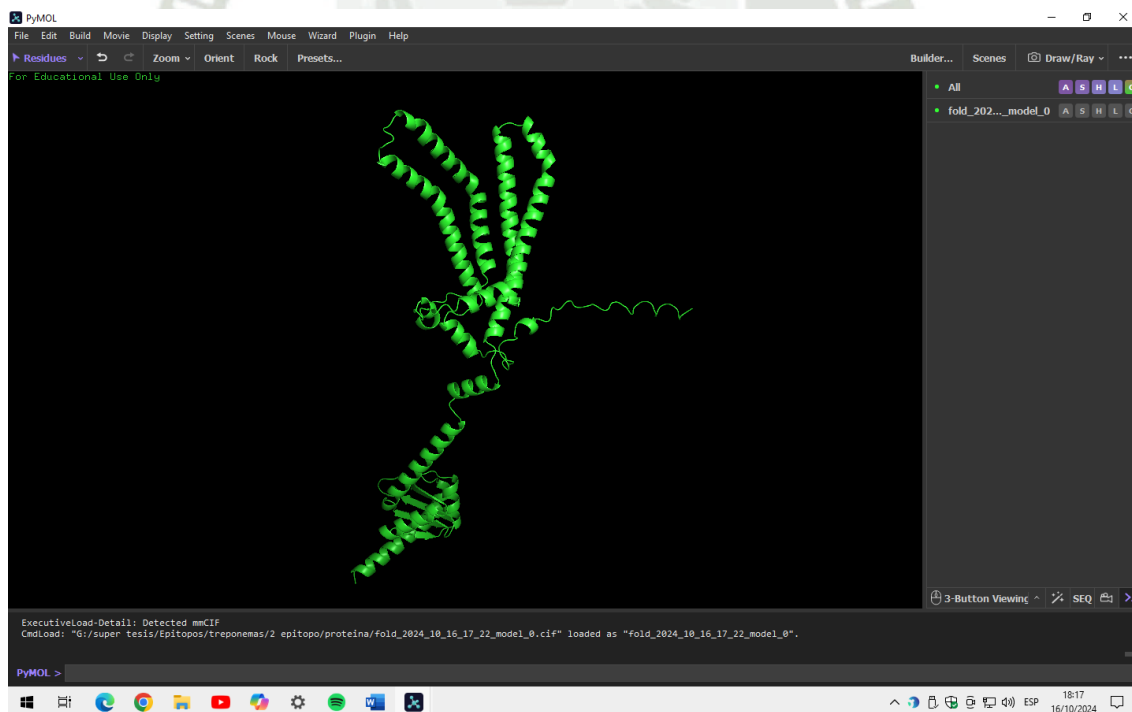
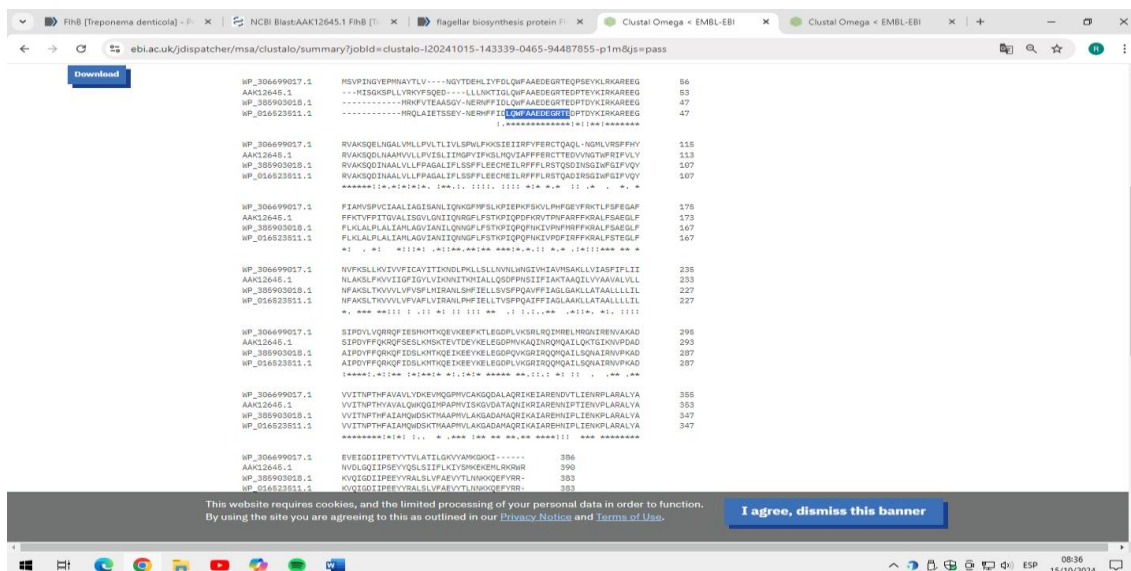


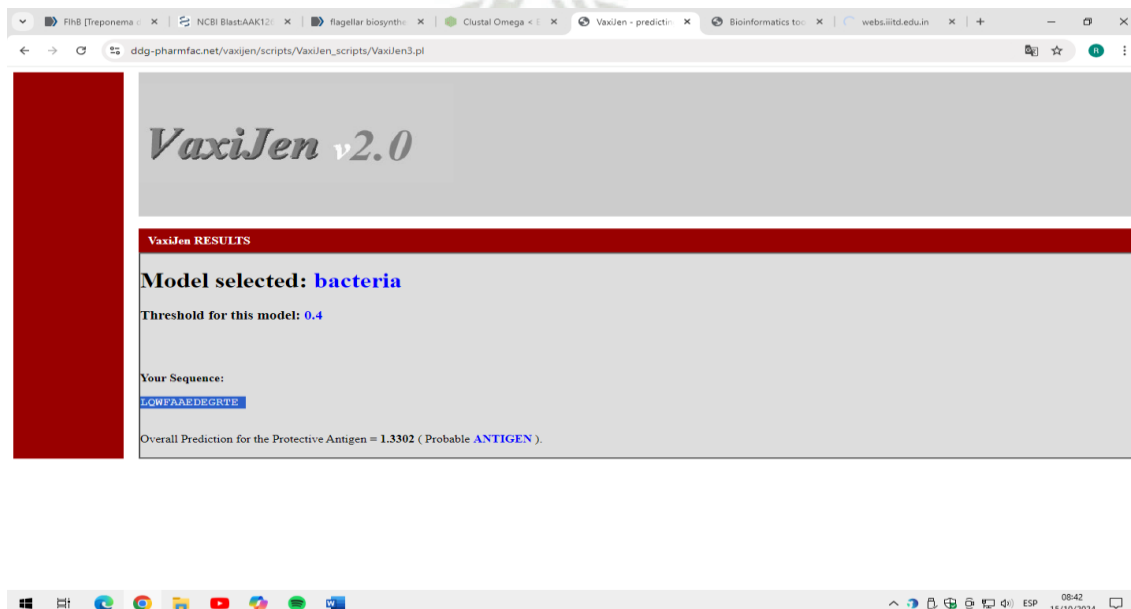
Imagen 192 BLAST de FlhB



Posteriormente se procede a realizar el alineamiento de proteínas y encontrar estructuras comunes, de esta manera se logra obtener la secuencia de aminoácidos que constituyen el epítipo del factor de virulencia del periodontopatógenos.

Seguidamente, se procedió a llevar a cabo el testeo de dicho epítipo, en primer lugar, determinar si el mismo, realmente es un epítipo, y para ello se utilizó el servidor VAXIJEN, que por medio de un algoritmo contratado con los datos obtenidos arroja un resultado en el sentido de que si la secuencia de aminoácidos es o no es un antígeno.

Imagen 193 Prueba de antigenicidad de LQWFAAEDEGRTE



Cabe resaltar que, dichos antígenos, tienen como finalidad formar el complejo antígeno – anticuerpo, para lo cual tienen que unirse a este último, y para cumplir su función biológica deben tener afinidad por el complejo mayor de histocompatibilidad de tipo I (MHCI) o de tipo II (MHCII). En el primer caso, la unión a membrana del linfocito generara citotoxicidad, es decir, que la célula atacara y eliminara a aquellas que hayan sido infectadas o de alguna manera se hayan visto afectadas por un antígeno intracelular, por otro lado, en el segundo caso se producirá la unión a linfocitos Helper, lo que implica que la célula responderá frente a antígenos extracelulares.

El siguiente paso es llevar a cabo el testeo del posible epítipo, puesto que este debe cumplir con la particularidad de no tener potencial para generar reacciones alérgicas ni tampoco debe poder ser capaz de generar efectos tóxicos, dicho testeo se llevó a cabo en el servidor AllergenFP y ToxinPred respectivamente.

Imagen 194
Prueba de alergeniciad de LQWFAAEDEGRTE

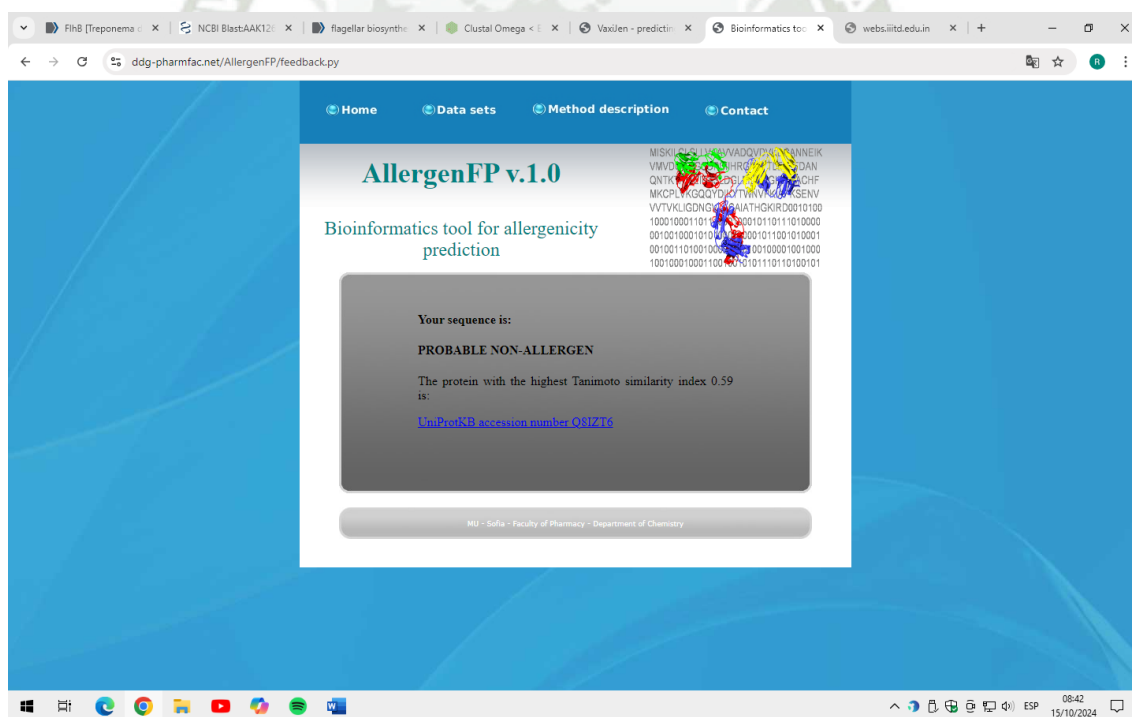
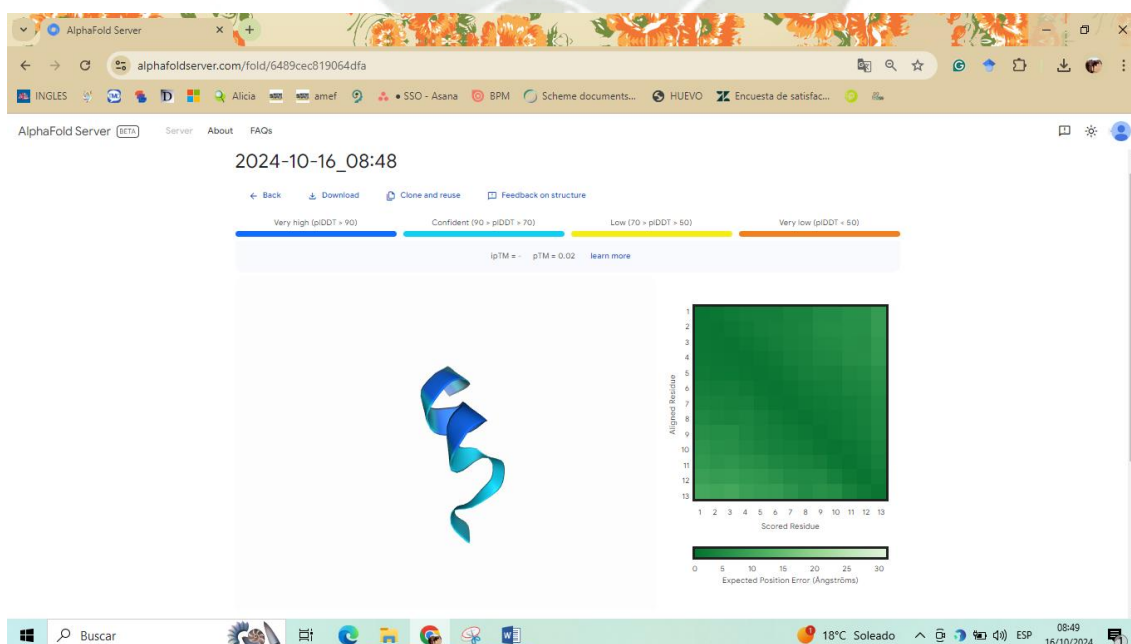


Imagen 195 Prueba de toxicidad de LQWFAAEDEGRTE

Peptide Sequence	Mutation Position	SVM score	Prediction	Hydrophobicity	Hydrophilicity	Hydrophobicity	Charge	Mol wt
LQWFAAEDEGRTE	No Mutation	-0.59	Non-Toxin	-0.23	-1.05	0.47	-3.00	1551.81
ADWFAAEDEGRTE	1	-0.63	Non-Toxin	-0.28	-1.22	0.57	-3.00	1509.72
QDWFAAEDEGRTE	1	-0.39	Non-Toxin	-0.27	-1.16	0.53	-3.00	1541.78
QDWFAAEDEGRTE	1	-0.60	Non-Toxin	-0.33	-1.62	0.84	-4.00	1553.73
EQWFAAEDEGRTE	1	-0.81	Non-Toxin	-0.32	-1.62	0.84	-4.00	1557.75
QWFAAEDEGRTE	1	-0.81	Non-Toxin	-0.23	-1.14	0.42	-3.00	1585.62
QWFAAEDEGRTE	1	-0.67	Non-Toxin	-0.26	-1.38	0.61	-3.00	1495.70
QWFAAEDEGRTE	1	-0.63	Non-Toxin	-0.31	-1.80	0.97	-2.00	1575.79
QWFAAEDEGRTE	1	-0.82	Non-Toxin	-0.22	-1.01	0.47	-3.00	1551.81
QWFAAEDEGRTE	1	-0.62	Non-Toxin	-0.36	-1.85	0.84	-2.00	1588.82
QWFAAEDEGRTE	1	-0.96	Non-Toxin	-0.25	-1.21	0.51	-3.00	1569.84
QWFAAEDEGRTE	1	-0.77	Non-Toxin	-0.32	-1.62	0.62	-3.00	1552.75
QWFAAEDEGRTE	1	-0.73	Non-Toxin	-0.28	-1.48	0.61	-3.00	1535.75
QWFAAEDEGRTE	1	-0.78	Non-Toxin	-0.33	-1.62	0.62	-3.00	1566.78
QWFAAEDEGRTE	1	-0.66	Non-Toxin	-0.41	-1.70	0.84	-2.00	1594.83
QWFAAEDEGRTE	1	-0.78	Non-Toxin	-0.29	-1.42	0.63	-3.00	1525.72
QWFAAEDEGRTE	1	-0.81	Non-Toxin	-0.29	-1.41	0.55	-3.00	1539.75
QWFAAEDEGRTE	1	-0.74	Non-Toxin	-0.23	-1.03	0.49	-3.00	1537.78
QWFAAEDEGRTE	1	-0.69	Non-Toxin	-0.25	-1.42	0.35	-3.00	1624.86
QWFAAEDEGRTE	1	-0.49	Non-Toxin	-0.27	-1.45	0.43	-3.00	1601.82
QWFAAEDEGRTE	2	-0.88	Non-Toxin	-0.16	-0.65	0.42	-3.00	1484.75
QWFAAEDEGRTE	2	-0.52	Non-Toxin	-0.18	-0.60	0.38	-3.00	1526.81
QWFAAEDEGRTE	2	-0.89	Non-Toxin	-0.24	-1.05	0.66	-4.00	1538.75
QWFAAEDEGRTE	2	-0.99	Non-Toxin	-0.23	-1.05	0.66	-4.00	1552.79
QWFAAEDEGRTE	2	-0.89	Non-Toxin	-0.13	-0.66	0.26	-3.00	1570.85
QWFAAEDEGRTE	2	-0.81	Non-Toxin	-0.17	-0.82	0.45	-3.00	1460.73
QWFAAEDEGRTE	2	-0.74	Non-Toxin	-0.21	-1.04	0.42	-2.50	1560.82
QWFAAEDEGRTE	2	-0.63	Non-Toxin	-0.12	-0.45	0.32	-3.00	1536.84
QWFAAEDEGRTE	2	-0.80	Non-Toxin	-0.27	-1.09	0.68	-2.00	1551.85
QWFAAEDEGRTE	2	-0.89	Non-Toxin	-0.14	-0.50	0.32	-3.00	1536.84
QWFAAEDEGRTE	2	-0.92	Non-Toxin	-0.16	-0.65	0.35	-3.00	1554.87
QWFAAEDEGRTE	2	-0.89	Non-Toxin	-0.23	-1.05	0.47	-3.00	1537.78
QWFAAEDEGRTE	2	-0.79	Non-Toxin	-0.19	-0.45	0.45	-3.00	1520.79
QWFAAEDEGRTE	2	-1.01	Non-Toxin	-0.32	-1.14	0.89	-2.00	1579.86
QWFAAEDEGRTE	2	-0.96	Non-Toxin	-0.20	-0.85	0.48	-3.00	1510.75
QWFAAEDEGRTE	2	-0.82	Non-Toxin	-0.19	-0.85	0.42	-3.00	1524.78
QWFAAEDEGRTE	2	-1.04	Non-Toxin	-0.14	-0.47	0.34	-3.00	1522.81

Una vez completado el testeo y abiendo optenido un epitopo optimo, se procede a realizar el plegado de la estructura para lo cual se utilizo el algoritmo de AlphaFold Server, como resultado se obtiene modelos 3d de la estructura en cuestion en formato CIF.

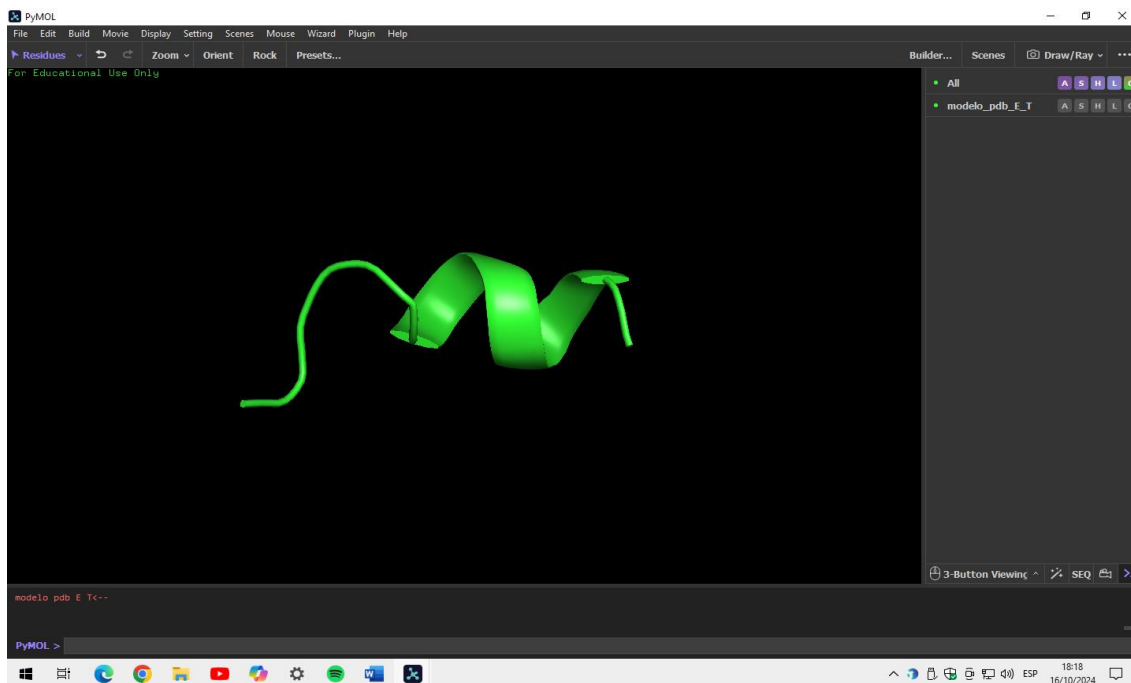
Imagen 196 Plegado de LQWFAAEDEGRTE



De los modelos proporcionados por AlphaFold Server, se elige el más óptimo, en relación

a la estructura tridimensional, el mismo se procede a someterlo a un programa especializado en la generación de modelos 3D de estructuras proteínicas. El software PyMOL; este convierte el archivo CIF antes mencionado en un archivo de tipo PDB.

Imagen 197
Modelado 3D de LQWFAAEDEGRTE

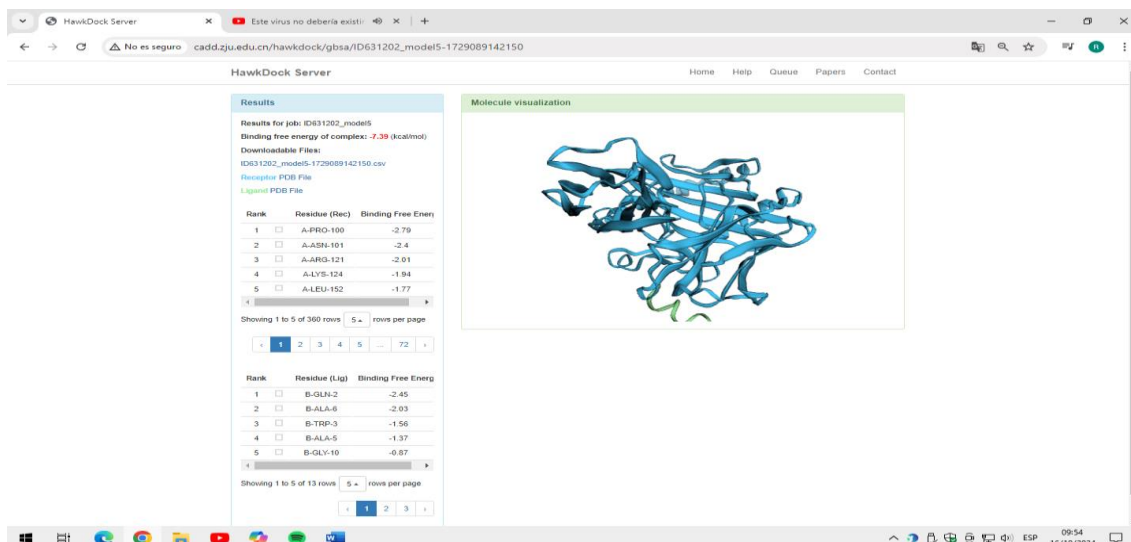


Habiendo obtenido el modelo 3D del epítipo, se procede a realizar el Doking, es decir a acoplar dicho epítipo a la molécula de MHC1 o MHC2, en el presente trabajo, el acople se realiza a la molécula MHC2, dado que la presentación de antígenos por vía de acople a MHC2 permitirá que sean los linfocitos TCD4 quienes actúen contra el antígeno extracelular con el objetivo de poder neutralizarlo.

La mencionada operación se realizó en HawkDock Server, este software, permite determinar la afinidad en la unión de las estructuras antes mencionadas, es preciso señalar que en base a los principios de la termodinámica, cuando la unión entre dos elementos es positivo implica un gasto de energía para poder concretar la unión, por el contrario, si el valor es negativo, esto significa que la unión no requiere de energía y esta falta de requerimiento energético es mayor mientras más se aleje de la unidad 0, ya que el último valor mencionado implica un estado de equilibrio en el sistema.

Imagen 198

Docking con MHC II de LQWFAAEDEGRTE



1.1.1.2 Epítopos antigénicos

Tabla 1
Determinación de epítopos antigénicos de periodontopatógenos

Periodonto patógeno	tipo	Proteína	Epítopos
Anaeroglobus geminatus	emg	LacI family DNA-binding transcriptional regulator	EKPVHLTVVPY
		family efflux transporter	LDYVTLFVFEWGLSGAA
Enterococcus faecalis	emg	response regulator FsrA	IYILEDQIIQAK
		DNA-binding protein	SQILSTPIELP
Eubacterium saphenum	emg	acetolactate synthase small subunit	LAPENMVS
		DNA polymerase III, subunit gamma and tau	ESHMDVIEIDAAS
Filifactor alocis	emg	transglycosylase SLT domain-containing protein	KEESKKATTQKVIVN
		DUF6630 family protein	LESIQKGDIDFIILTP
Fretibacterium fastidiosum	emg	ATPases with chaperone activity, ATP-binding subunit	PRMKRALELS
		16S rRNA (guanine(527)-N(7))-methyltransferase RsmG	GGATPAQGP
Mogibacterium timidum	emg	YafY family protein	RKAELAQKFAV
		sugar-transfer associated ATP-grasp domain-containing protein	PFHSGNTDT
Peptoanaerobacter stomatis	emg	O-antigen ligase	KEYRSAMTVT
		phage protein	ISEISVYNLSPA
Porphyromonas endodontalis	emg	protein-serine phosphatase SerB	LYFLGYKDS
		fimbrial protein	AGNNYYGYD
Porphyromonas gingivalis	est	protein-serine phosphatase SerB	LYFLGYKDS
		fimbrial protein	AGNNYYGYD
Selenomonas sputigena	emg	transglycosylase SLT domain-containing protein	ASVDAADA
		response regulator transcription factor	AKIDERFDDK
Tannerella forsythia	est	surface layer protein B, partial	YQQQNPTDFDTNK
		nucleotidyltransferase family protein	GGIHVISPKI
Treponema denticola	est	flagellar biosynthesis protein FlhB	LQWFAAEDEGRTE
		FlhB	LQWFAAEDEGRTE
Treponema vincentii	emg	flagellar biosynthesis protein FlhB	LQWFAAEDEGRTE
		FlhB	LQWFAAEDEGRTE
Treponema medium	emg	flagellar biosynthesis protein FlhB	LQWFAAEDEGRTE
		FlhB	LQWFAAEDEGRTE
Treponema lecithinolyticum	emg	flagellar biosynthesis protein FlhB	LQWFAAEDEGRTE
		FlhB	LQWFAAEDEGRTE
Treponema lecithinolyticum	emg	flagellar biosynthesis protein FlhB	LQWFAAEDEGRTE
		FlhB	LQWFAAEDEGRTE

Imagen 199
Análisis en IEDB para MHC I

File must contain sequences in single letter code.
be <=10MB in size and contain <=200 sequence

Imagem 200
Alelos para MHC I

[illegible]

Imagen 201 Emparejamiento de epítomos en alelos MHC I

Peptide	Allele	Score
VPVLYIDGKIIAQ	HLA-DQA1*03:01	0.3819
AEAGPTAA	HLA-DQA1*03:01	0.6808
PMVLTVPVYKDELQ	HLA-DQA1*03:01	0.6108
TVPTVYIDGKIIAQ	HLA-DQA1*03:01	0.7544
VPVYKDELQ	HLA-DQA1*03:01	0.2854
CVYTGILTHOTSFPF	HLA-DQA1*03:01	0.3540
LDVFAEAGPTAAED	HLA-DQA1*03:01	0.6876
LTVPVYKVD	HLA-DQA1*03:01	0.1835
PMVLTVPVYKDELQ	HLA-DQA1*03:01	0.3554
HLTVPTVYIDGKIIAQ	HLA-DQA1*03:01	0.3566
KTVPVYIDGKIIAQ	HLA-DQA1*03:01	0.5226
PTVYIDGKIIAQ	HLA-DQA1*03:01	0.5825
HMKGFLDVA	HLA-DQA1*03:01	0.3887
NDPAIPSL	HLA-DQA1*03:01	0.4664
PMVLTVPVYKDELQ	HLA-DQA1*03:01	0.5338
HMKGFLDVA	HLA-DQA1*03:01	0.8241
YKDELQ	HLA-DQA1*03:01	0.2260
TVPTVYIDGKIIAQ	HLA-DQA1*03:01	0.5887
TVYIDGKIIAQ	HLA-DQA1*03:01	0.5218
GLDVFAGPTAA	HLA-DQA1*03:01	0.6882
AEADILONTSSAS	HLA-DQA1*03:01	0.2964
VPVYKDELQ	HLA-DQA1*03:01	0.3854
FFNGIITAN	HLA-DQA1*03:01	0.5344
VPVYKDELQ	HLA-DQA1*03:01	0.6132
YVYIDGKIIAQ	HLA-DQA1*03:01	0.6281
LTVPVYKVD	HLA-DQA1*03:01	0.1315
KTVPVYIDGKIIAQ	HLA-DQA1*03:01	0.1346
DWEISGRVGR	HLA-DQA1*03:01	0.3745
KTVPVYIDGKIIAQ	HLA-DQA1*03:01	0.5116
YVYIDGKIIAQ	HLA-DQA1*03:01	0.5527
KTVPVYIDGKIIAQ	HLA-DQA1*03:01	0.5593
LTVPVYKVD	HLA-DQA1*03:01	0.1428
PMVLTVPVYKDELQ	HLA-DQA1*03:01	0.2185
TVPTVYIDGKIIAQ	HLA-DQA1*03:01	0.2888
HLTLALIEKKKTP	HLA-DQA1*03:01	0.3588
HLTLALIE	HLA-DQA1*03:01	0.8153
LTVPVYKVD	HLA-DQA1*03:01	0.1381
VPVYKDELQ	HLA-DQA1*03:01	0.2568
VPVYIDGKIIAQ	HLA-DQA1*03:01	0.3478
VPVYIDGKIIAQ	HLA-DQA1*03:01	0.4628
HMKGFLDVA	HLA-DQA1*03:01	0.8212
YKDELQ	HLA-DQA1*03:01	0.1814
YVYIDGKIIAQ	HLA-DQA1*03:01	0.1814
HTGVLTHTSFPF	HLA-DQA1*03:01	0.5441
PTVYIDGKIIAQ	HLA-DQA1*03:01	0.6264
REHGRKPMVLTVP	HLA-DQA1*03:01	0.6299
LDVFAEAGPTAAED	HLA-DQA1*03:01	0.6328

Imagen 202 Análisis en IEDB para MHC II

MHC-II Binding Predictions

Specify Sequence(s)

Enter protein sequence(s) in FASTA format

Or select file containing sequence(s)

Choose a Prediction Method

Prediction Method: NetMHCIIpan 4.1 EL (recommended epitope predictor-2023.09)

Specify what to make binding predictions for

Select species/locus: Human, HLA-DR

Select MHC allele(s)

Select α & β chains separately if applicable:

Select full HLA reference set:

Select 7-allele HLA reference set:

Select length(s): 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20

Specify Output

Sort peptides by: Percentile Rank

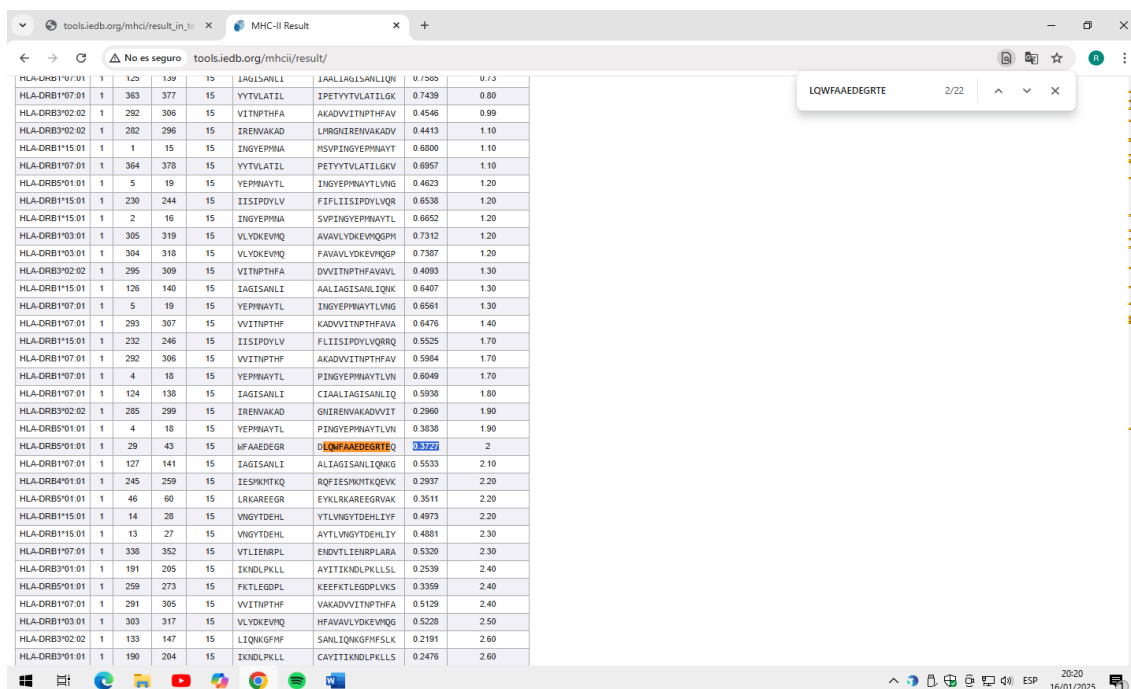
Output format: XHTML table

Email address (optional):

Submit Reset

Imagen 203

Emparejamiento de epítomos en alelos MHC I



Allele	Position	Peptide
HLA-DRB1*01:01	1	125
HLA-DRB1*01:01	1	363
HLA-DRB1*01:01	1	377
HLA-DRB1*01:01	1	15
HLA-DRB1*01:01	1	292
HLA-DRB1*01:01	1	306
HLA-DRB1*01:01	1	15
HLA-DRB1*01:01	1	282
HLA-DRB1*01:01	1	296
HLA-DRB1*01:01	1	15
HLA-DRB1*01:01	1	1
HLA-DRB1*01:01	1	15
HLA-DRB1*01:01	1	364
HLA-DRB1*01:01	1	378
HLA-DRB1*01:01	1	15
HLA-DRB1*01:01	1	5
HLA-DRB1*01:01	1	19
HLA-DRB1*01:01	1	230
HLA-DRB1*01:01	1	244
HLA-DRB1*01:01	1	15
HLA-DRB1*01:01	1	2
HLA-DRB1*01:01	1	16
HLA-DRB1*01:01	1	15
HLA-DRB1*01:01	1	305
HLA-DRB1*01:01	1	319
HLA-DRB1*01:01	1	15
HLA-DRB1*01:01	1	304
HLA-DRB1*01:01	1	318
HLA-DRB1*01:01	1	15
HLA-DRB1*01:01	1	295
HLA-DRB1*01:01	1	309
HLA-DRB1*01:01	1	15
HLA-DRB1*01:01	1	126
HLA-DRB1*01:01	1	140
HLA-DRB1*01:01	1	15
HLA-DRB1*01:01	1	5
HLA-DRB1*01:01	1	19
HLA-DRB1*01:01	1	293
HLA-DRB1*01:01	1	307
HLA-DRB1*01:01	1	15
HLA-DRB1*01:01	1	232
HLA-DRB1*01:01	1	246
HLA-DRB1*01:01	1	15
HLA-DRB1*01:01	1	292
HLA-DRB1*01:01	1	306
HLA-DRB1*01:01	1	15
HLA-DRB1*01:01	1	4
HLA-DRB1*01:01	1	18
HLA-DRB1*01:01	1	124
HLA-DRB1*01:01	1	138
HLA-DRB1*01:01	1	15
HLA-DRB1*01:01	1	285
HLA-DRB1*01:01	1	299
HLA-DRB1*01:01	1	15
HLA-DRB1*01:01	1	4
HLA-DRB1*01:01	1	18
HLA-DRB1*01:01	1	15
HLA-DRB1*01:01	1	29
HLA-DRB1*01:01	1	43
HLA-DRB1*01:01	1	127
HLA-DRB1*01:01	1	141
HLA-DRB1*01:01	1	15
HLA-DRB1*01:01	1	245
HLA-DRB1*01:01	1	259
HLA-DRB1*01:01	1	15
HLA-DRB1*01:01	1	46
HLA-DRB1*01:01	1	60
HLA-DRB1*01:01	1	15
HLA-DRB1*01:01	1	14
HLA-DRB1*01:01	1	28
HLA-DRB1*01:01	1	13
HLA-DRB1*01:01	1	27
HLA-DRB1*01:01	1	15
HLA-DRB1*01:01	1	338
HLA-DRB1*01:01	1	352
HLA-DRB1*01:01	1	15
HLA-DRB1*01:01	1	191
HLA-DRB1*01:01	1	205
HLA-DRB1*01:01	1	15
HLA-DRB1*01:01	1	259
HLA-DRB1*01:01	1	273
HLA-DRB1*01:01	1	15
HLA-DRB1*01:01	1	291
HLA-DRB1*01:01	1	305
HLA-DRB1*01:01	1	15
HLA-DRB1*01:01	1	303
HLA-DRB1*01:01	1	317
HLA-DRB1*01:01	1	15
HLA-DRB1*01:01	1	133
HLA-DRB1*01:01	1	147
HLA-DRB1*01:01	1	15
HLA-DRB1*01:01	1	190
HLA-DRB1*01:01	1	204
HLA-DRB1*01:01	1	15

Tabla 2

Naturaleza, ubicación y tamaño de epítomos

PUBMED	Proteínas	Epítomos	Ubicación
WP_245527176.1	transcriptional regulator	EKPVHLLTVVPY	10-22
WP_342610079.1	transporter	LDYVTLFVFEWGLSGAA	91-109
<u>WP_338350101.1</u>	regulator	IYILEDQHIQAK	2-15
GAU72619.1	binding protein	SQILSTPIELP	3-16
MBP1563226.1	synthase	LAPENMVSR	75-85
EEU04035.1	polymerase	ESHMDVIEIDAAS	85-99
WP_314025063.1	containing protein	KEESKKATTQKVIWN	91-107
WP_314882123.1	family protein	LESIQKGDIDFIILTP	169-186
CBL29051.1	ATPases	PRMKRALELS	82-93
WP_208872854.1	transferase	GGATPAQGP	27-37
>WP_281523002.1	family protein	RKAELAQKFAV	26-38
>WP_314932645.1	containing protein	PFHSGNTDT	239-249
>WP_009527934.1	ligase	KEYRSAMTVT	185-196
WP_009530845.1	protein	ISEISVYNLSA	37-50
WP_088528538.1	phosphatase	LYFLGYKDS	393- 403
>WP_315334087.1	phosphatase	LYFLGYKDS	394-404
>BAA04626.1	fimbrilin	AGNNYYGYD	106-116
>WP_314813268.1	protein	AGNNYYGYD	146-156
>WP_315273864.1	transglycosylase	ASVDAADA	1349-1358
>UZE46631.1	transcription	AKIDERFDDK	199-210
>AAR82923.1	protein	YQGQNPTFDFTNK	162-176
>PDP70203.1	transferase	GGIHVISPKE	181-192
>WP_162663253.1	complex protein	DNFRSRMVSDT	
>AAK12645.1	protein	LQWFAAEDEGRTE	26-40
>WP_385903018.1	biosynthesis	LQWFAAEDEGRTE	20-34
>WP_016523511.1	biosynthesis	LQWFAAEDEGRTE	20-34
>WP_306699017.1	biosynthesis	LQWFAAEDEGRTE	29-43

Tabla 3
Pruebas de emparejamiento, avidez, antigenicidad, alergenicidad y toxicidad de epítomos

Proteína	Epítomos	MHC-I allele	MHC-II allele	Fuerza de union	Antigenicity	Allergenicity	Toxicity
LacI family DNA-binding transcriptional regulator	EKPVHLTVVYPY	o.1772	0.5007	-21.57	Antigen	No Allergenic	No toxic
family efflux transporter	LDYVTLFVFEWGLSGAA	0.000751	0.0228	-25.55	Antigen	No Allergenic	No toxic
response regulator FsrA	IYILEDQIIQAK	0.001751	0.4782	-19.58	Antigen	No Allergenic	No toxic
DNA-binding protein	SQILSTEPIELP	0.002527	0.7994	-36.82	Antigen	No Allergenic	No toxic
acetolactate synthase small subunit	LAPENMVSR	0.713373	0.1459	-43.47	Antigen	No Allergenic	No toxic
DNA polymerase III, subunit gamma and tau	ESHMDVIEIDAAS	0.000772	0.9123	-36.52	Antigen	No Allergenic	No toxic
transglycosylase SLT domain-containing protein	KEESKKATTQKVIVN	0.00187	0.1176	-49.09	Antigen	No Allergenic	No toxic
DUF6630 family protein	LESIQKGDIDFIILTP	0.09	0.1310	-12.22	Antigen	No Allergenic	No toxic
ATPases with chaperone activity, ATP-binding subunit	PRMKRALELS	0.000751	0.0703	-37.31	Antigen	No Allergenic	No toxic
16S rRNA (guanine(527)-N(7))-methyltransferase RsmG	GGATPAQGP	0.001353	0.1015	-31.15	Antigen	No Allergenic	No toxic
YafY family protein	RKAELAQKFAV	0.003448	0.0908	-25.53	Antigen	No Allergenic	No toxic
sugar-transfer associated ATP-grasp domain-containing protein	PFHSGNTDT	0.062389	0.3121	-24.16	Antigen	No Allergenic	No toxic
O-antigen ligase	KEYRSAMTVT	0.012403	0.8938	-41.37	Antigen	No Allergenic	No toxic
phage protein	ISEISVYNLSPA	0.001815	0.5340	-10.84	Antigen	No Allergenic	No toxic
protein-serine phosphatase SerB	LYFLGYKDS	0.006263	0.6161	-14.22	Antigen	No Allergenic	No toxic
fimbrial protein	AGNNYYGYD	0.000454	0.2084	-13.75	Antigen	No Allergenic	No toxic
protein-serine phosphatase SerB	LYFLGYKDS	0.006263	0.6161	-14.22	Antigen	No Allergenic	No toxic
fimbrial protein	AGNNYYGYD	0.000924	0.2895	-13.75	Antigen	No Allergenic	No toxic

Proteína	Epítomos	MHC-I allele	MHC-II allele	Fuerza de unión	Antigenicity	Allergenicity	Toxicity
transglycosylase SLT domain-containing protein	ASVDAADA	0.062951	0.0603	-21.76	Antigen	No Allergenic	No toxic
response regulator transcription factor	AKIDERFDDK	0.008035	0.2091	-15.34	Antigen	No Allergenic	No toxic
surface layer protein B, partial	YQGQNPTFDFTNK	0.039135	0.0648	-33.45	Antigen	No Allergenic	No toxic
nucleotidyltransferase family protein	GGIHVISPKI	0.002026	0.2122	-21.39	Antigen	No Allergenic	No toxic
flagellar biosynthesis protein FlhB	LQWFAAEDEGRTE	0.000101	0.3893	-22.16	Antigen	No Allergenic	No toxic
FlhB	LQWFAAEDEGRTE	0.000101	0.3893	-7.39	Antigen	No Allergenic	No toxic
flagellar biosynthesis protein FlhB	LQWFAAEDEGRTE	0.00043	0.3735	22.16	Antigen	No Allergenic	No toxic
FlhB	LQWFAAEDEGRTE	0.00043	0.3735	-7.39	Antigen	No Allergenic	No toxic
flagellar biosynthesis protein FlhB	LQWFAAEDEGRTE	0.00043	0.3735	-22.16	Antigen	No Allergenic	No toxic
FlhB	LQWFAAEDEGRTE	0.00043	0.3735	-7.39	Antigen	No Allergenic	No toxic
flagellar biosynthesis protein FlhB	LQWFAAEDEGRTE	0.000101	0.3727	-22.16	Antigen	No Allergenic	No toxic
FlhB	LQWFAAEDEGRTE	0.000101	0.3727	-7.39	Antigen	No Allergenic	No toxic

1.1.1.4 Modelado 3D de Epítomos Antigénicos:

Tabla 4
Modelado 3D de proteína y epítipo para *Anaeroglobus geminatus*

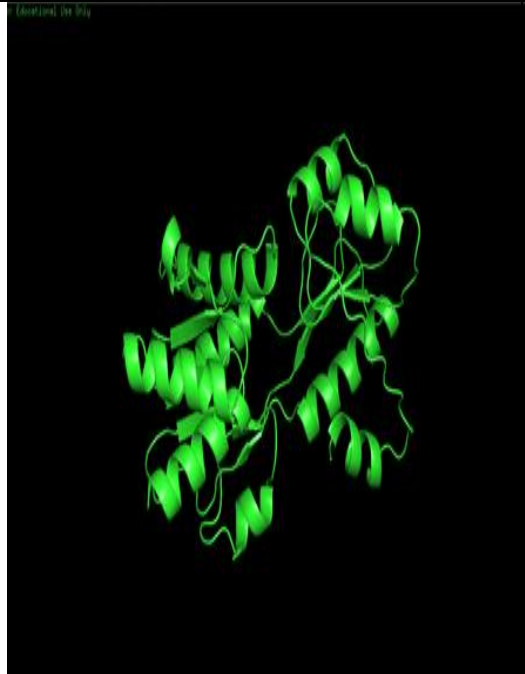
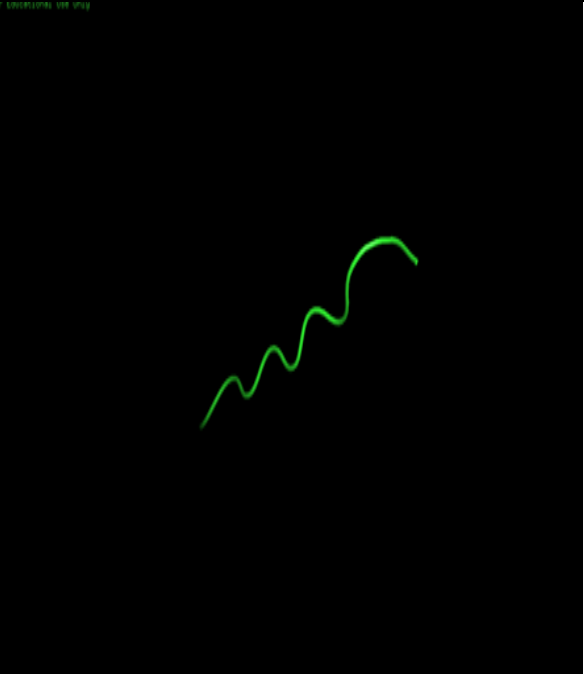
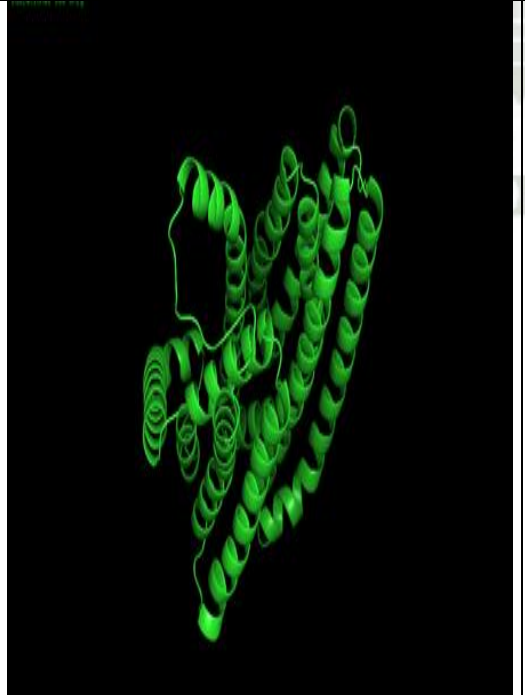
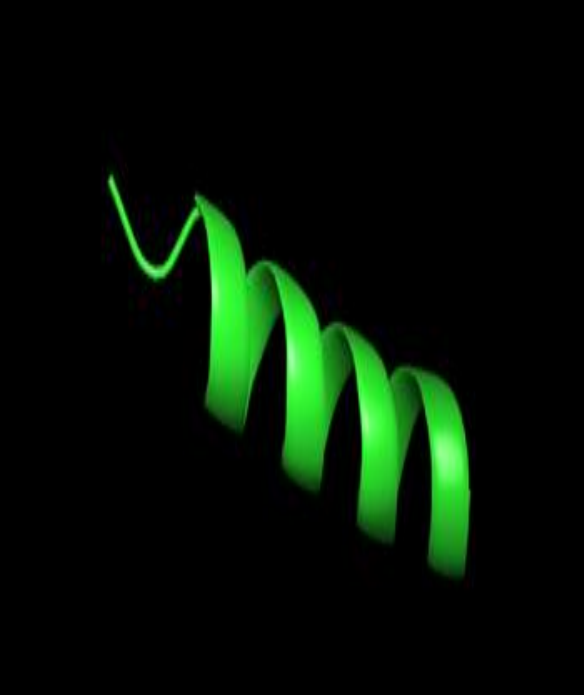
Anaeroglobus geminatus	
Proteína	Epítipo
LacI family DNA-binding transcriptional regulator	EKPVHLLTVVPY
	
family efflux transporter	LDYVTLFVFEWGLSGAA
	

Tabla 5
Modelado 3D de proteína y epítipo para *Enterococcus faecalis*

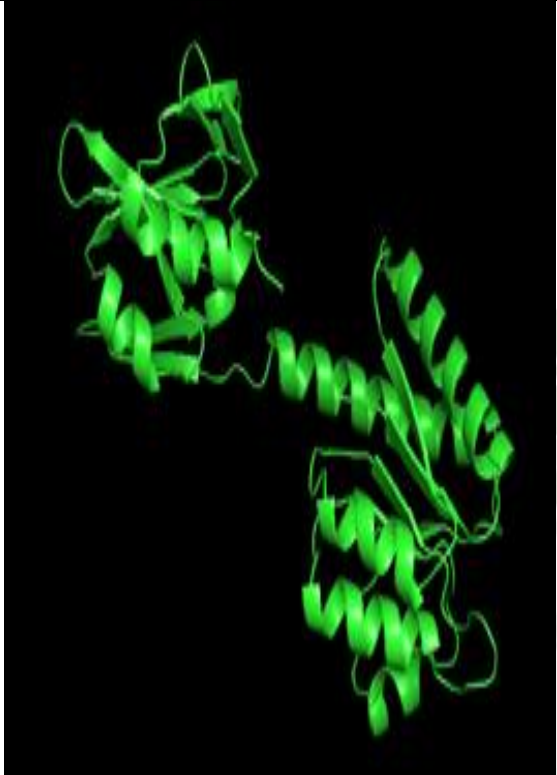
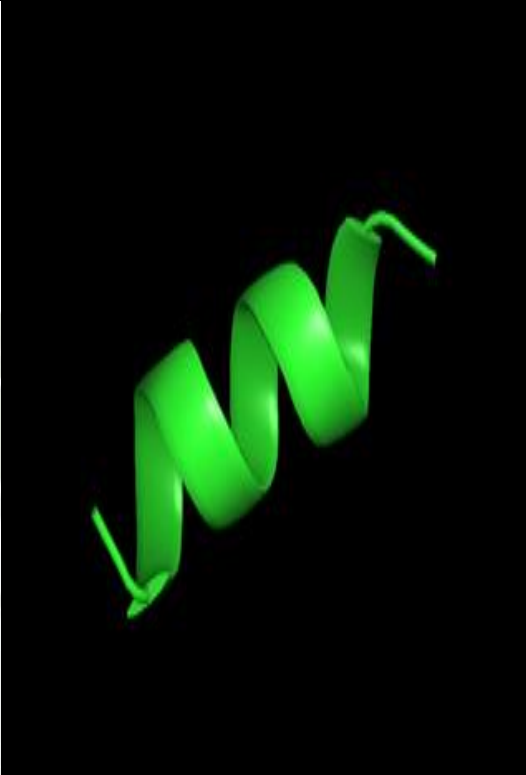
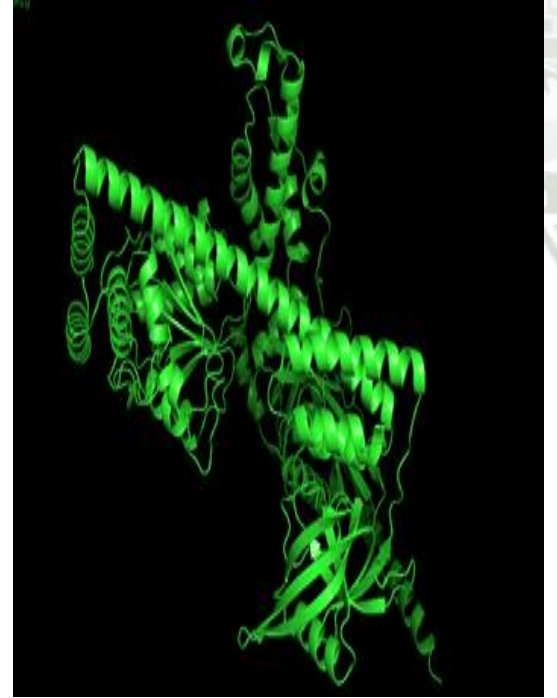
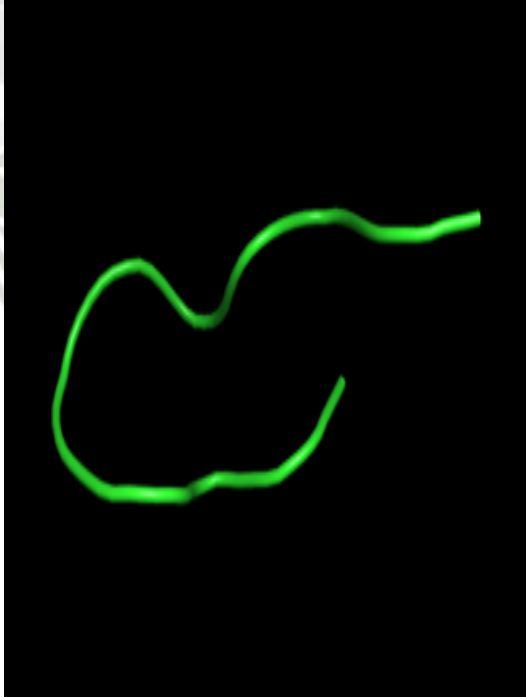
Enterococcus faecalis	
Proteína	Epítipo
1 response regulator FsrA	IYILEDQIIQAK
	
DNA-binding protein	SQILSTEPIELP
	

Tabla 6
Modelado 3D de proteína y epítipo para *Eubacterium saphenum*

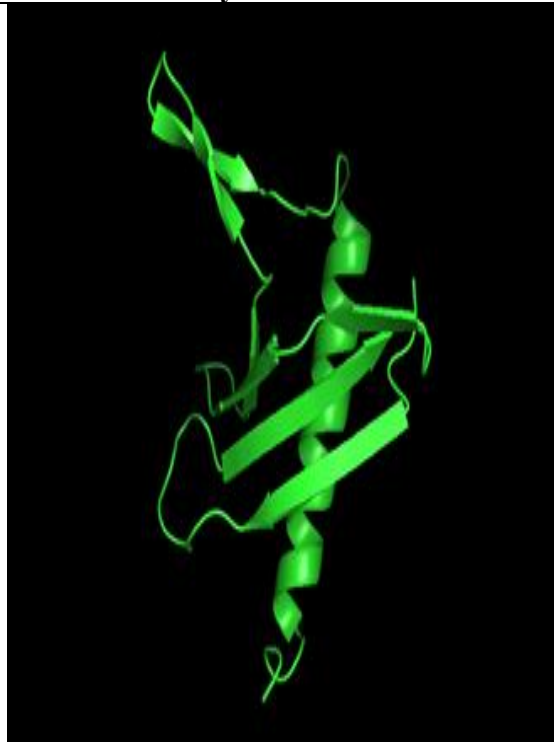
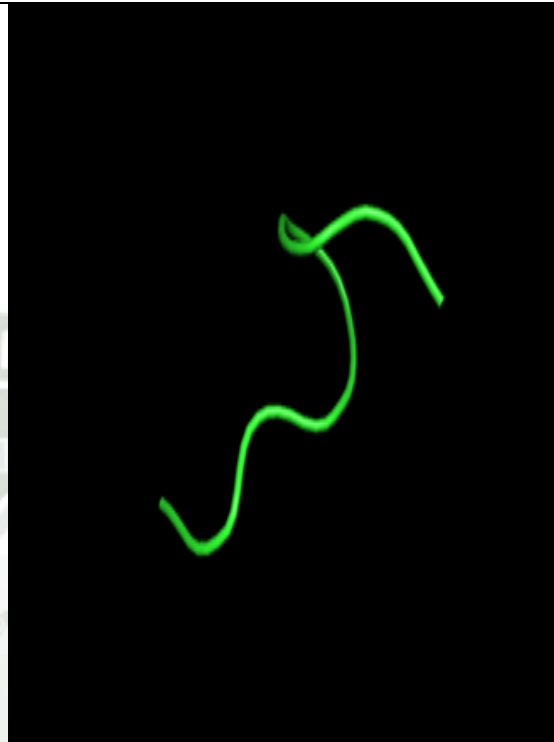
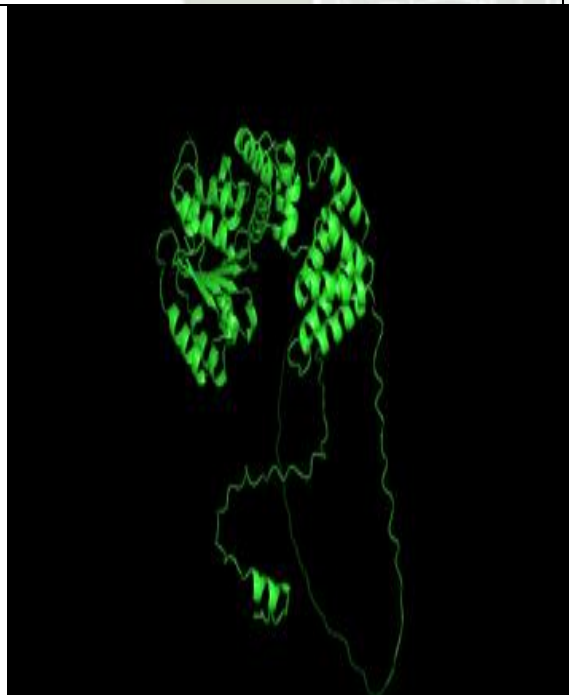
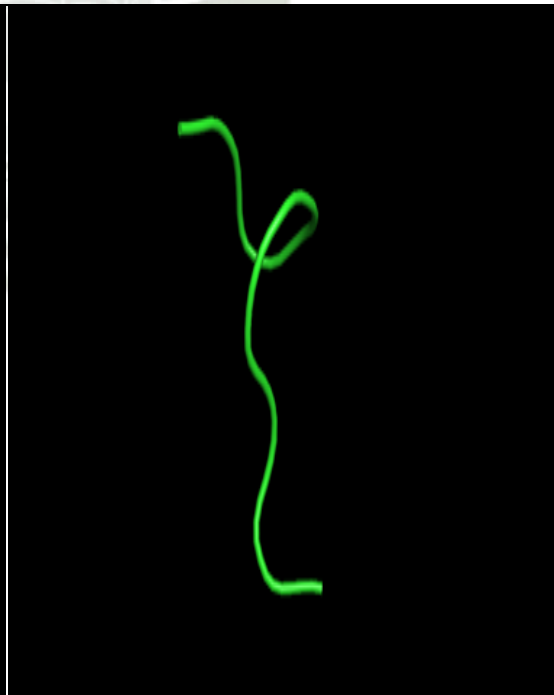
Eubacterium saphenum	
Proteína	Epítipo
acetolactate synthase small subunit	LAPENMVSR
	
DNA polymerase III, subunit gamma and tau	ESHMDVIEIDAAS
	

Tabla 7
Modelado 3D de proteína y epítipo para *Filifactor alocis*

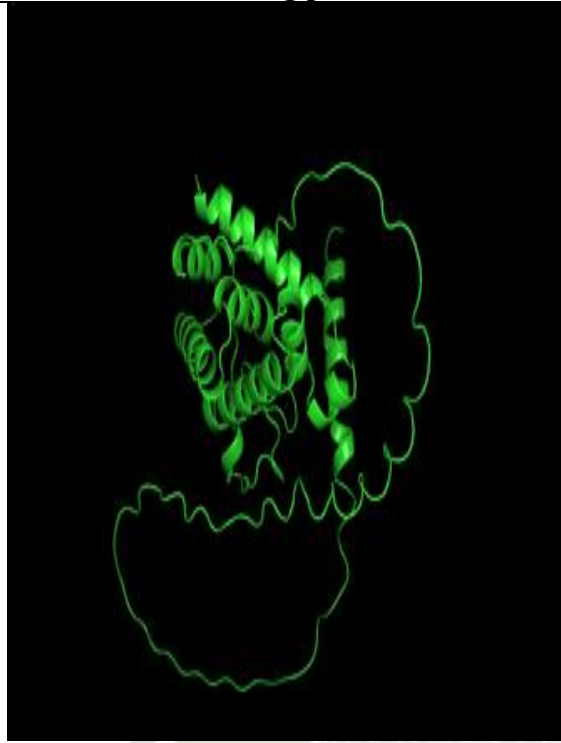
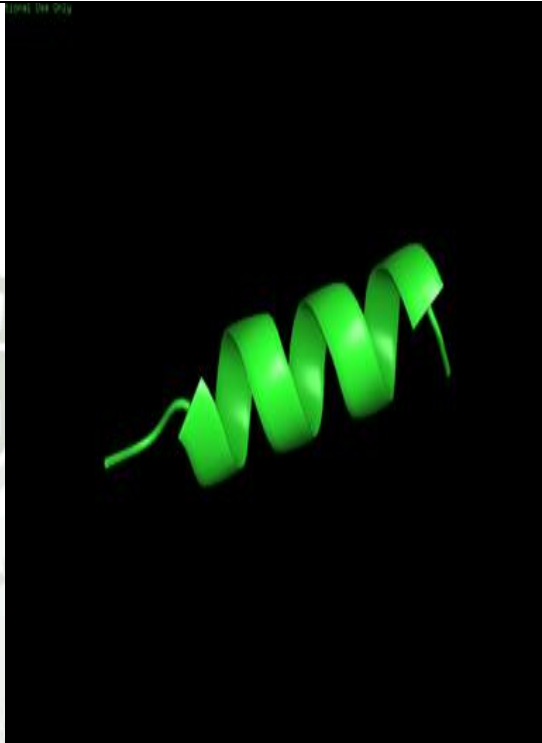
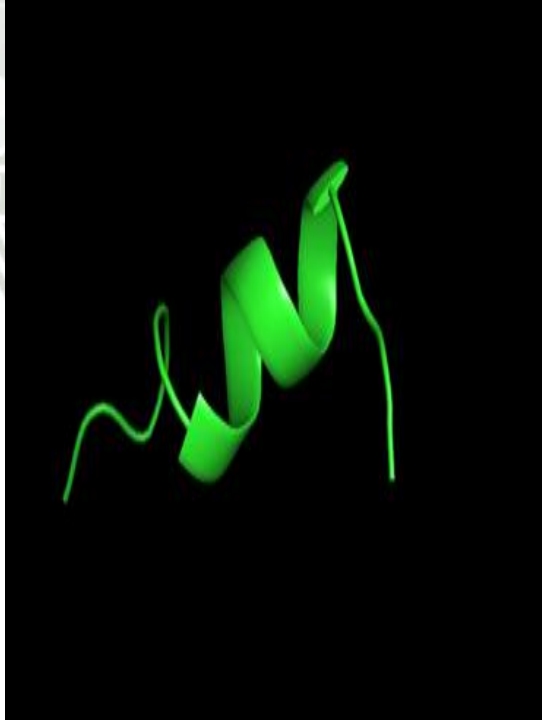
Filifactor alocis	
Proteína	Epítipo
transglycosylase SLT domain-containing protein	KEESKKATTQKVIVN
	
DUF6630 family protein	LESIQKGDIDFIILTP
	

Tabla 8
Modelado 3D de proteína y epítipo para *Fretibacterium fastidiosum*

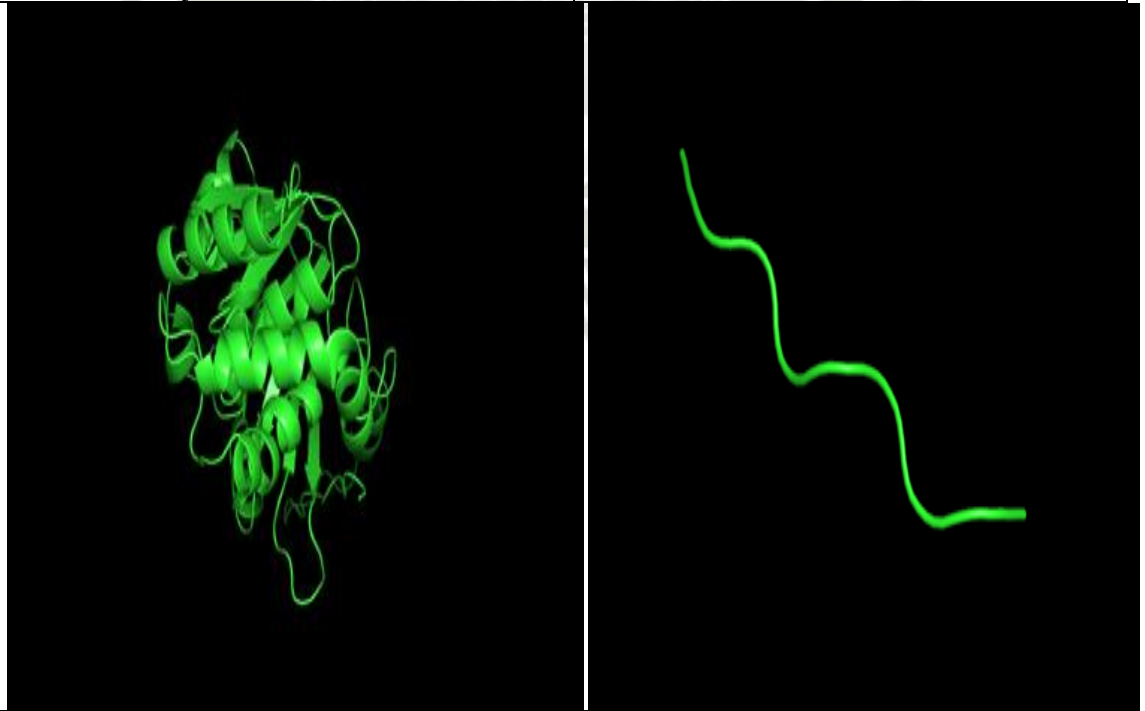
Fretibacterium fastidiosum	
Proteína	Epítipo
ATPases with chaperone activity, ATP-binding subunit	PRMKRALELS
	
16S rRNA (guanine(527)-N(7))-methyltransferase RsmG	GGATPAQGP
	

Tabla 9
Modelado 3D de proteína y epítipo para *Mogibacterium timidum*

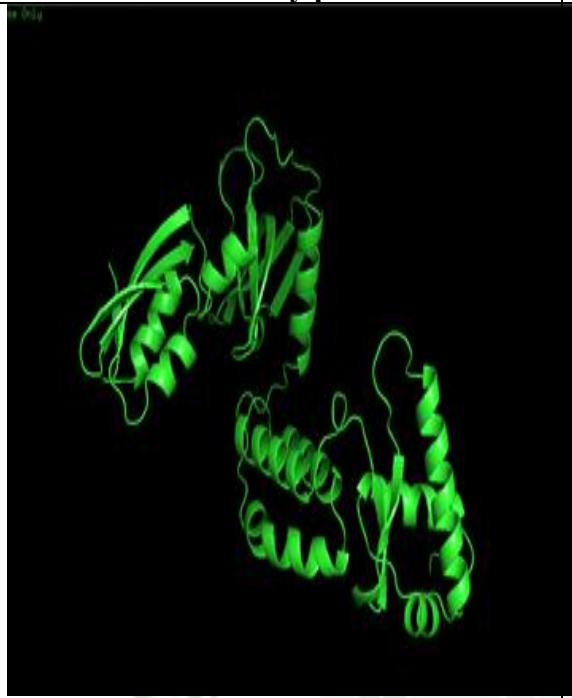
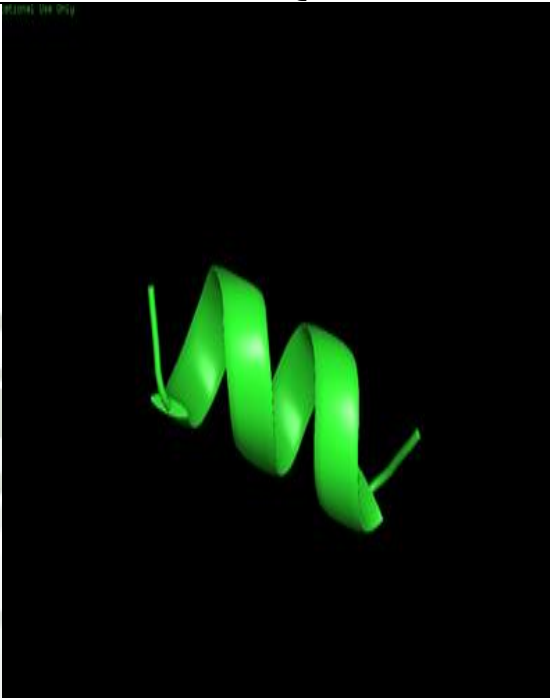
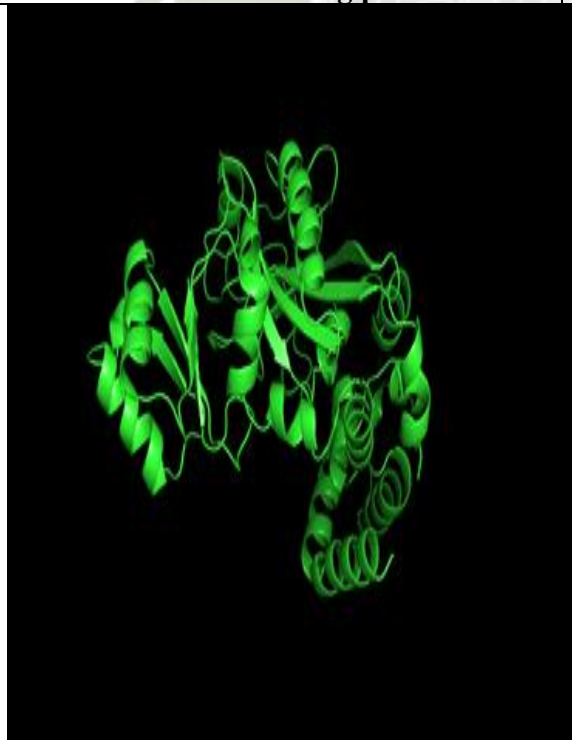
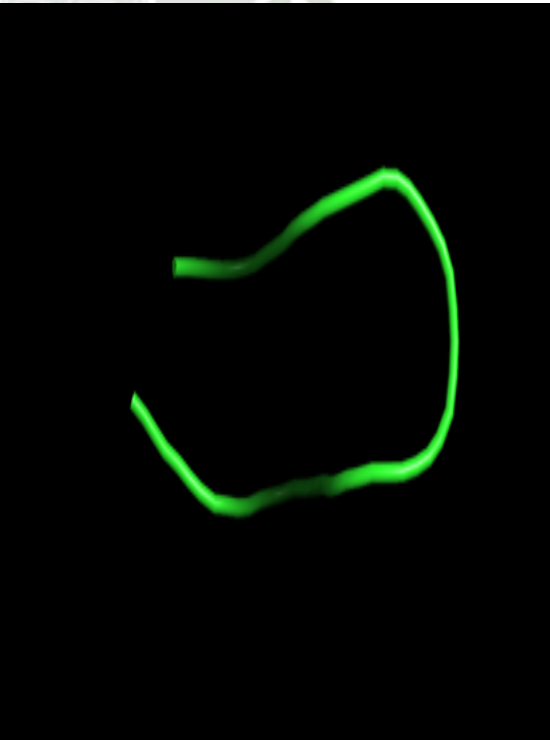
Mogibacterium timidum	
Proteína	Epítipo
YafY family protein	RKAELAQKFAV
	
sugar-transfer associated ATP-grasp domain-containing protein	PFHSGNTDT
	

Tabla 10
Modelado 3D de proteína y epítipo para *Peptoanaerobacter stomatis*

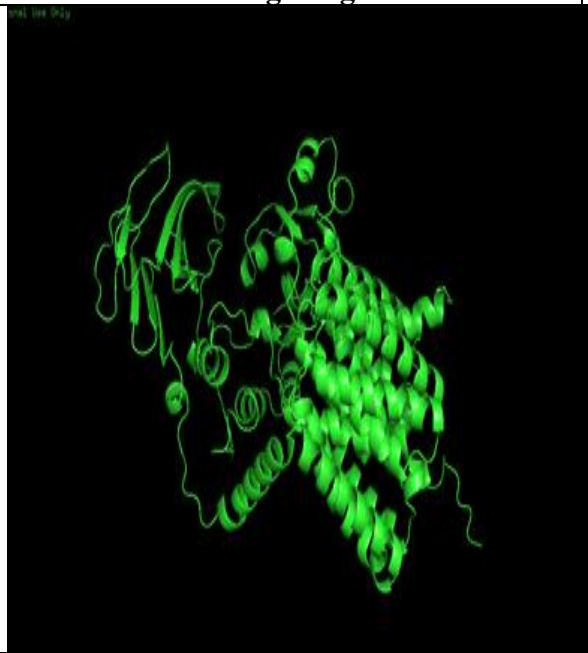
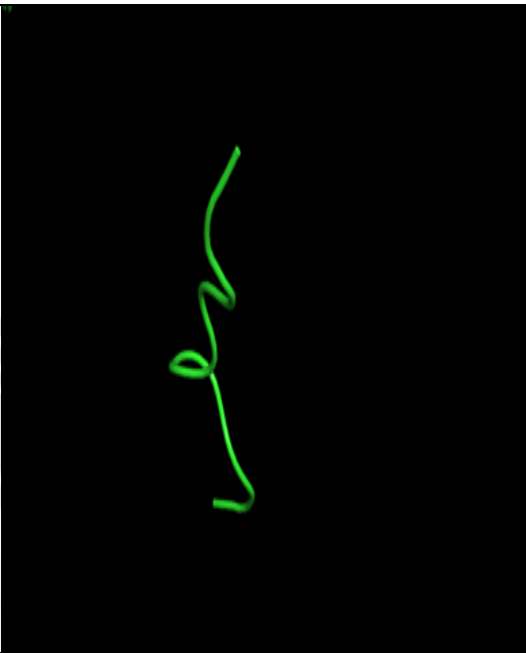
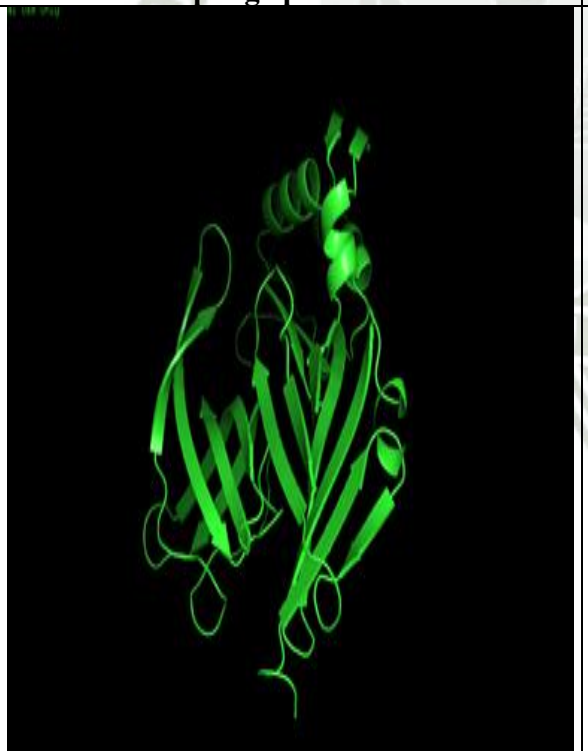
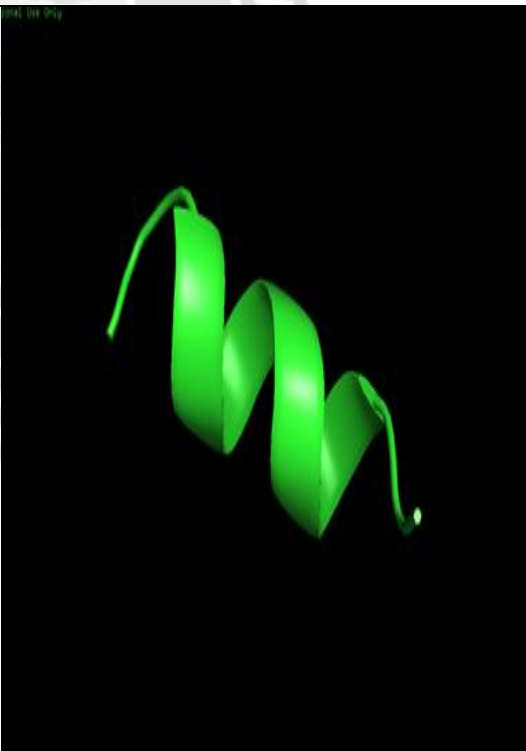
Peptoanaerobacter stomatis	
Proteína	Epítipo
O-antigen ligase	KEYRSAMTVT
	
phage protein	ISEISVYNLSPA
	

Tabla 11
Modelado 3D de proteína y epítipo para *Porphyromonas gingivalis*

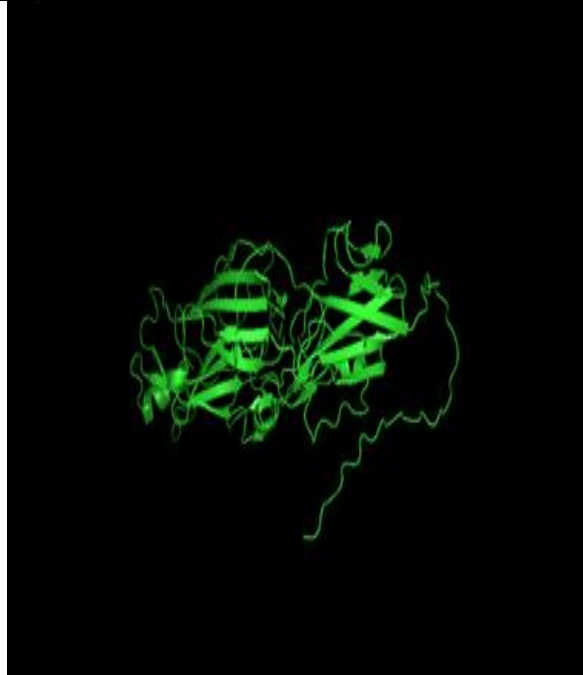
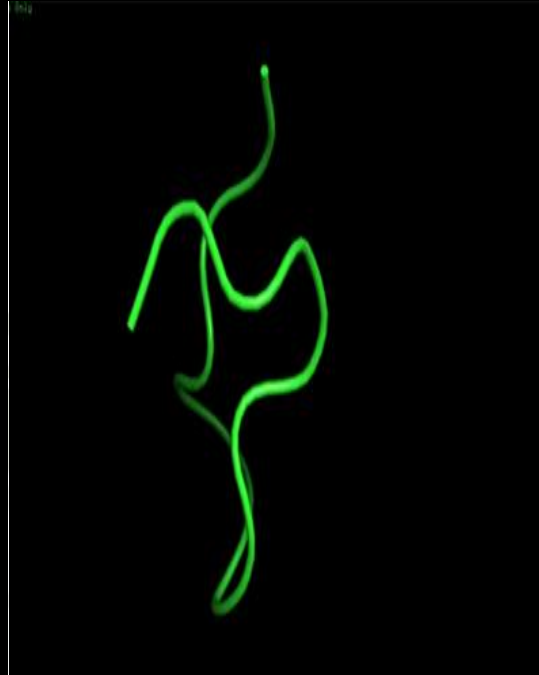
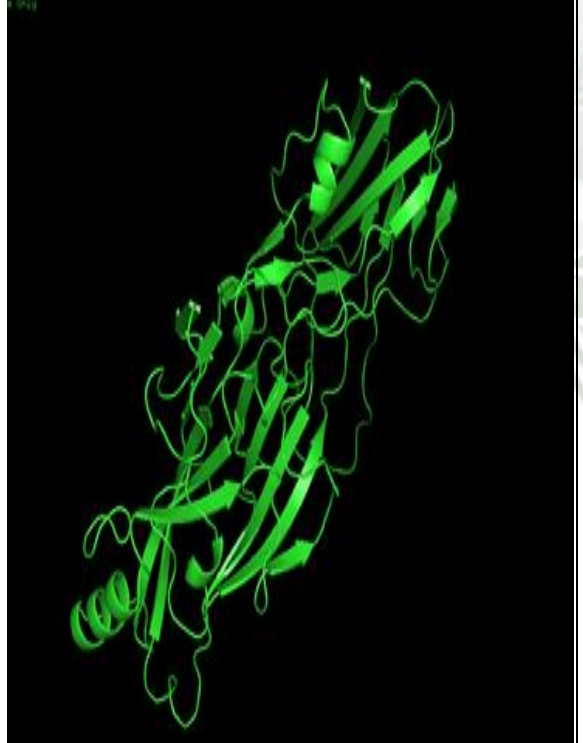
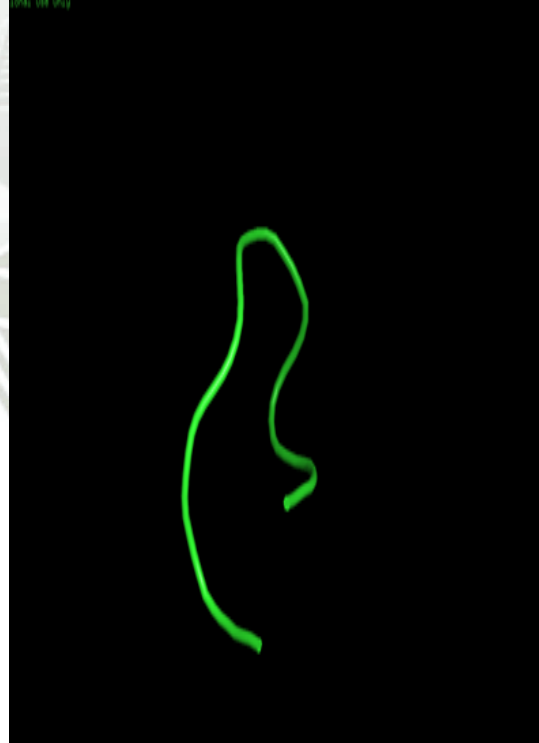
Porphyromonas gingivalis	
Proteína	Epítipo
protein-serine phosphatase SerB	LYFLGYKDS
	
fimbrilin	AGNNYYGYD
	

Tabla 12
Modelado 3D de proteína y epítipo para *Porphyromonas endodontalis*

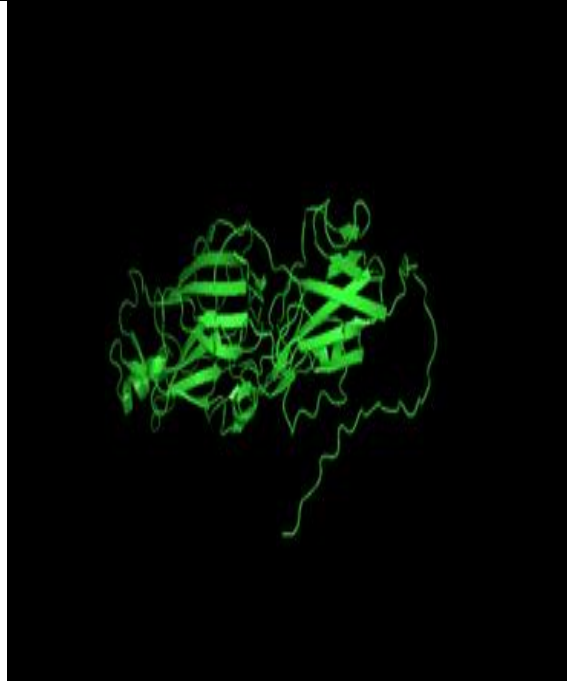
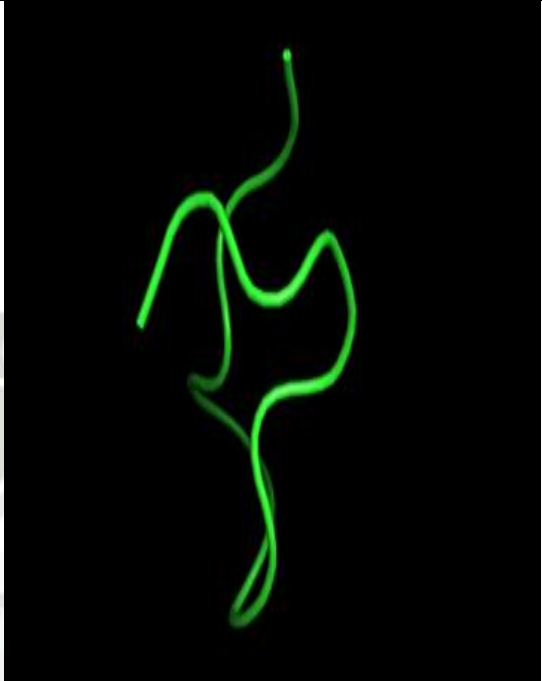
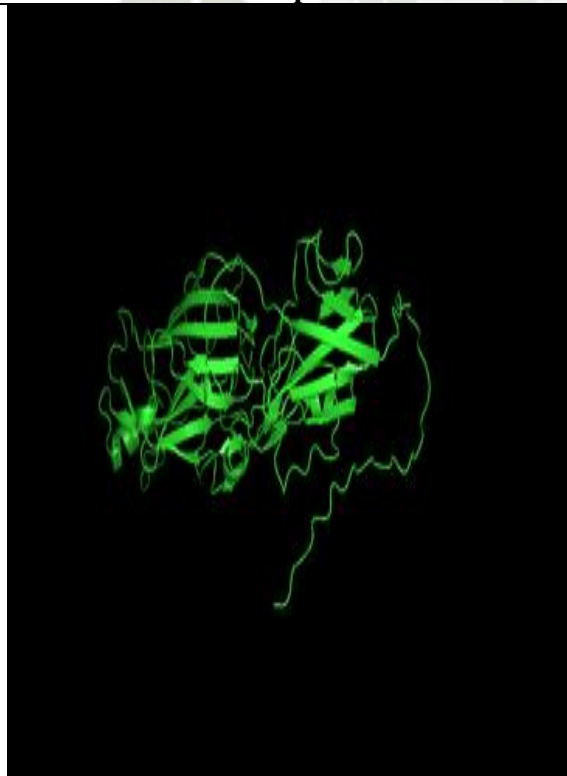
Porphyromonas endodontalis	
Proteína	Epítipo
phosphoserine phosphatase SerB	LYFLGYKDS
	
fimbrial protein	AGNNYYGYD
	

Tabla 13
Modelado 3D de proteína y epítipo para *Selenomonas sputigena*

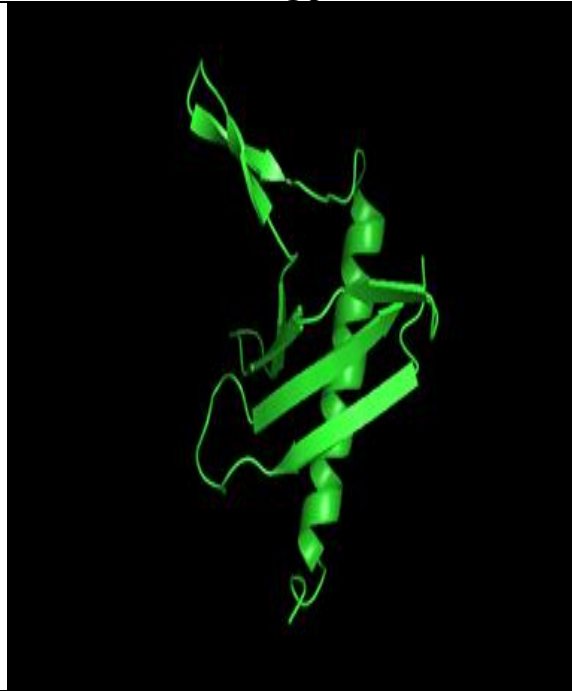
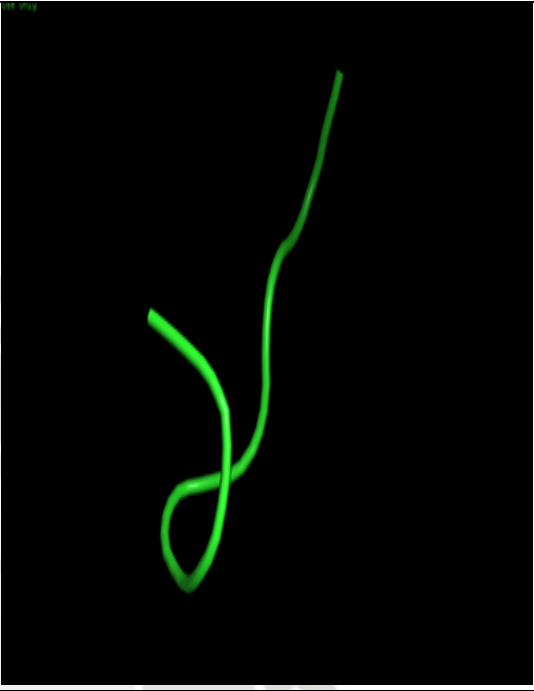
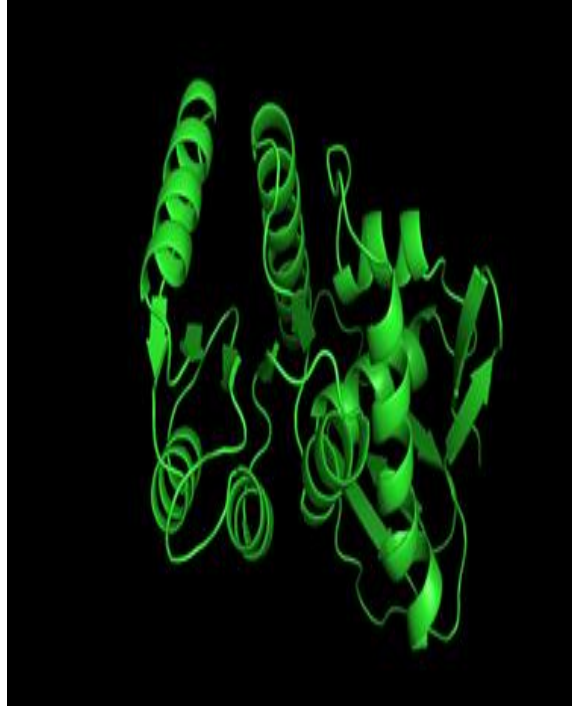
Selenomonas sputigena	
Proteína	Epítipo
transglycosylase SLT domain-containing protein	ASVDAADA
	
response regulator transcription factor	AKIDERFDDK
	

Tabla 14
Modelado 3D de proteína y epítipo para *Tannerella forsythia*

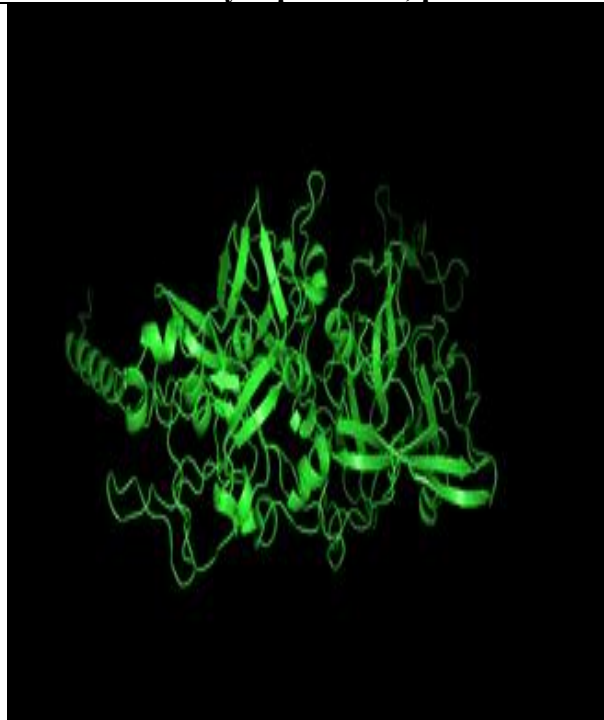
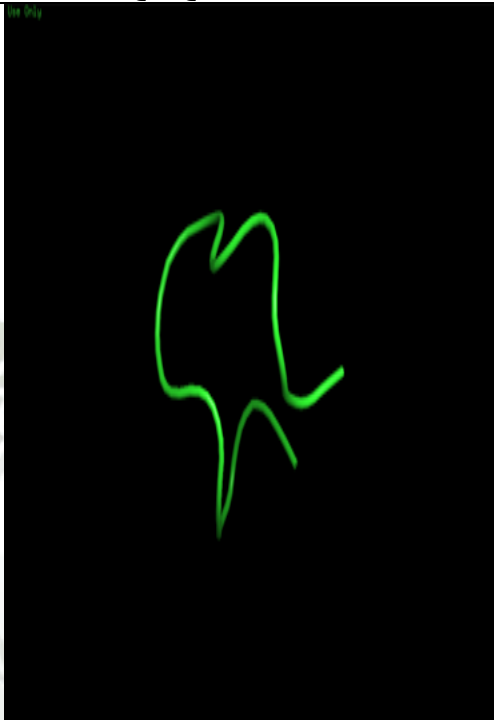
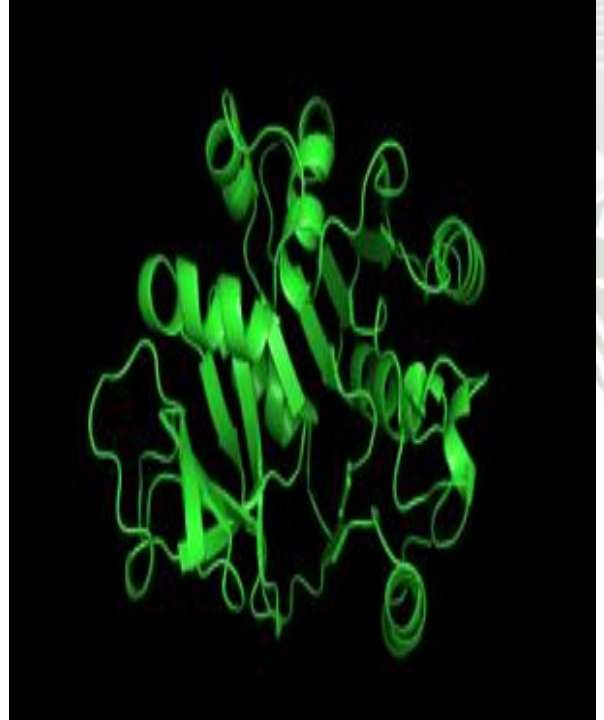
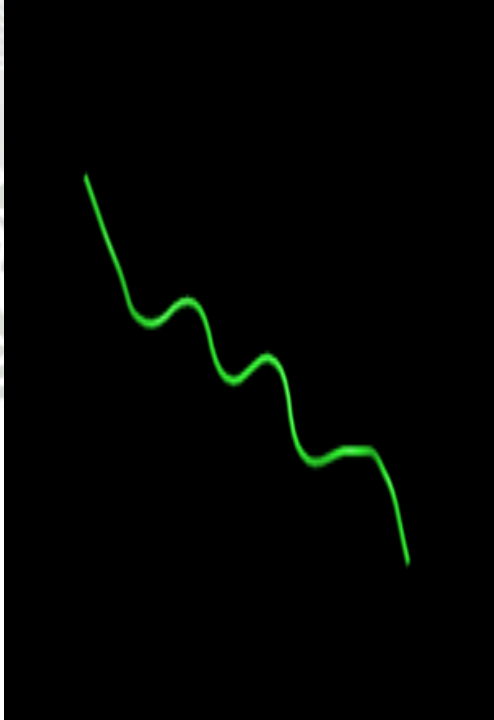
Tannerella forsythia	
Proteína	Epítipo
surface layer protein B, partial	YQGQNPTFDFTNK
	
nucleotidyltransferase family protein	GGIHVISPKI
	

Tabla 15
Modelado 3D de proteína y epítipo para *Treponema denticola*

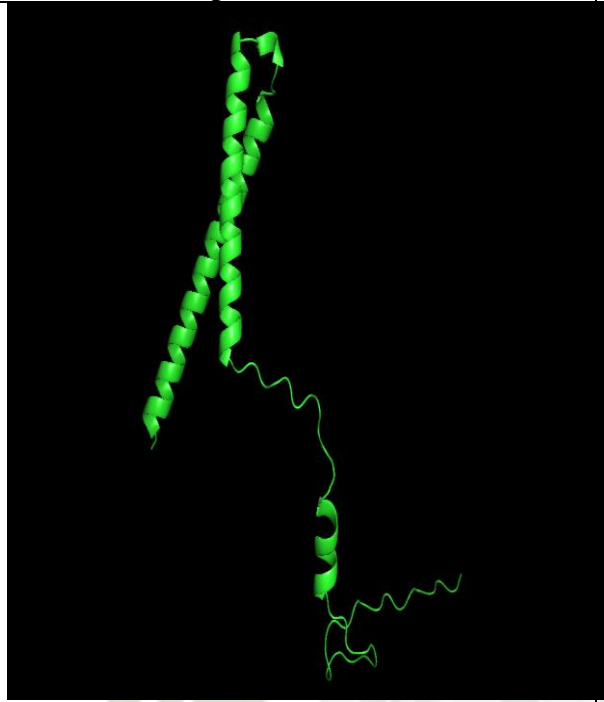
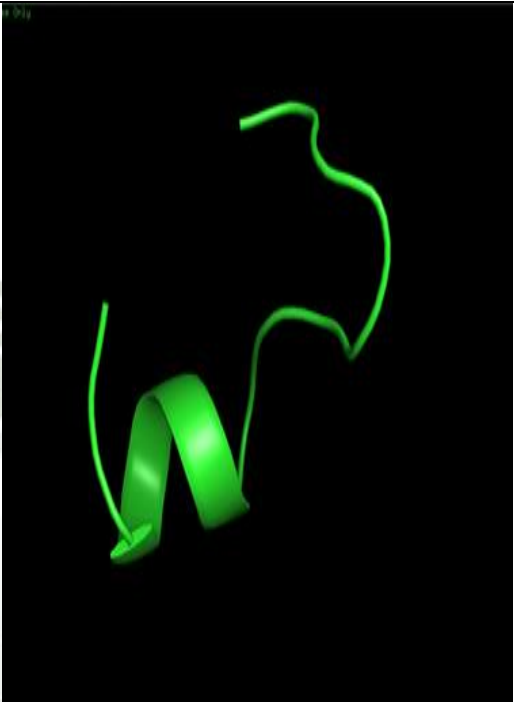
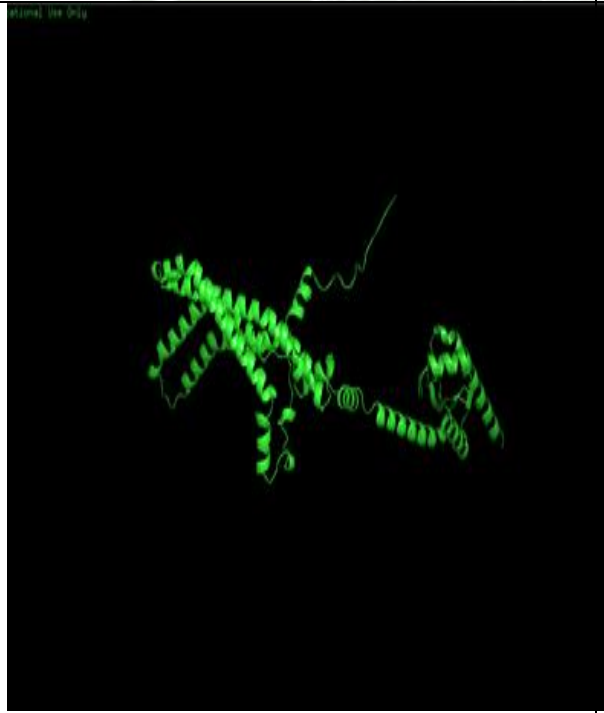
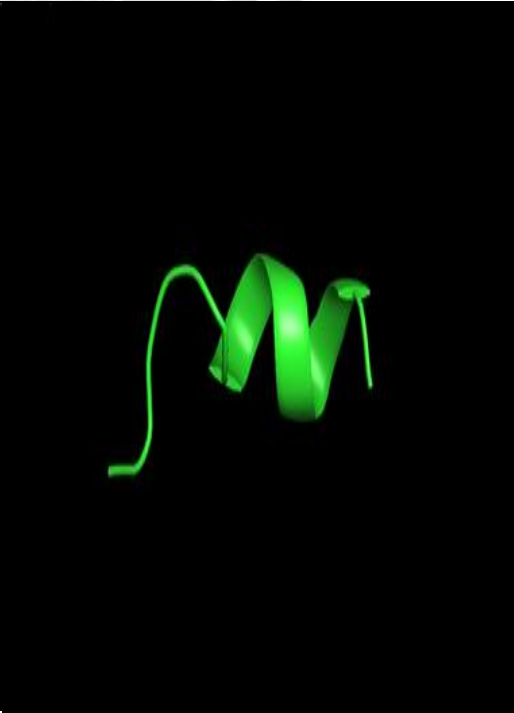
Treponema denticola	
Proteína	Epítipo
flagellar hook-basal body complex protein FliE	DNFRSRMVSDT
	
FlhB	LQWFAAEDEGRTE
	

Tabla 16
Modelado 3D de proteína y epítipo para *Treponema vincentii*

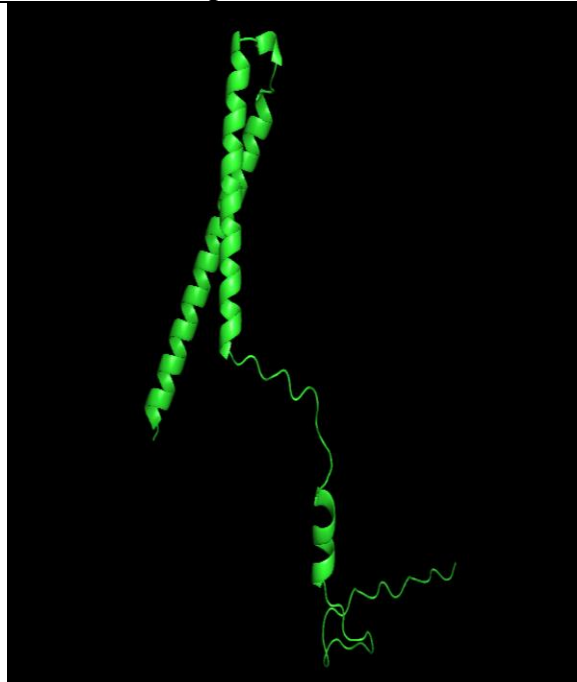
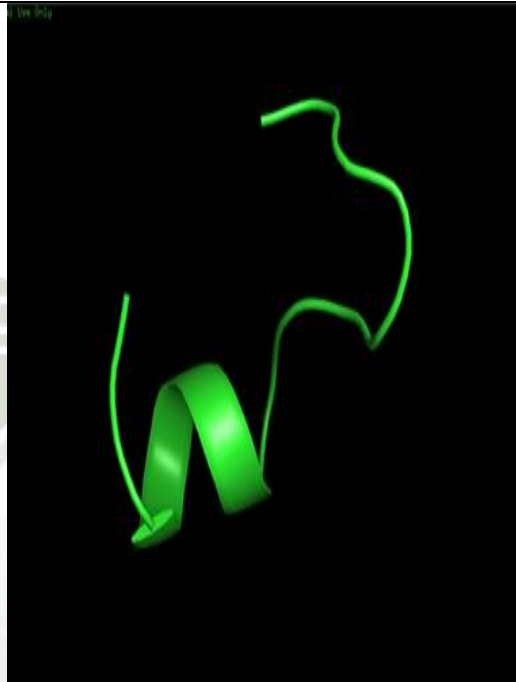
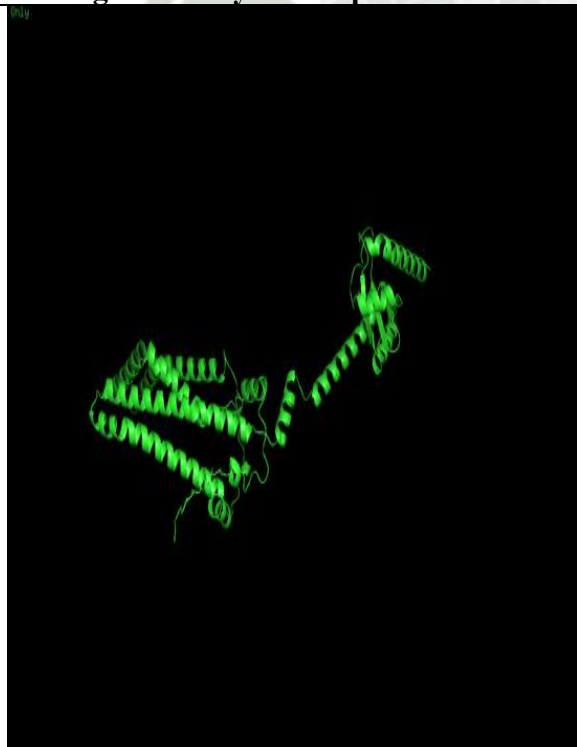
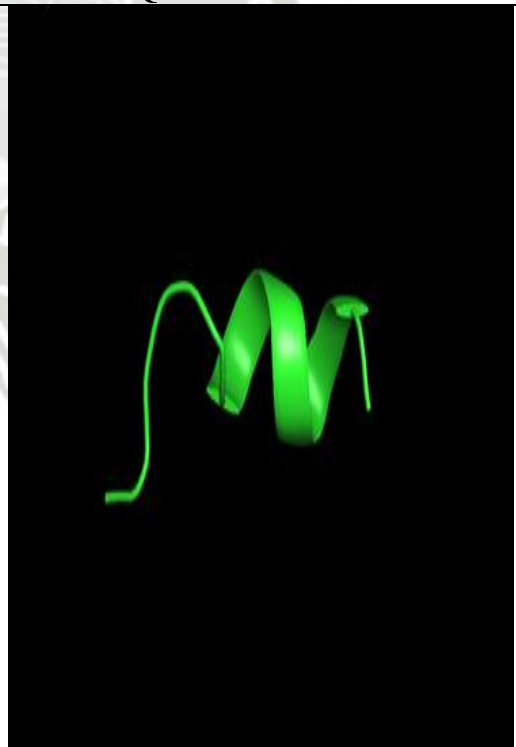
Treponema vincentii	
Proteína	Epítipo
flagellar hook-basal body complex protein FliE	DNFRSRMVSDT
	
flagellar biosynthesis protein FlhB	LQWFAAEDEGRTE
	

Tabla 17
Modelado 3D de proteína y epítipo para *Treponema medium*

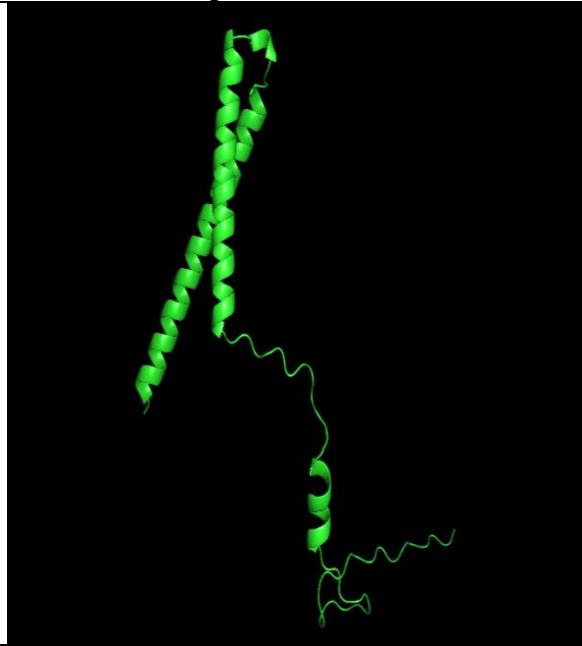
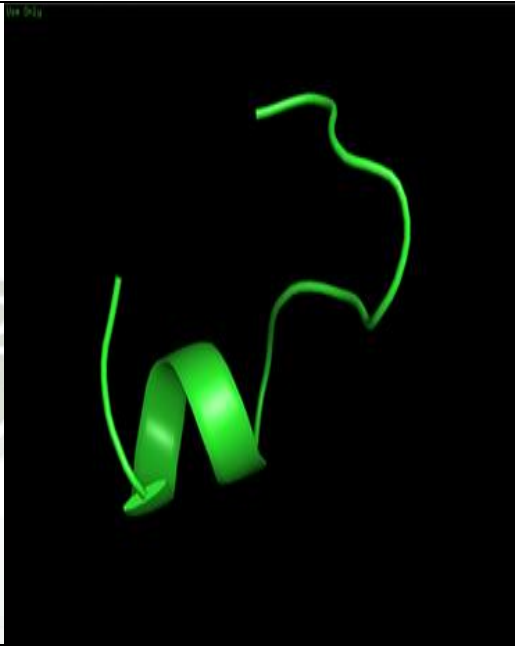
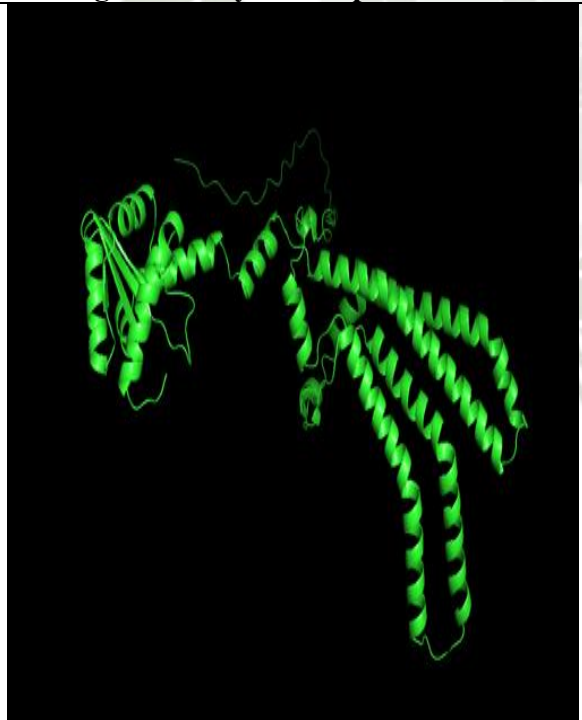
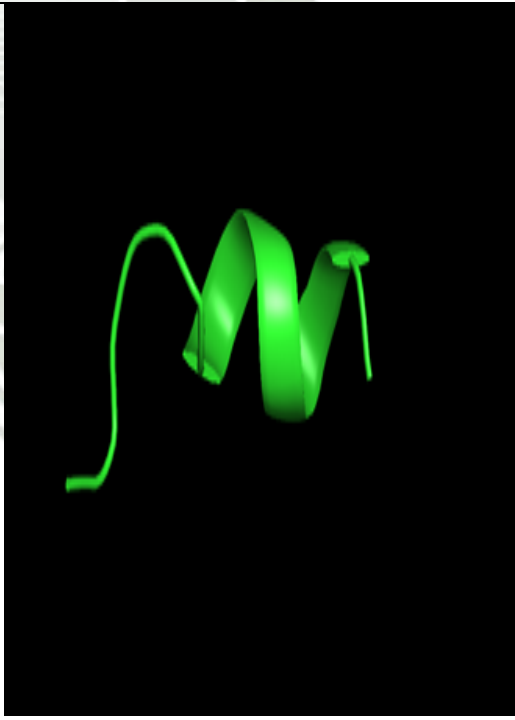
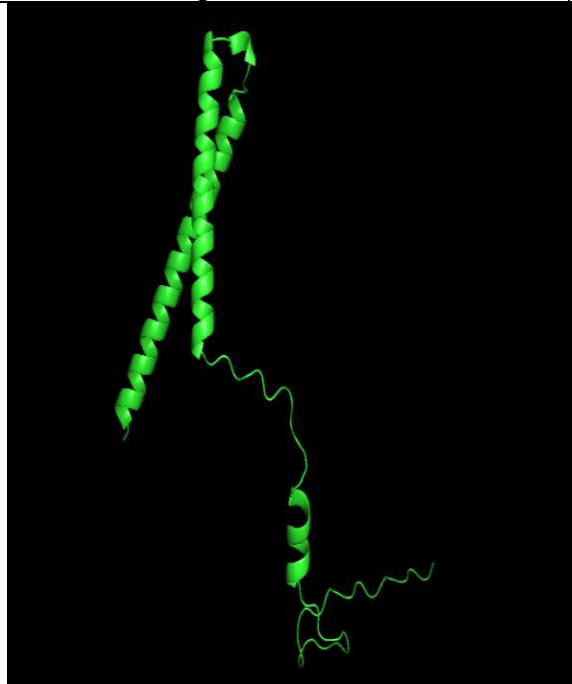
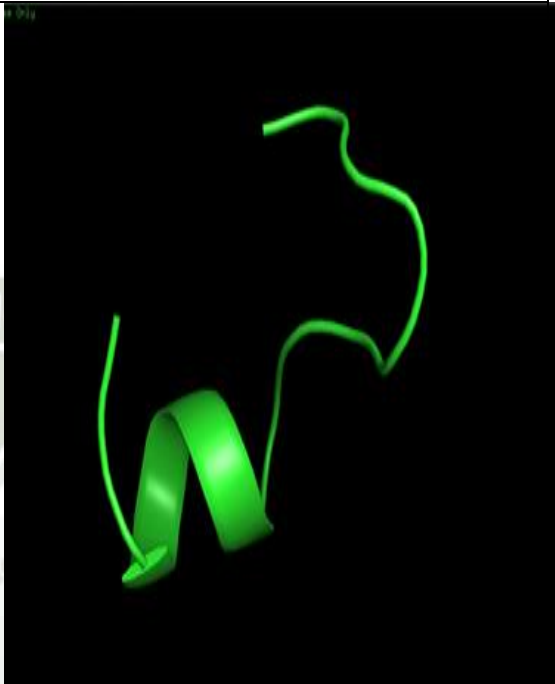
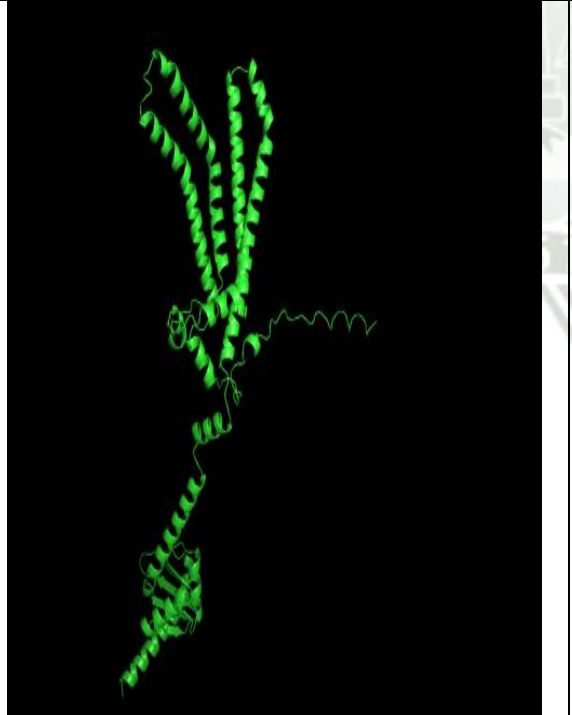
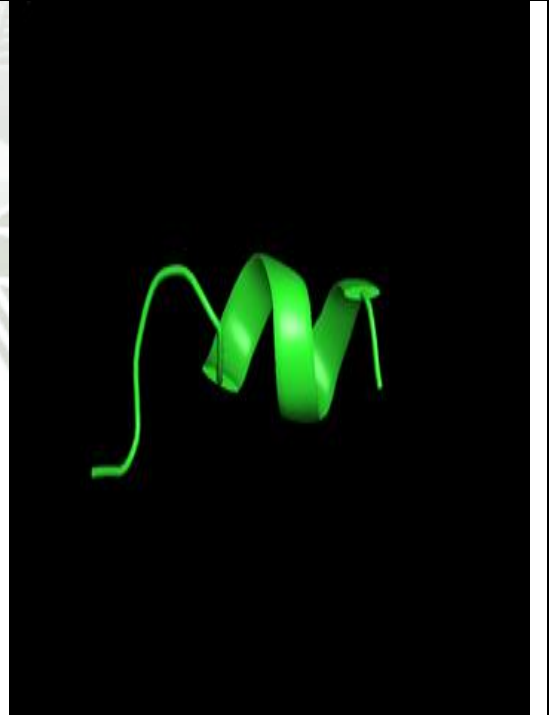
Treponema medium	
Proteína	Epítipo
flagellar hook-basal body complex protein FliE	DNFRSRMVSDT
	
flagellar biosynthesis protein FlhB	DNFRSRMVSDT
	

Tabla 18
Modelado 3D de proteína y epítipo para *Treponema lecithinolyticum*]

Treponema lecithinolyticum]	
Proteína	Epítipo
flagellar hook-basal body complex protein FliE	DNFRSRMVSDT
	
flagellar biosynthesis protein FlhB	DNFRSRMVSDT
	

1.1.1.5 Diseño y elaboración de Vacunas:

El diseño y la elaboración de la vacuna se hizo sintetizando todos los epítomos de los factores de virulencia, debidamente testeados y agrupados en dos categorías, periodonto patógeno establecidos y los periodontos patógenos emergentes.

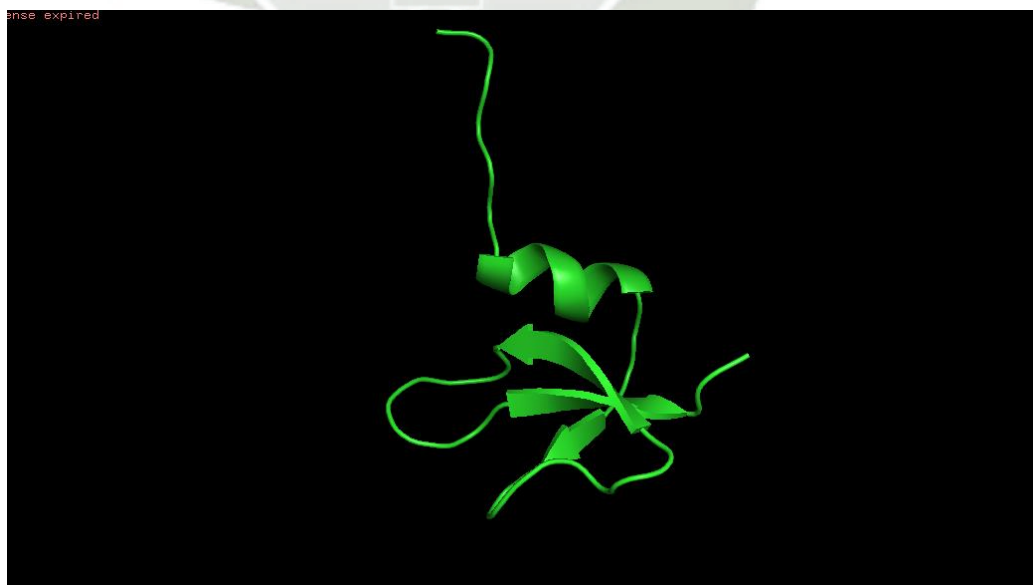
Posteriormente, con ambos grupos, se realizará el diseño de la vacuna, que implica la unión de los epítomos obtenidos a una molécula transportadora, la misma que convertirá al epítomos en un inmunógeno, confiriéndole la capacidad de siempre generar una respuesta inmune.

La unión entre la molécula transportadora y los epítomos se hizo por medio de un linker, que es una molécula que sirve como factor de unión entre algunos elementos; el linker tiene como función unir los epítomos con la molécula transportadora, pero también la de unir a los epítomos entre sí.

1.1.1.5.1 Molécula transportadora o transportador coadyuvante

GIINTLQKYYCRVRGGRC AVL SCLPK EEQIGKCSTRGRKCCRRKK

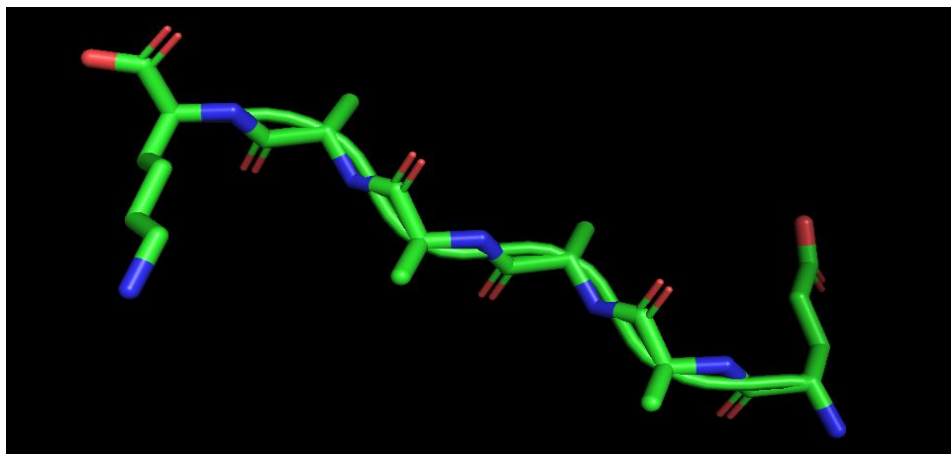
Imagen 204
Molécula coadyuvante o carrier



1.1.1.5.2 Linker

EAAAAK

Imagen 205
Molécula de unión o linker



1.1.1.5.3 Epítopos Periodontopatógenos Establecidos

- Porphyromonas gingivalis: LYFLGYKDS - AGNNYYGYD
- tannerella forsythia: YQGQNPTFDFTNK - GGIHVISPKI
- Treponema denticola: DNFRSRMVSDT - LQWFAAEDEGRTE

1.1.1.5.4 Epítopos Periodontopatógenos Emergentes:

- Porphyromona endodontalis: LYFLGYKDS - AGNNYYGYD
- Treponema lecithinolyticum: DNFRSRMVSDT - LQWFAAEDEGRTE
 - Treponema edium: DNFRSRMVSDT - LQWFAAEDEGRTE
 - Treponema vincentii: DNFRSRMVSDT - LQWFAAEDEGRTE
 - Anaeroglobus geminatus: EKPVHLTVVPY - LDYVTLFVFEWGLSGAA
 - Selenomonas sputigena: ASVDAADA - AKIDERFDDK
 - Fretibacterium fastidiosum: PRMKRALELS - GGATPAQGP
 - Eubacterium Saphenum: LAPENMVSR - ESHMDVIEIDAAS
 - Enterococcus Faecalis: IYILEDQIIQAK - SQILSTEPIELP
 - Mogibacterium Timidum: RKAELAQKFAV - PFHSGNTDT
 - Peptoanaerobacter stomatis: KEYRSAMTVT - ISEISVYNLSPA
 - Filifactor Alocis: KEESKKATTQKVIVN - LESIQKGDIDFIILTP

a. Diseño y elaboración de Vacuna Periodontopatógenos

Establecidos

GIINTLQKYYCRVRGGRCVLSCLPKKEQIGKCSTRGRKCCRR
KK EAAAAK LYFLGYKDS EAAAAK AGNNYYGYD EAAAAK
DNFRSRMVSDT EAAAAK LQWFAAEDEGRTE EAAAAK
YQGQNPTFDFTNK EAAAAK GGIHVISPKI

Imagen 206
Plegado de vacuna para PP establecidos

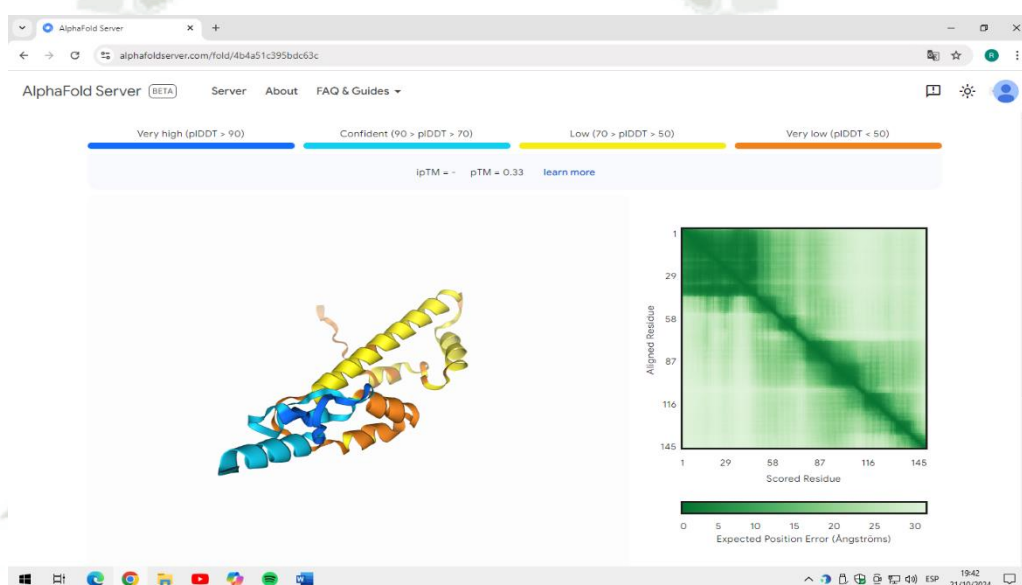
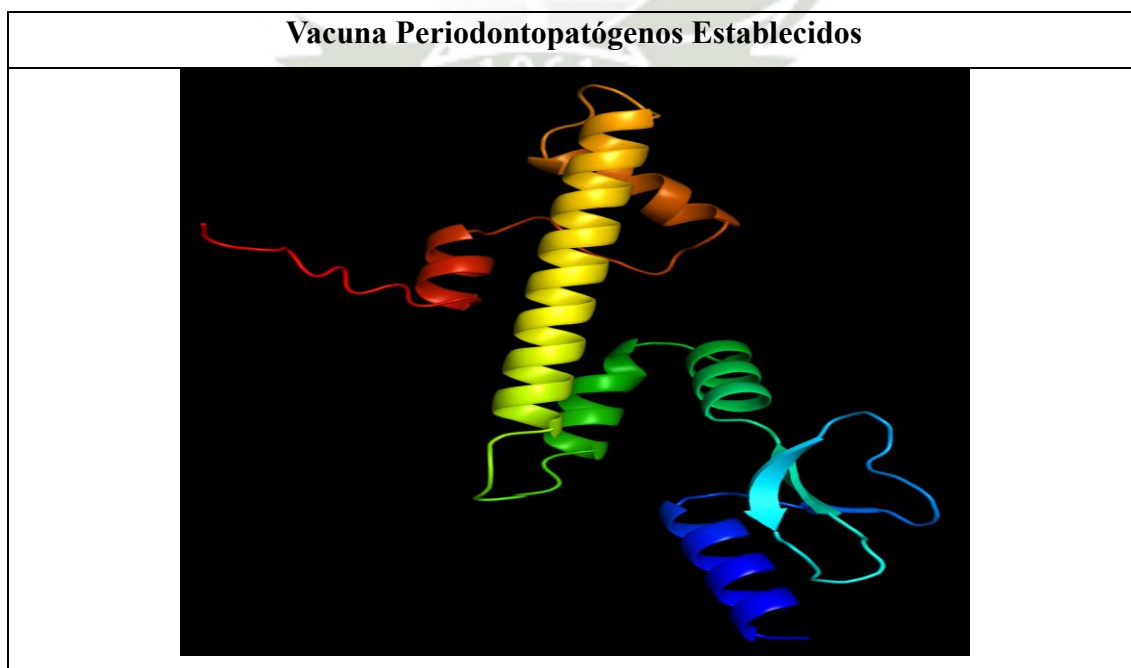


Tabla 19
Modelado 3D de vacuna para PP establecidos



b. Diseño y elaboración de Vacuna Periodontopatógenos

Emergentes:

GIINTLQKYYCRVRGGRCVLSCLPKEEQIGKCSTRGRKCCRR
 KK EAAAAK LYFLGYKDS EAAAAK AGNNYYGYD EAAAAK
 DNFRSRMVSDT EAAAAK LQWFAAEDEGRTE EAAAAK
 EKPVHLTVVPY EAAAAK LDYVTLFVFEWGLSGAA EAAAAK
 ASVDAADA EAAAAK AKIDERFDDK EAAAAK PRMKRALELS
 EAAAAK GGATPAQGP EAAAAK LAPENMVSR EAAAAK
 ESHMDVIEIDAAS EAAAAK IYILEDQIIQAK EAAAAK
 SQILSTIEIPL EAAAAK RKAELAQKFAV EAAAAK
 PFHSGNTDT EAAAAK KEYSAMTVT EAAAAK
 ISEISVYNLSPA EAAAAK KEESKKATTQKVIVN EAAAAK
 LESIQKGDIDFIILTP

Imagen 207
Plegado de vacuna PP emergentes

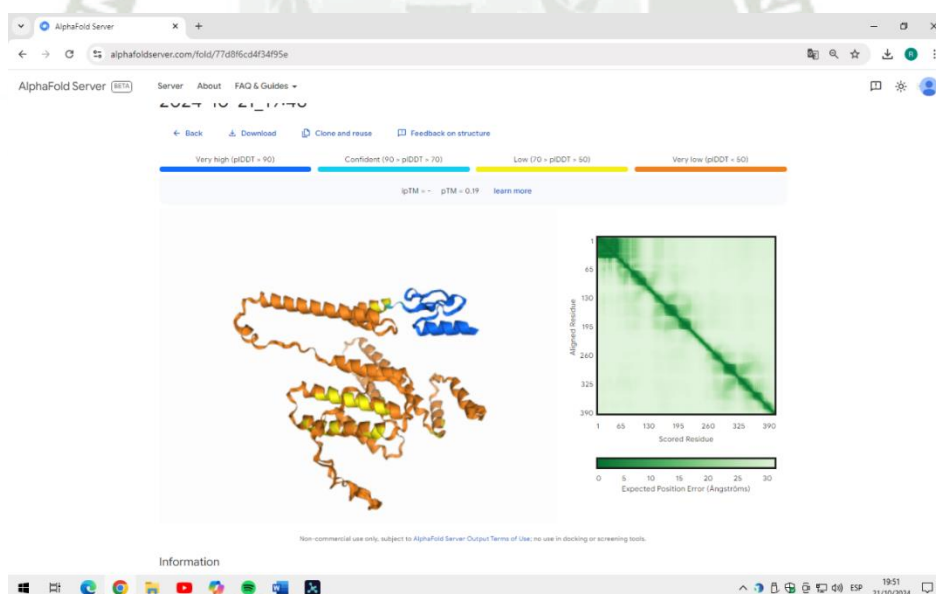
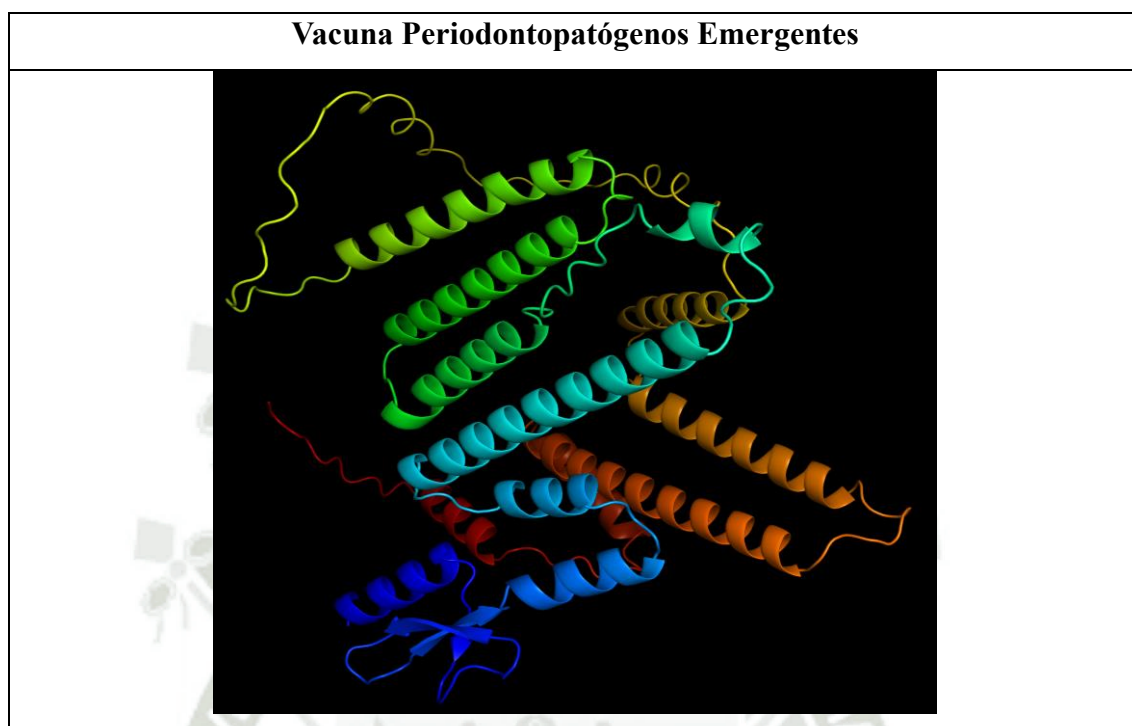


Tabla 20
Modelado 3D PP emergentes



1.1.1.6 Dinámica Molecular:

1.1.1.6.1 Doking con Receptor BCR, TLR2 y TLR4

Imagen 208

Doking de vacuna para PP emergentes con recepto TLR2

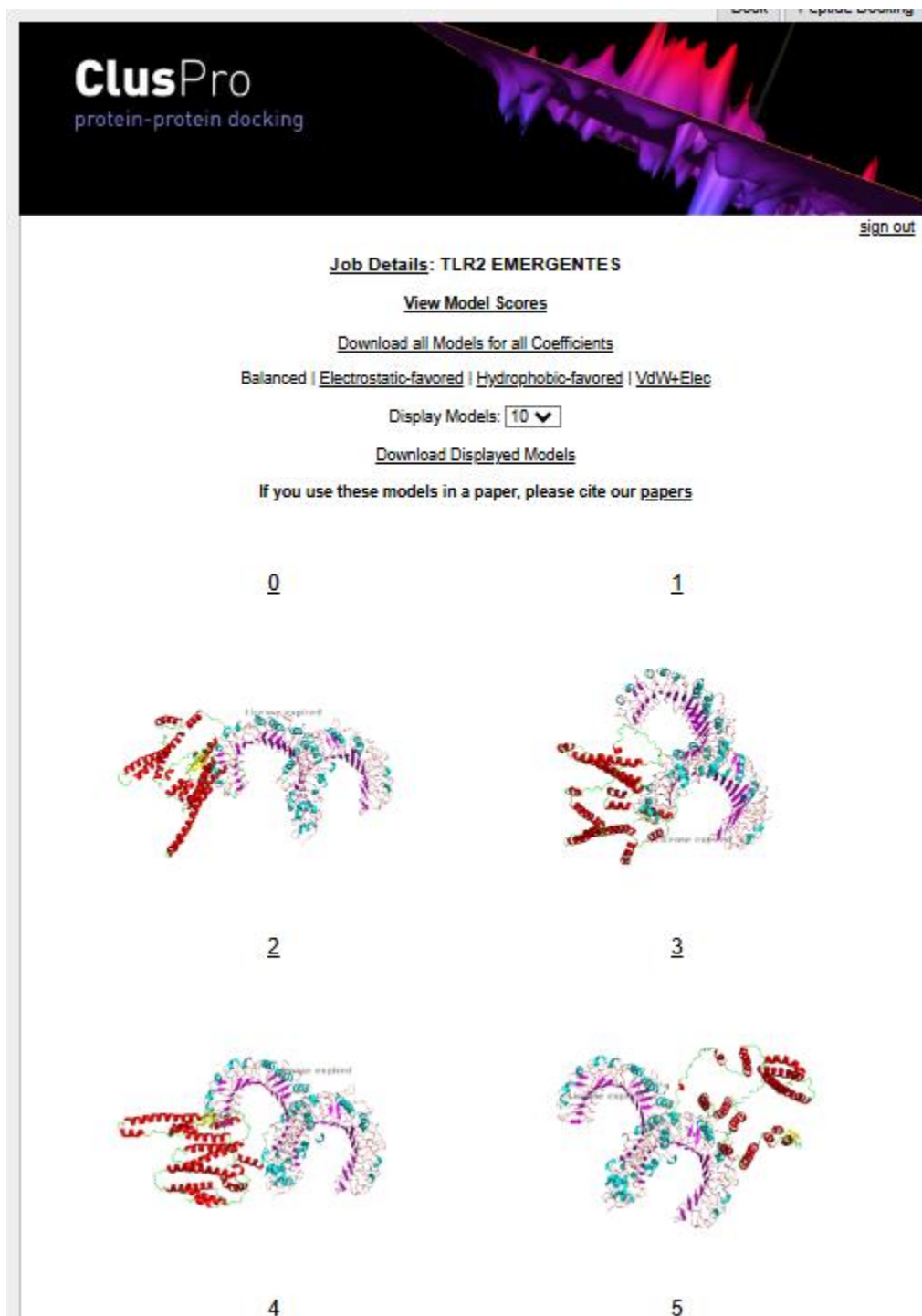


Imagen 209
Doking de vacuna para PP establecidos con recepto TLR2

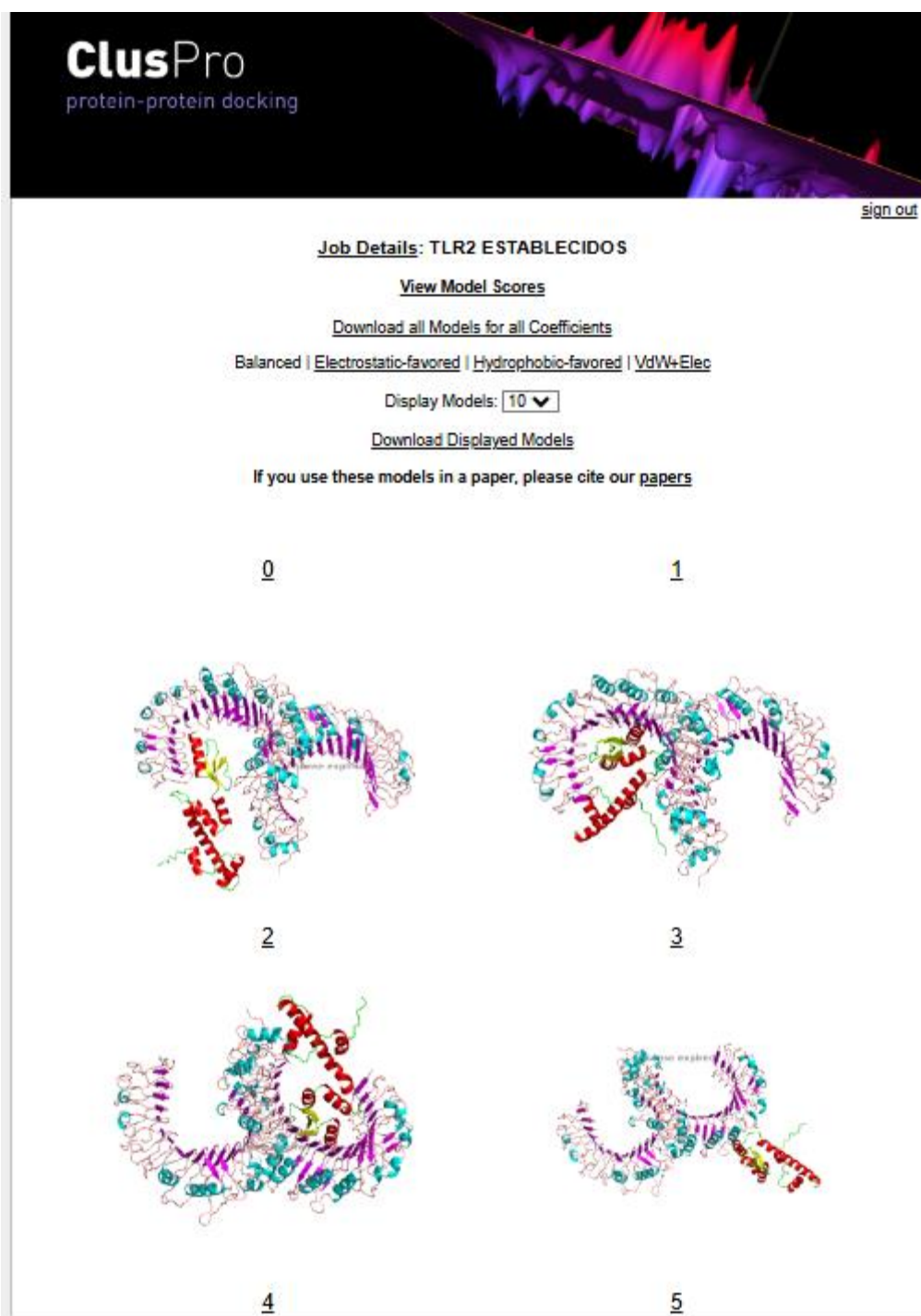


Imagen 210
Doking de vacuna para PP establecidos con recepto TLR4

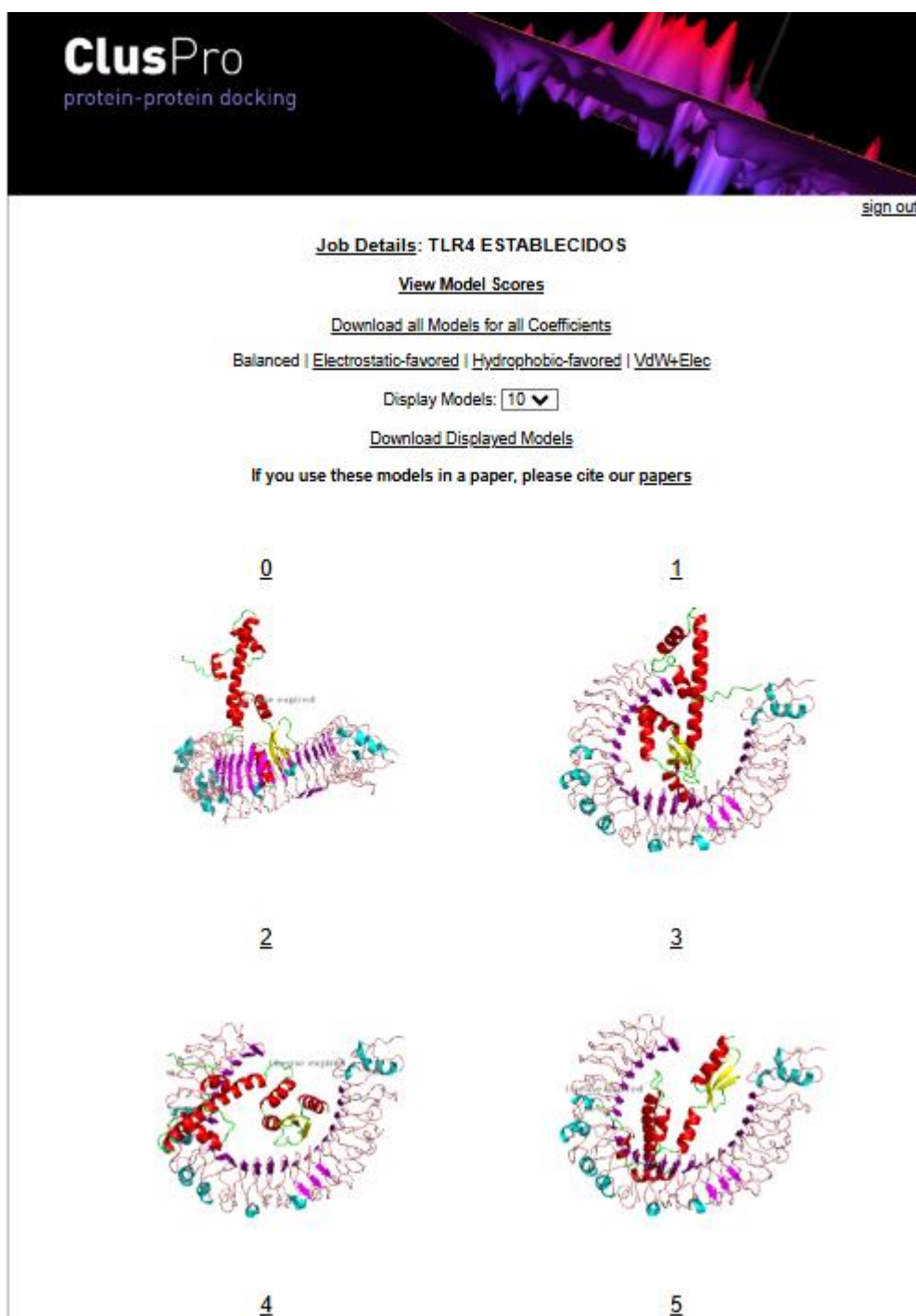


Imagen 211
Doking de vacuna para PP emergentes con recepto BCR

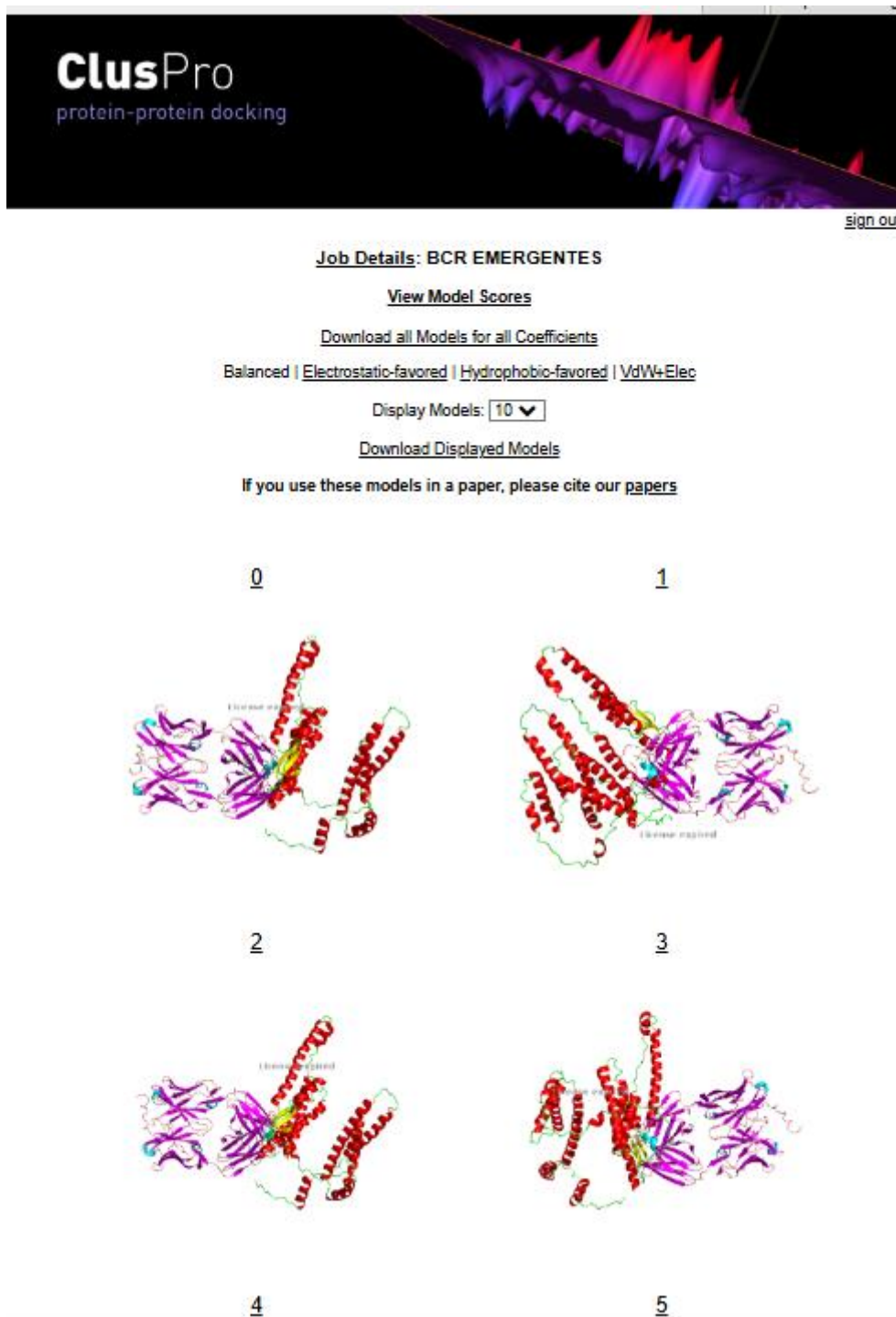


Imagen 212
Doking de vacuna para PP establecidos con recepto BCR

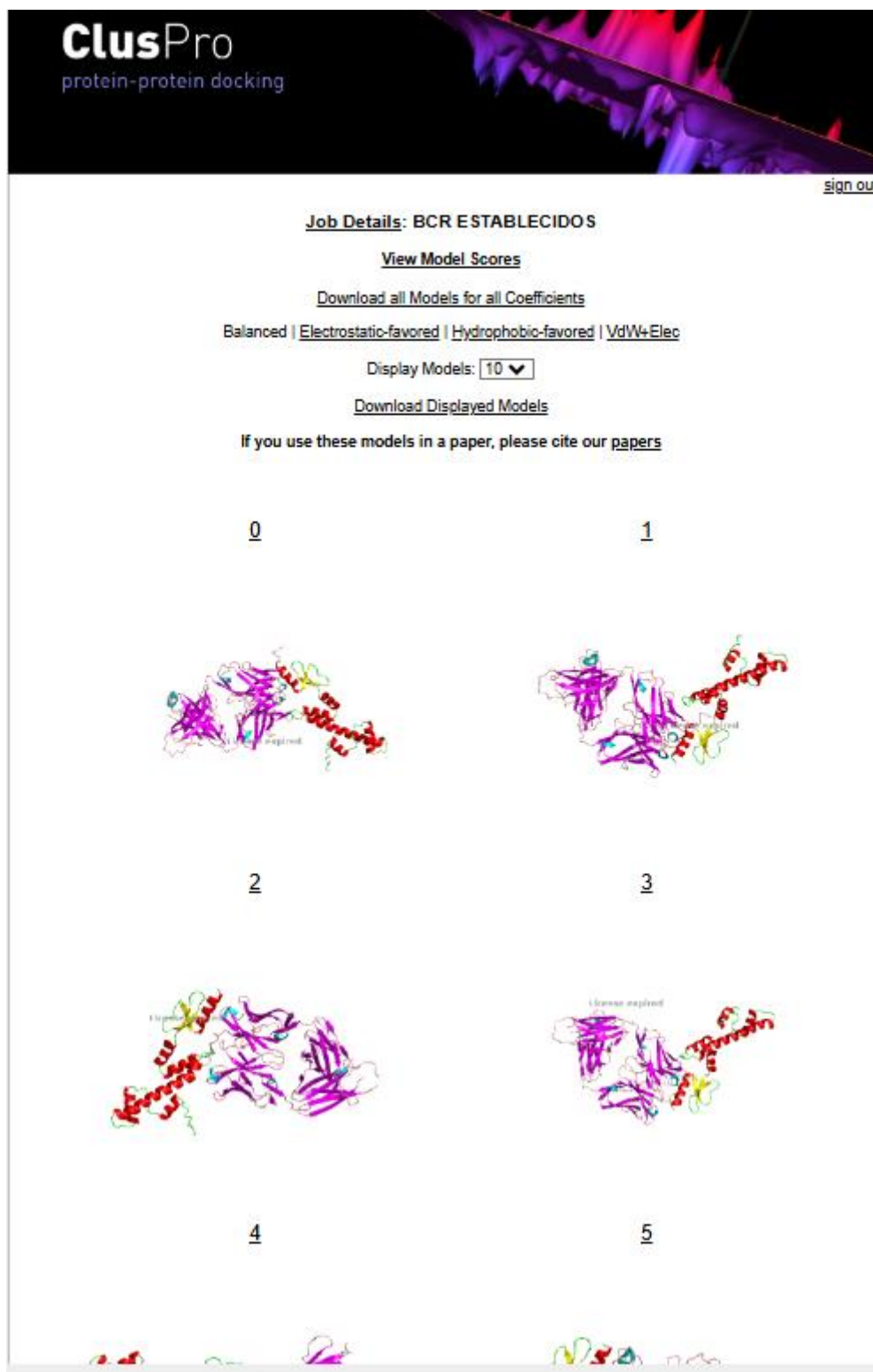


Imagen 213
Doking de vacuna para PP emergentes con recepto TLR4

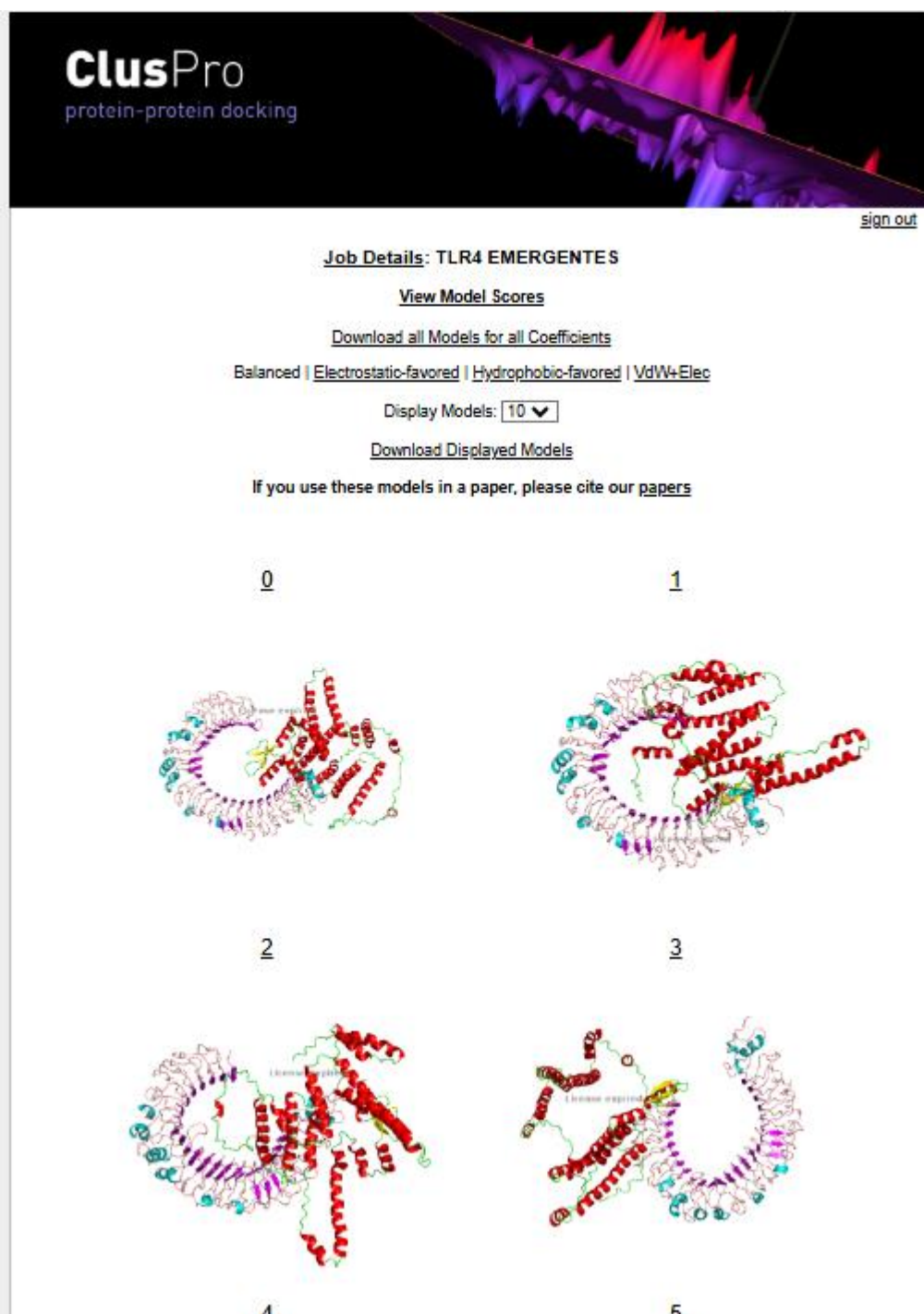


Tabla 21
Modelado 3D de Doking de vacunas con receptor BCR

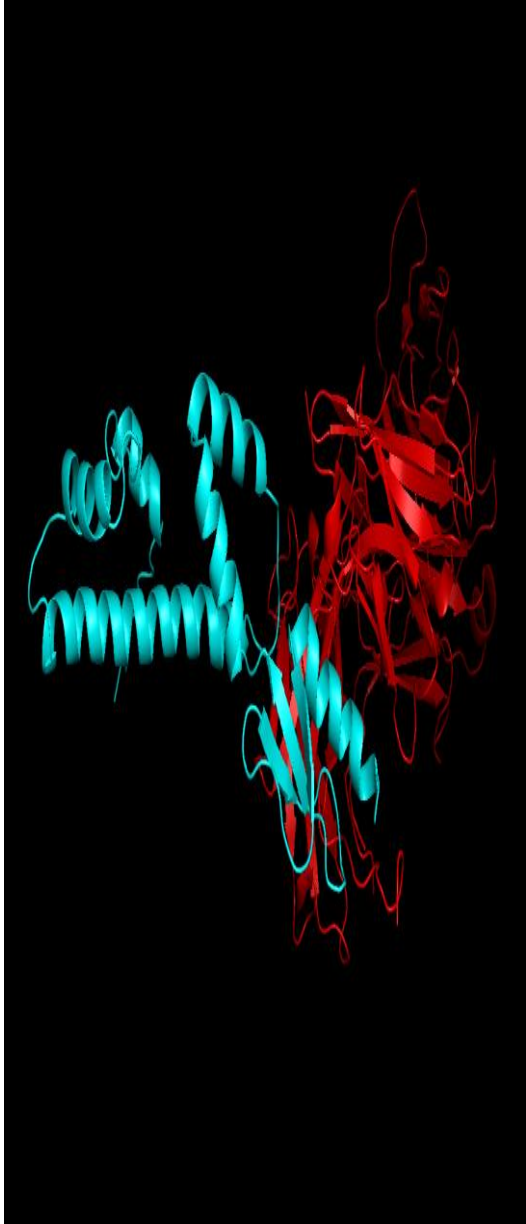
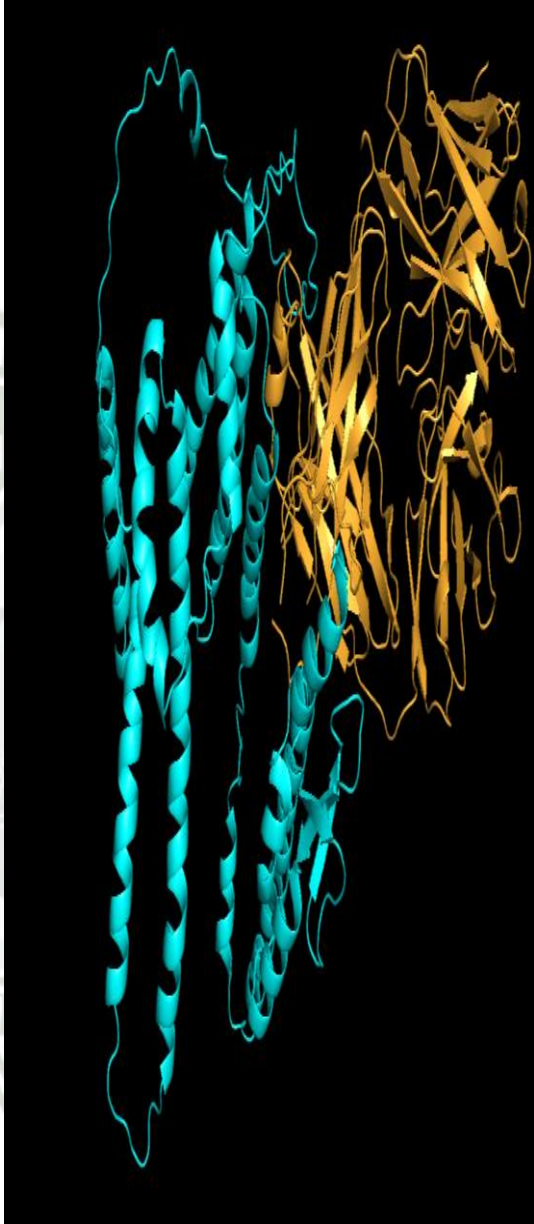
BCR	
Vacuna Pp, establecidos	Vacuna Pp. Emergentes
	

Tabla 22
Modelado 3D de Doking de vacunas con receptor TLR2

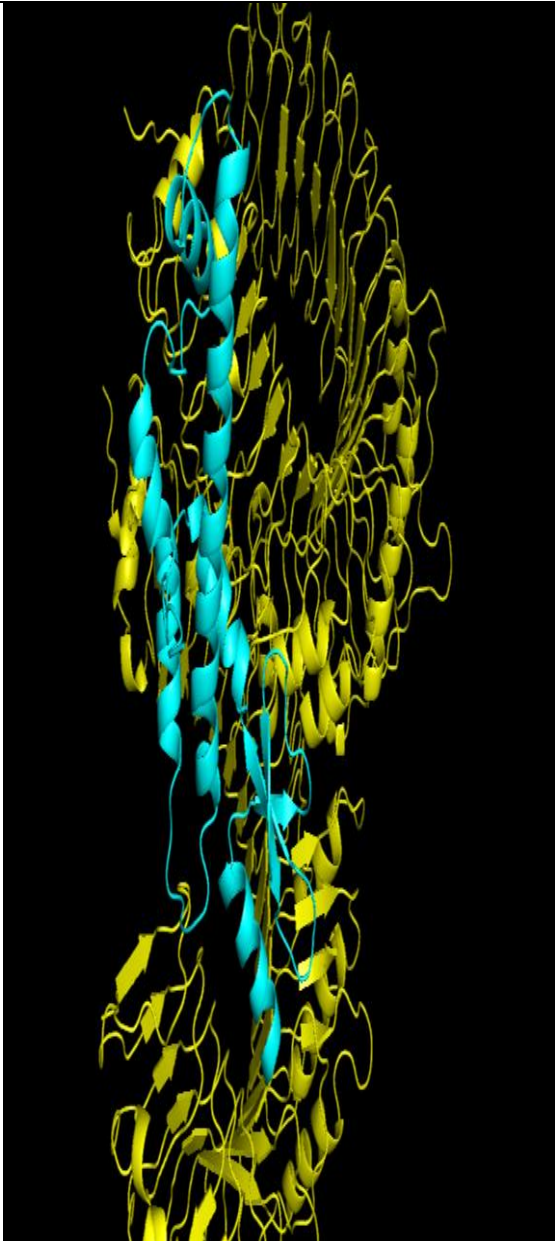
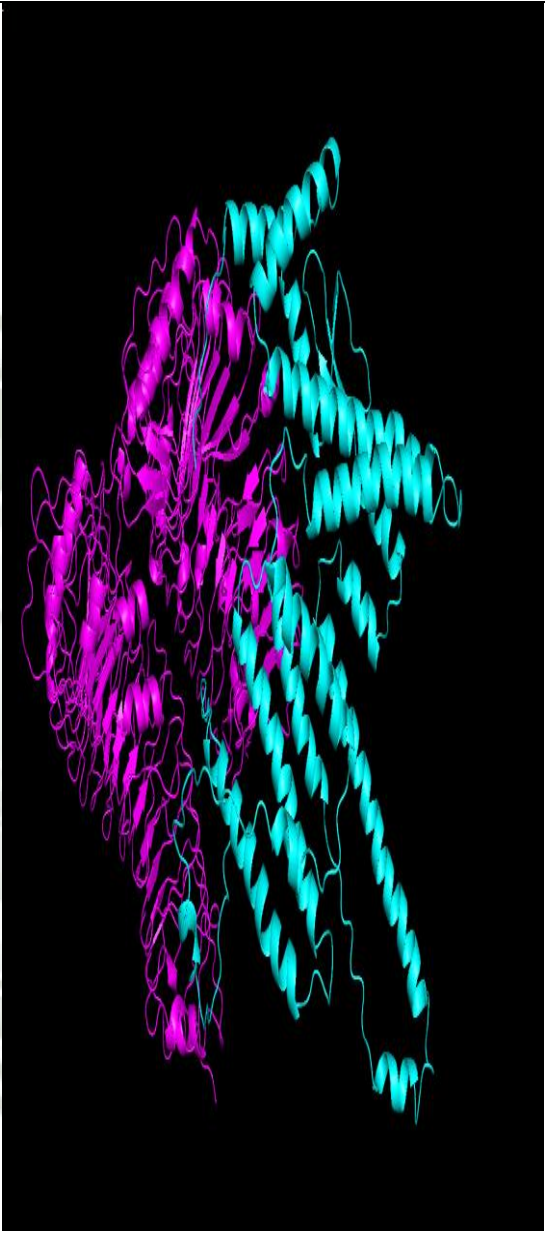
TLR2	
Vacuna Pp, establecidos	Vacuna Pp. Emergentes
	

Tabla 23
Modelado 3D de Doking de vacunas con receptor TLR4

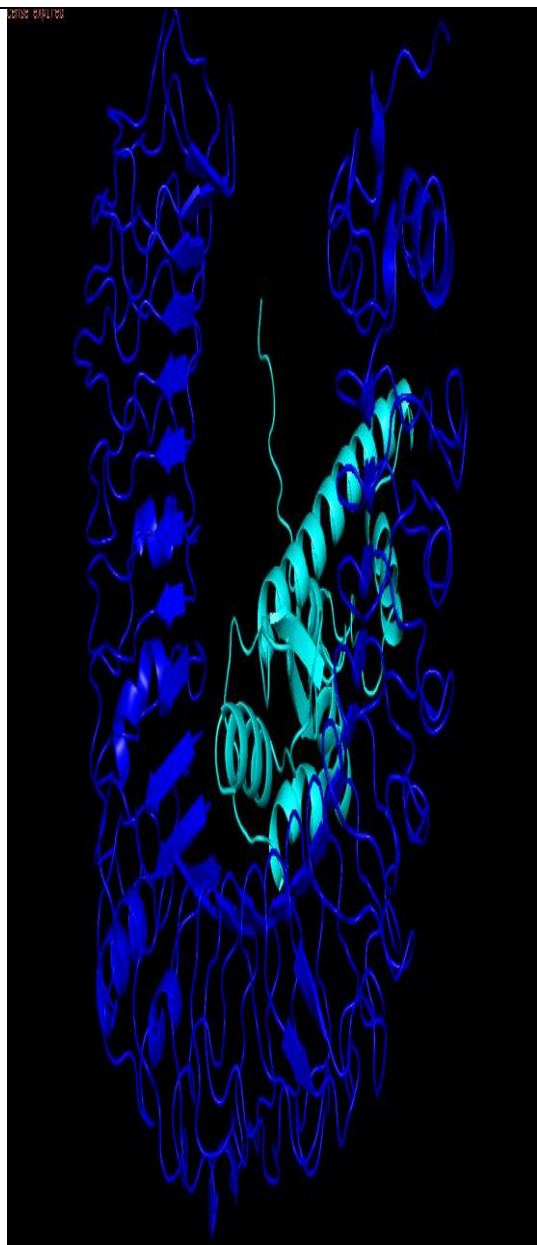
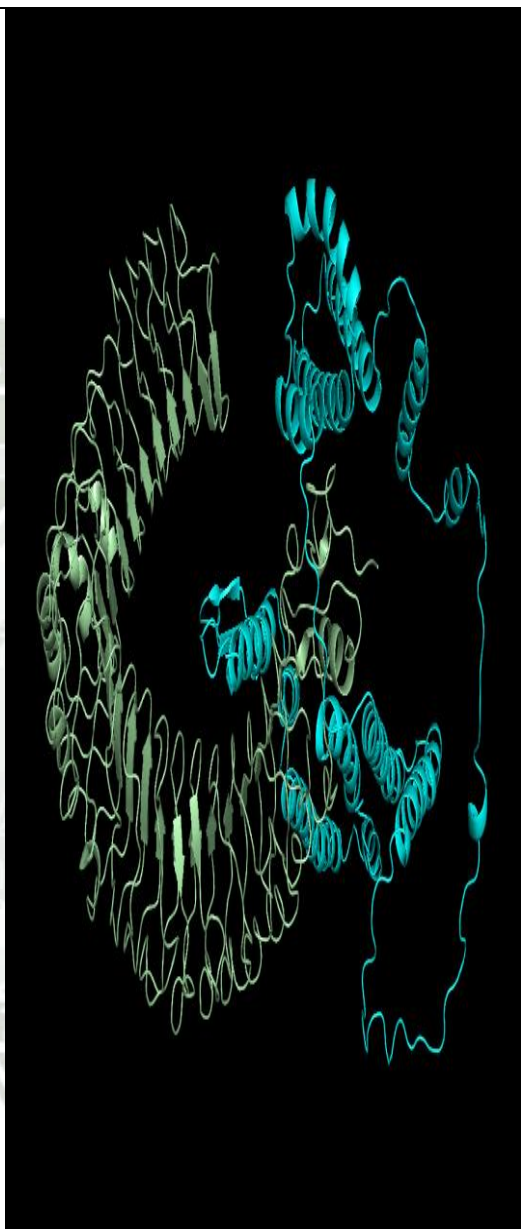
TLR4	
Vacuna Pp, establecidos	Vacuna Pp. Emergentes
	

Imagen 214

Doking vacuna PP emergentes con receptor BCR sometido a iMod Server

BCR – Vacuna Pp Emergentes

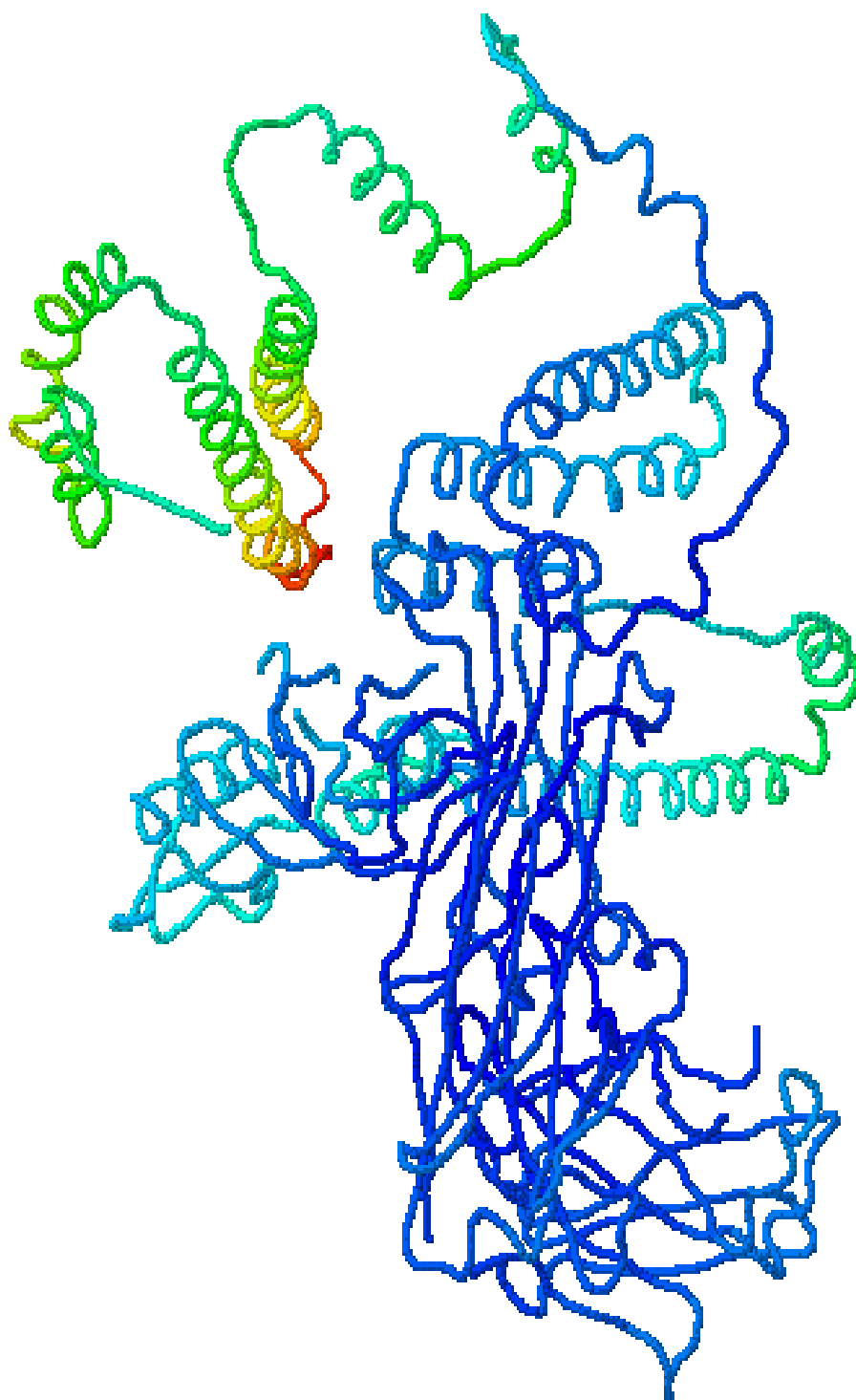


Imagen 215
Farmacocinética de vacuna PP emergentes con receptor BCR

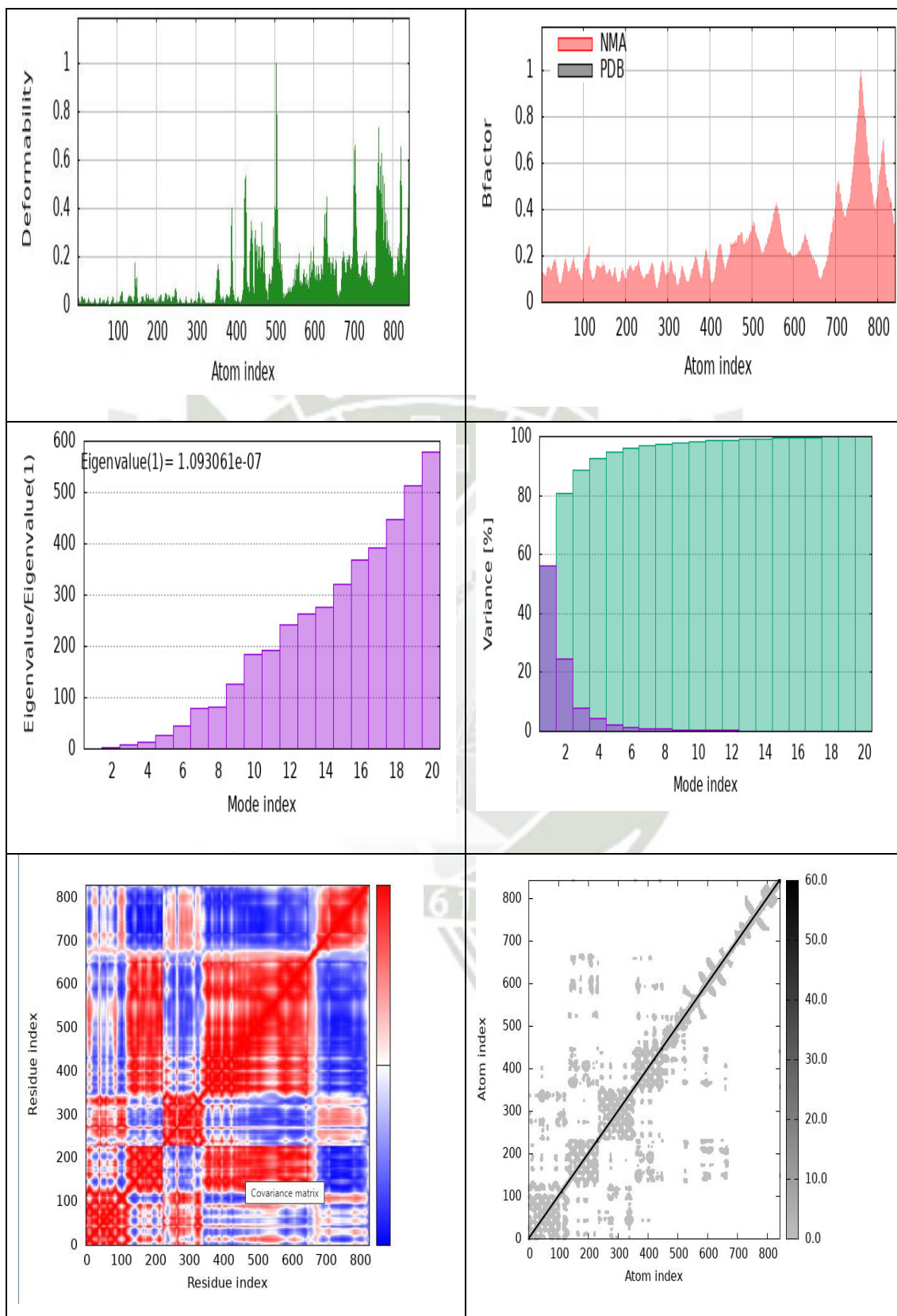


Imagen 216

Doking vacuna PP establecidos con receptor BCR sometido a iMod Server

BCR – Vacuna Pp establecidos



J

Imagen 217
Farmacocinética de vacuna PP establecidos con receptor BCR

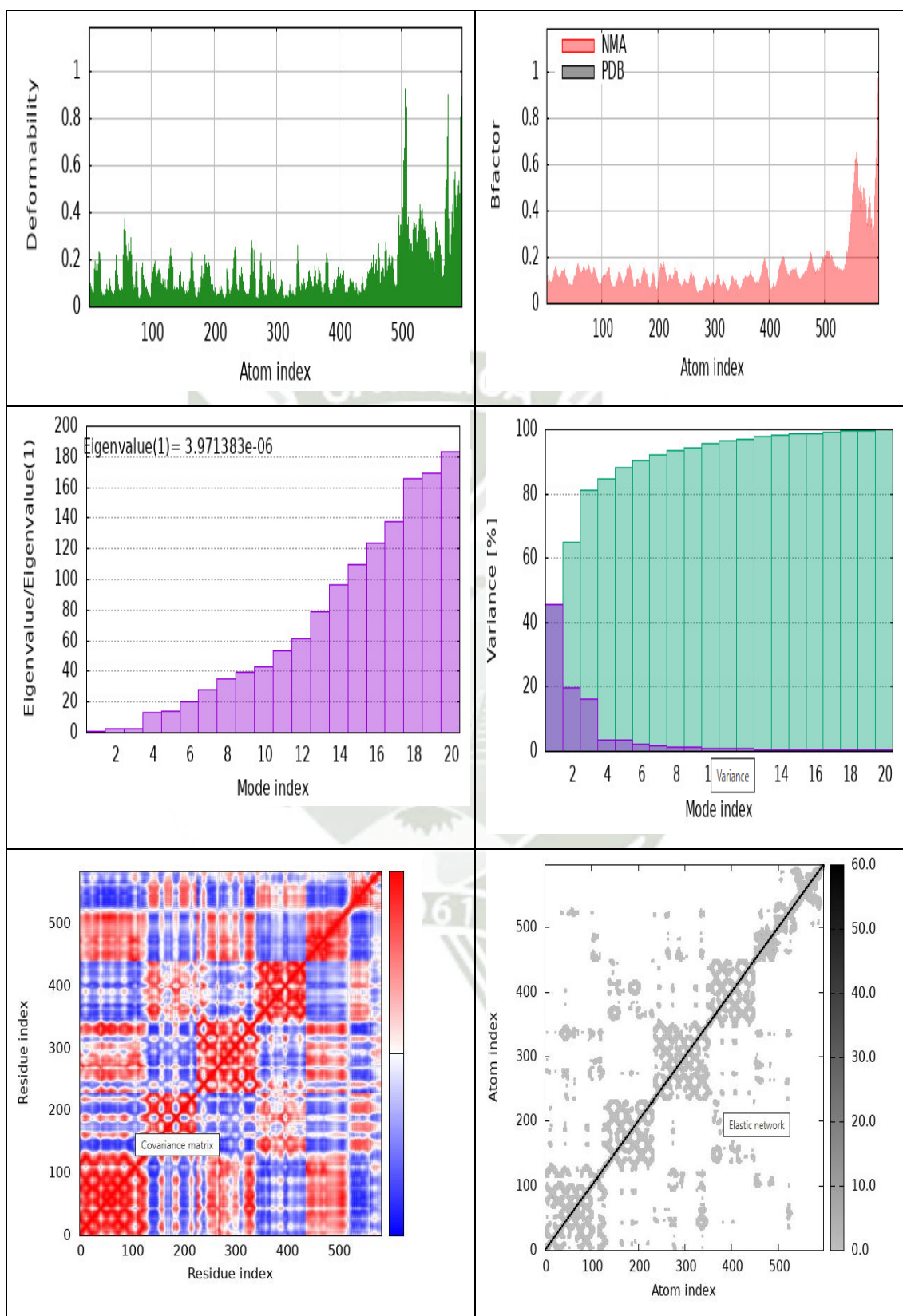


Imagen 218

Doking vacuna PP emergentes con receptor TLR2 sometido a iMod Server

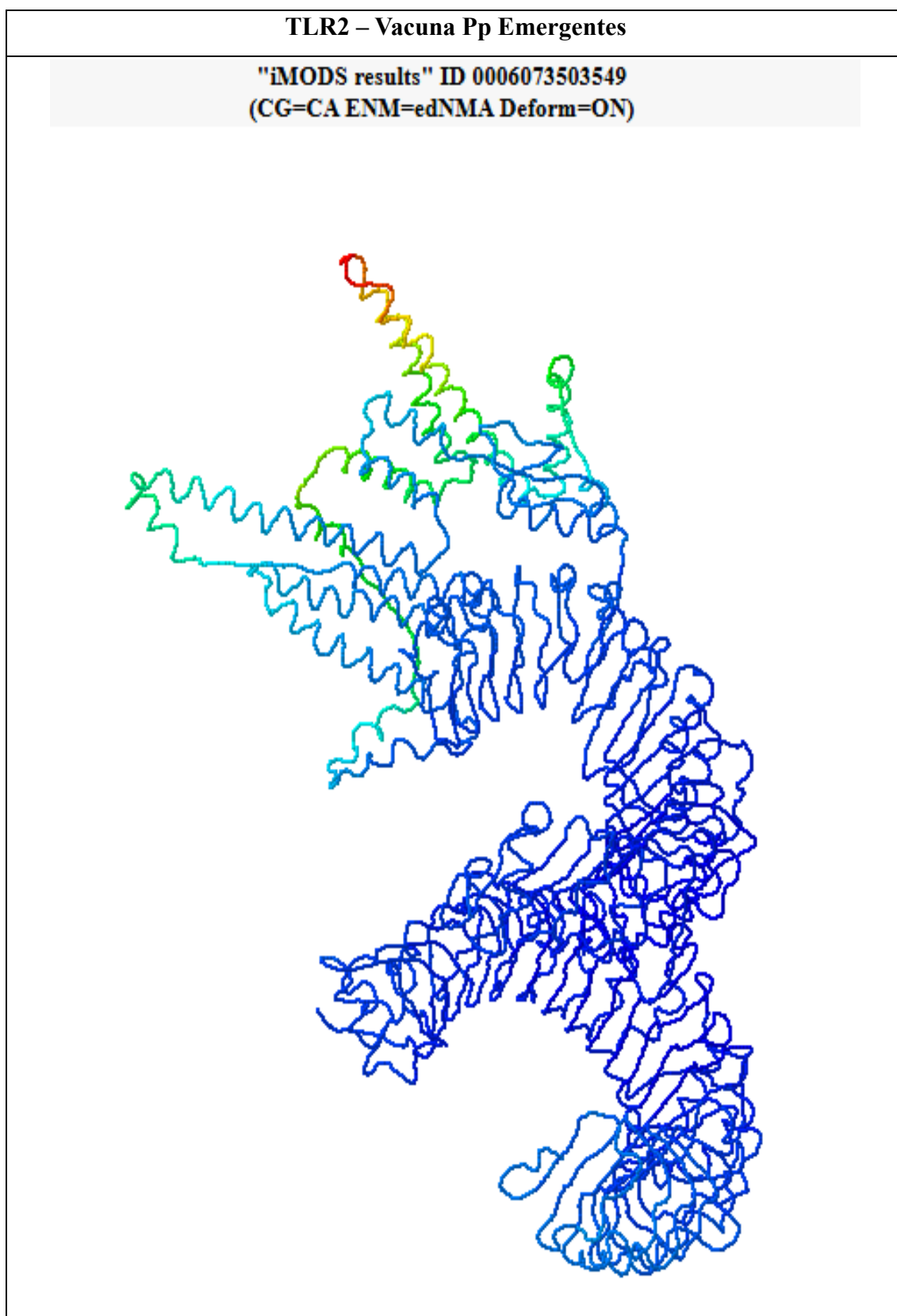


Imagen 219
Farmacocinética de vacuna PP emergentes con receptor TLR2

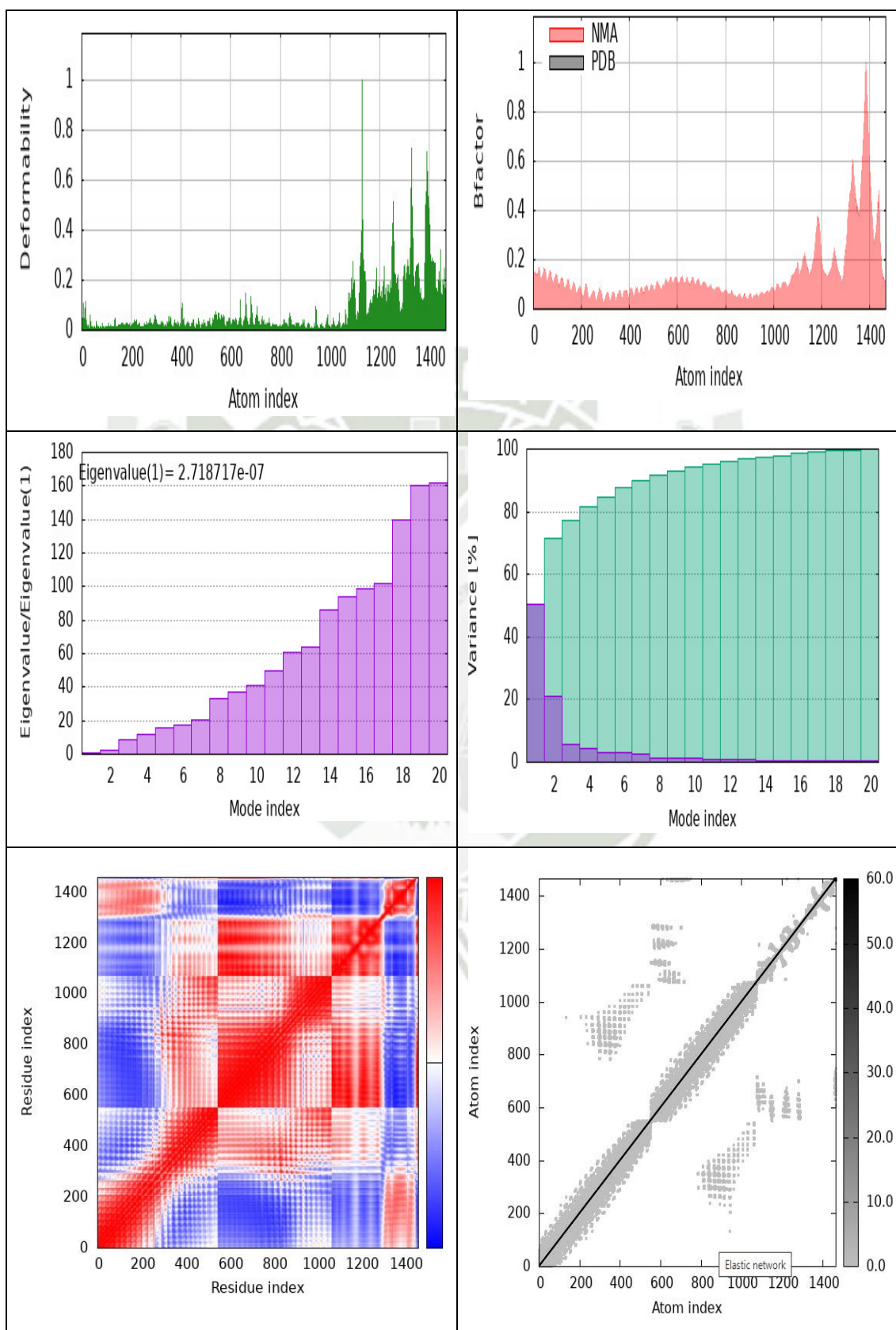


Imagen 220

Doking vacuna PP establecidos con receptor TLR2 sometido a iMod Server

TLR2 – Vacuna Pp establecidos

"iMODS results" ID 0006074329412

(CG=CA ENM=edNMA Deform=ON)

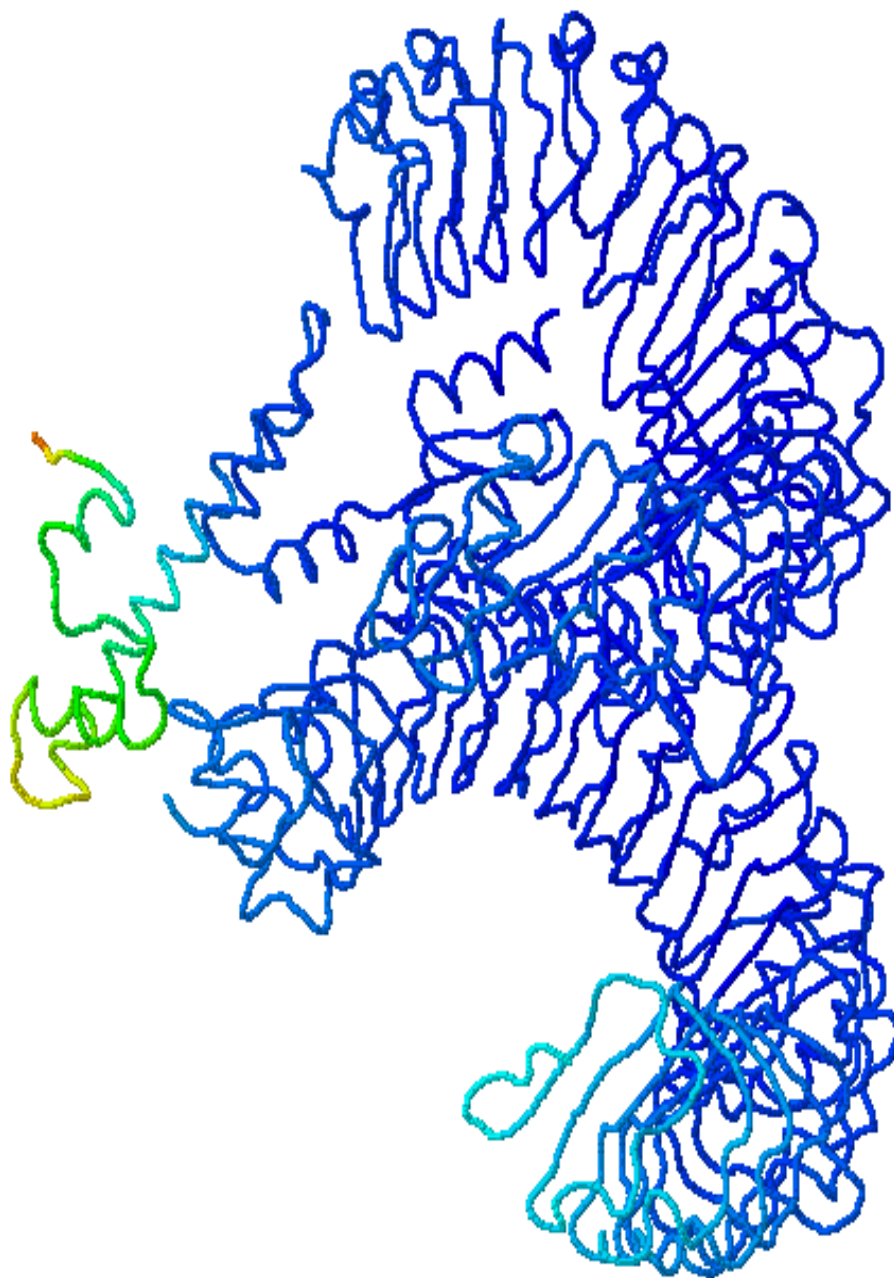


Imagen 221
Farmacocinética de vacuna PP establecidos con receptor TLR2

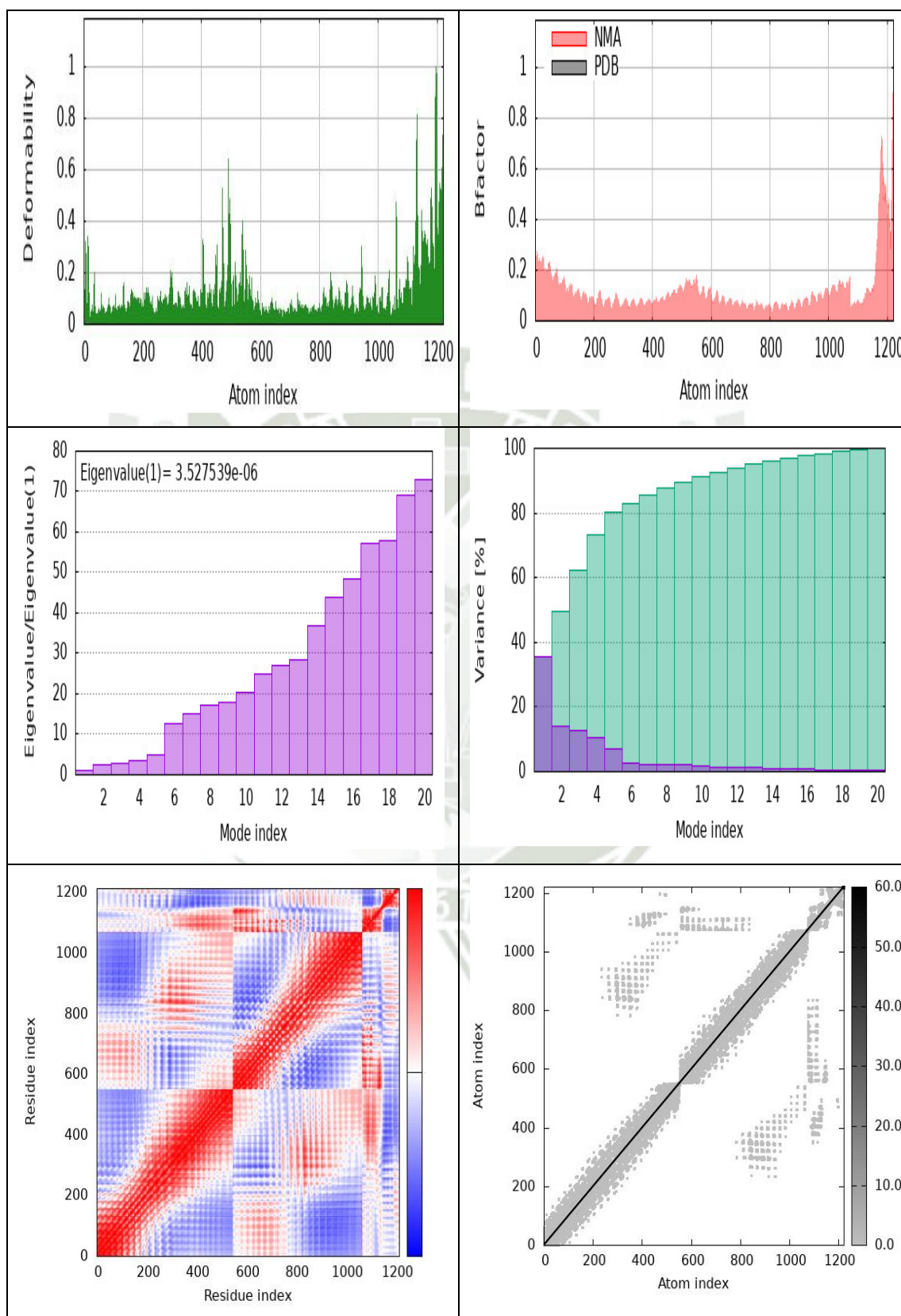


Imagen 222

Doking vacuna PP emergentes con receptor TLR4 sometido a iMod Server

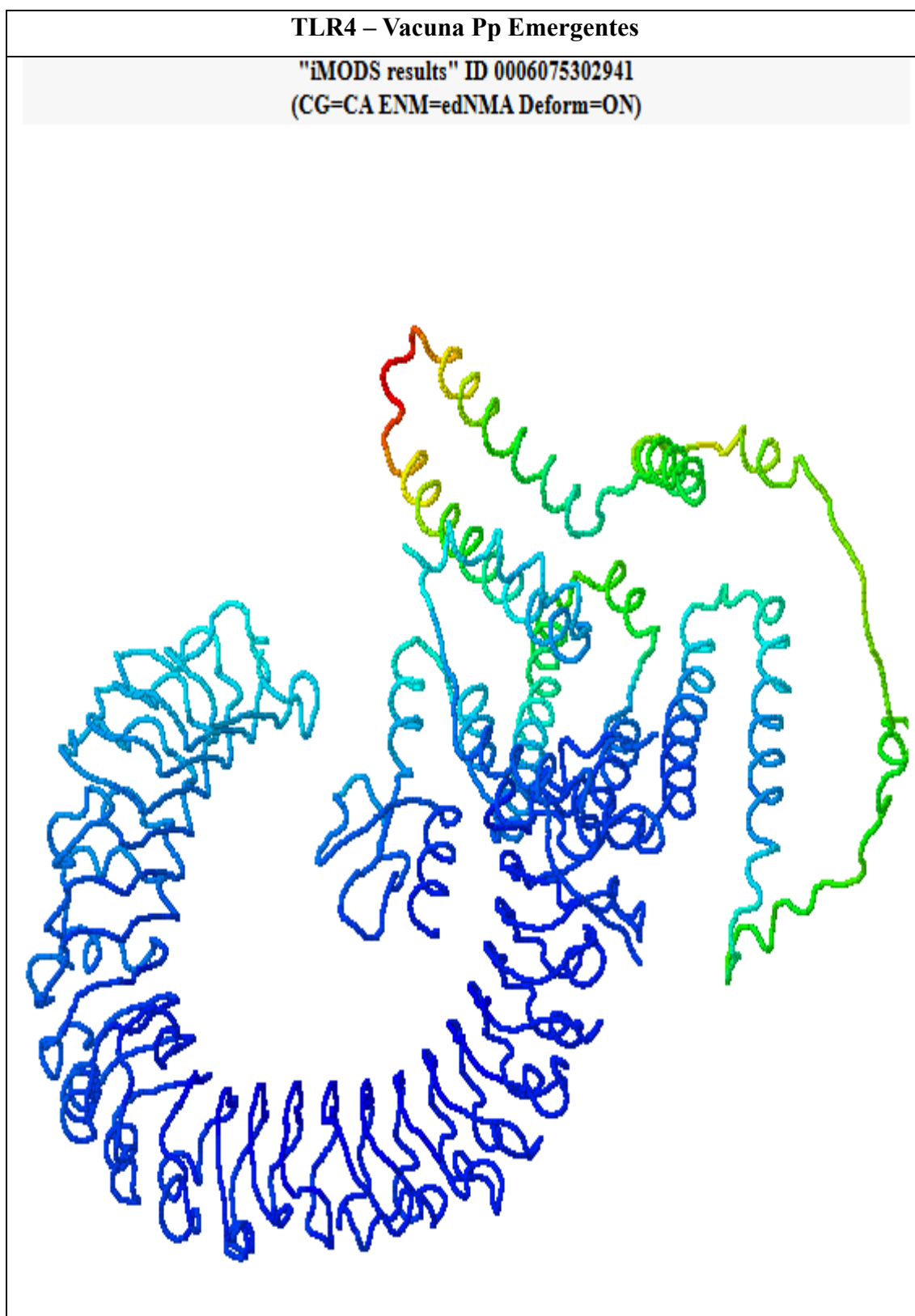


Imagen 223
Farmacocinética de vacuna PP emergentes con receptor TLR4

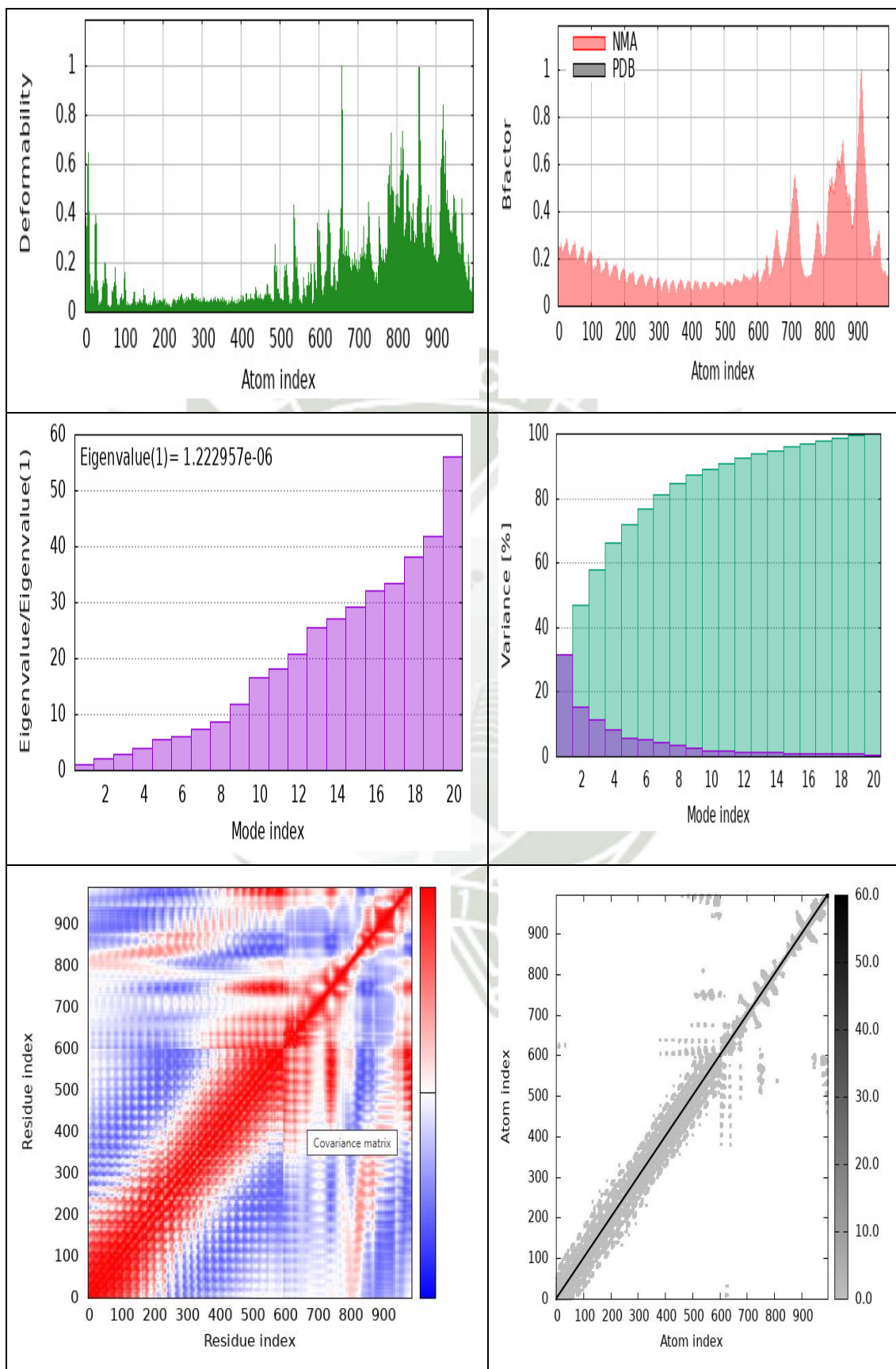


Imagen 224

Doking vacuna PP establecidos con receptor TLR4 sometido a iMod Server

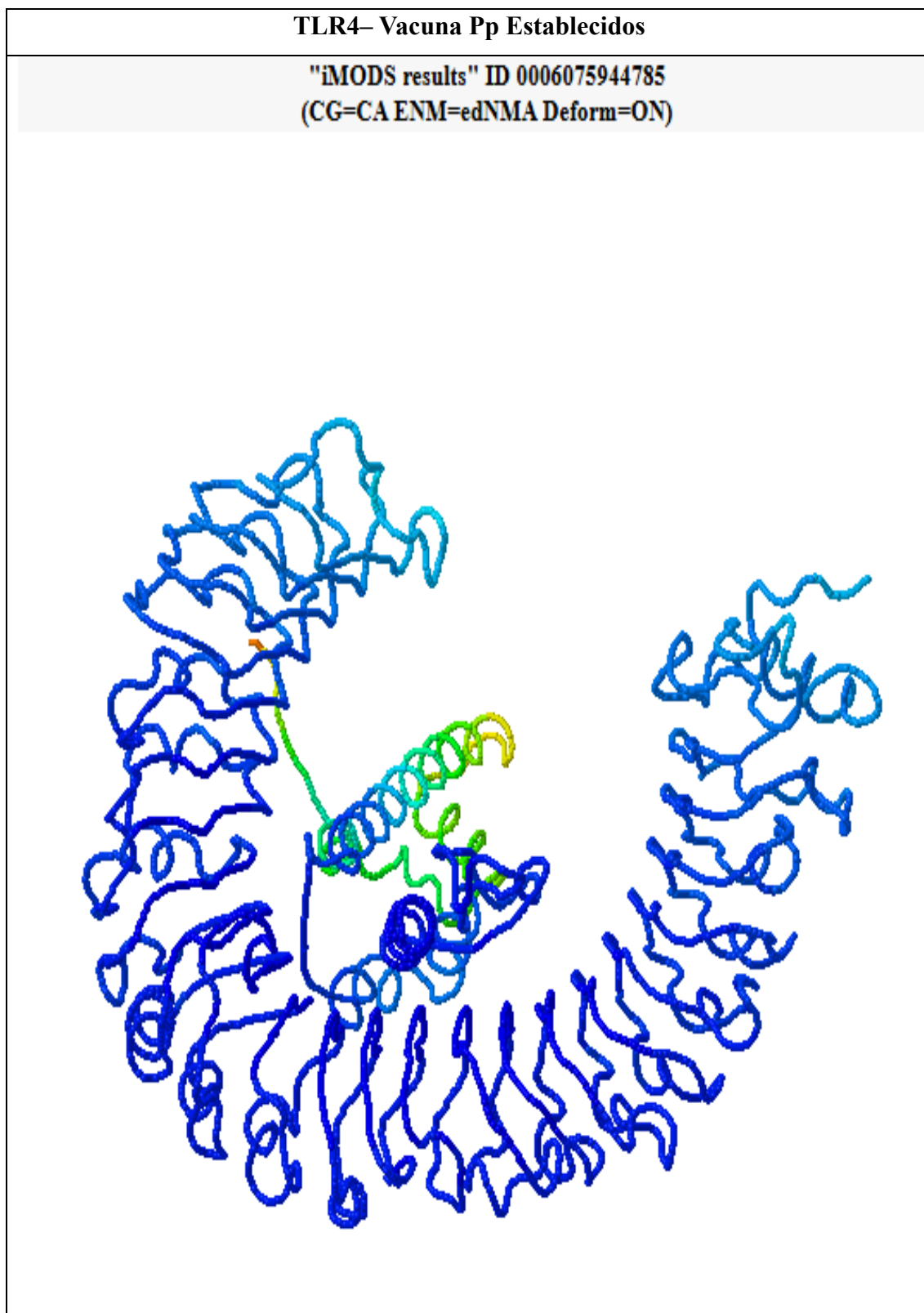
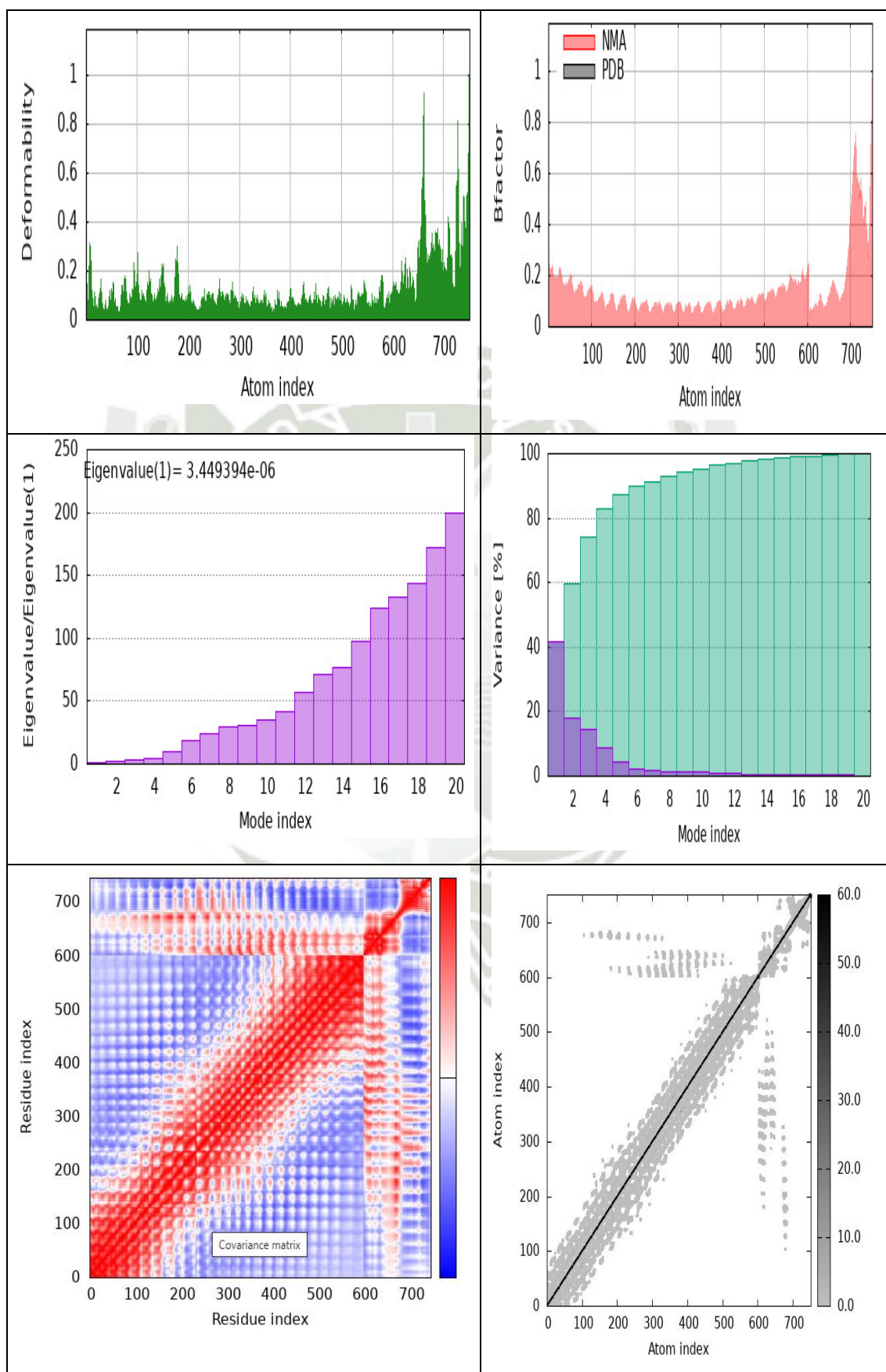


Imagen 225
Farmacocinética de vacuna PP establecidos con receptor TLR4

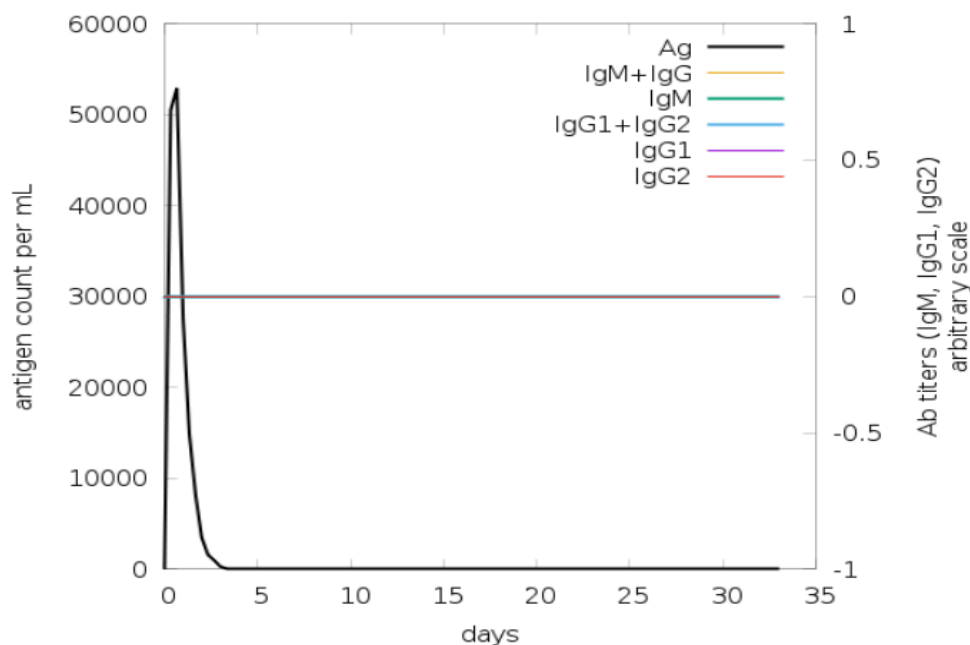


1.1.1.7 Predicciones periodontopatógenos

1.1.1.7.1 Establecidos:

Imagen 226

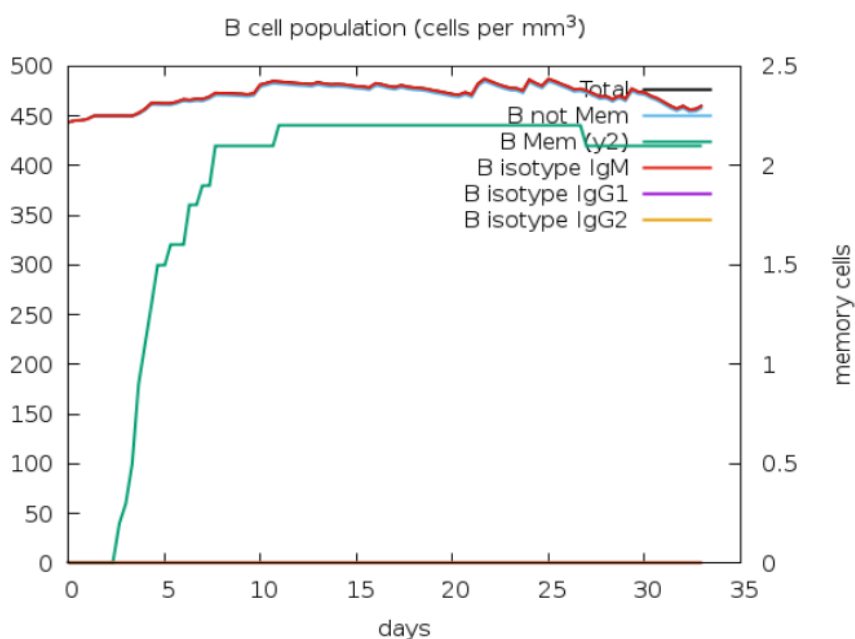
Farmacodinámica de vacuna PP establecidos para Antígenos e inmunoglobulinas



Antigen and immunoglobulins. Antibodies are sub-divided per isotype.

Imagen 227

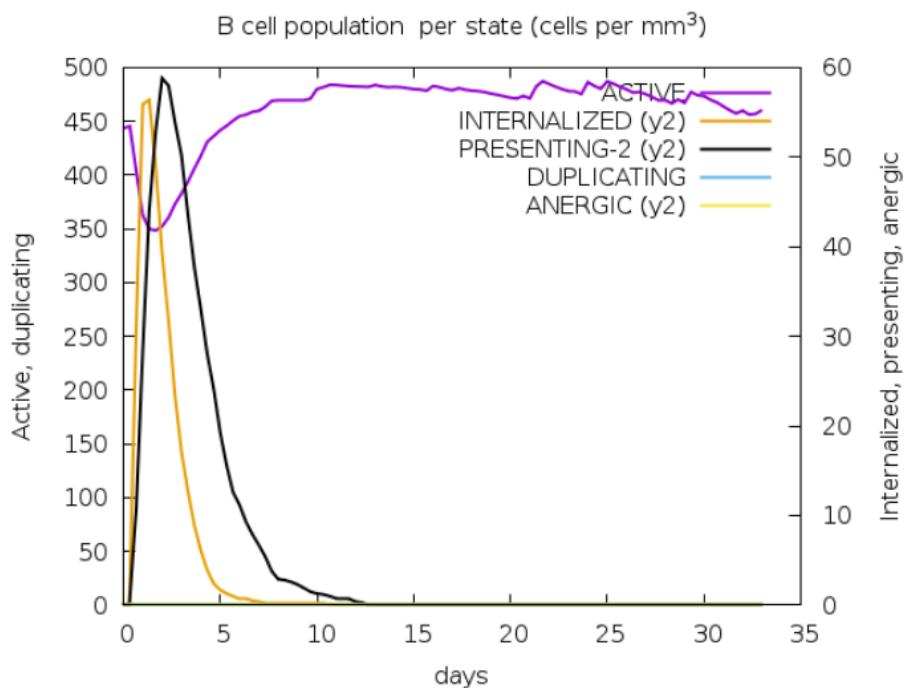
Farmacodinámica de vacuna PP establecidos para Linfocitos B de memoria



B lymphocytes: total count, memory cells, and sub-divided in isotypes IgM, IgG1 and IgG2.

Imagen 228

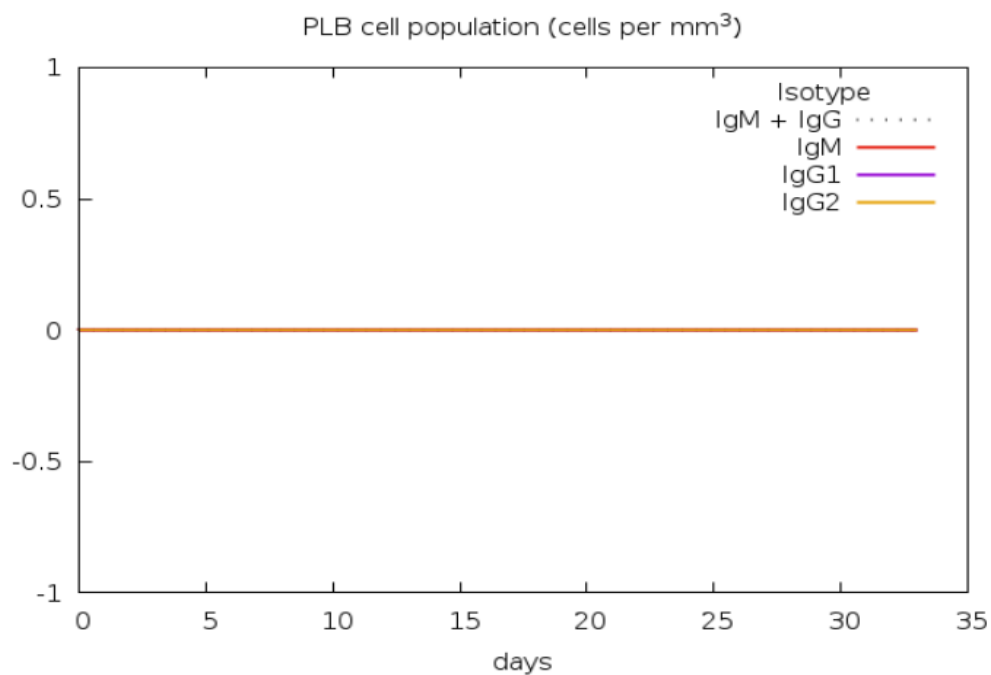
Farmacodinámica de vacuna PP establecidos para poblaciones de linfocitos B



B lymphocytes population per entity-state (i.e., showing counts for active, presenting on class-II, internalized the Ag, duplicating and anergic).

Imagen 229

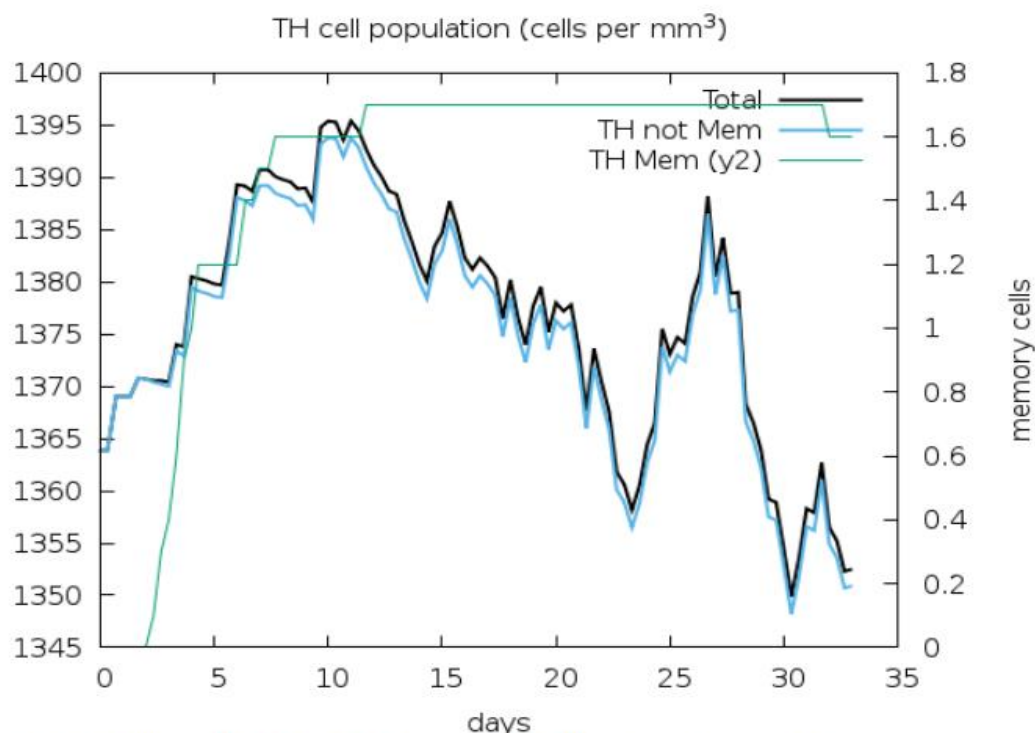
Farmacodinámica de vacuna PP establecidos para células plasmáticas



Plasma B lymphocytes count sub-divided per isotype (IgM, IgG1 and IgG2).

Imagen 230

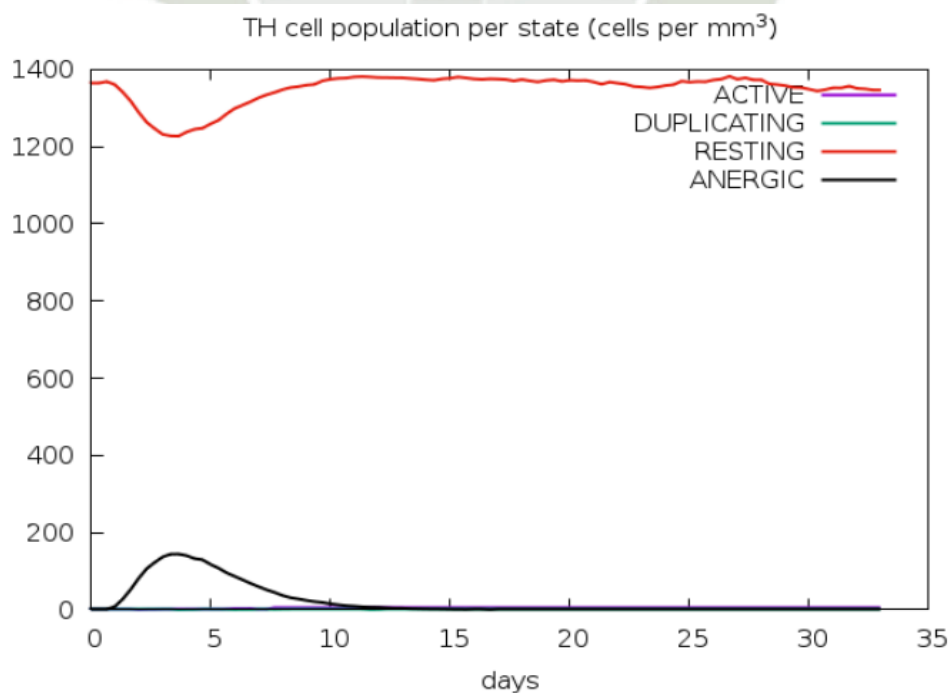
Farmacodinámica de vacuna PP establecidos para poblaciones de linfocito TCD4



CD4 T-helper lymphocytes count. The plot shows total and memory counts.

Imagen 231

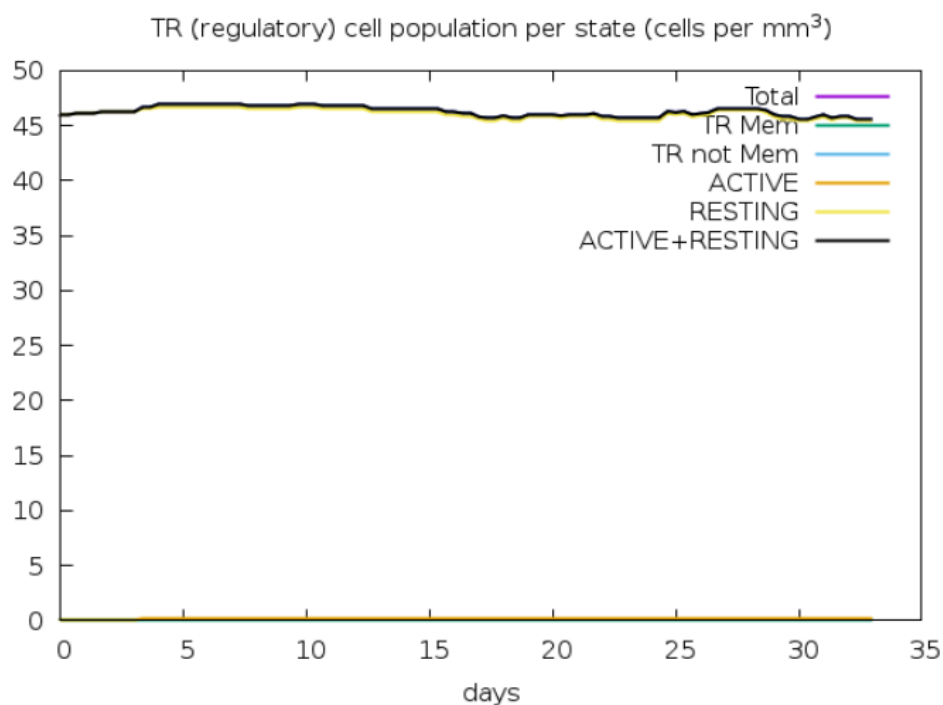
Farmacodinámica de vacuna PP establecidos para estados de linfocito TCD4



CD4 T-helper lymphocytes count sub-divided per entity-state (i.e., active, resting, anergic and duplicating).

Imagen 232

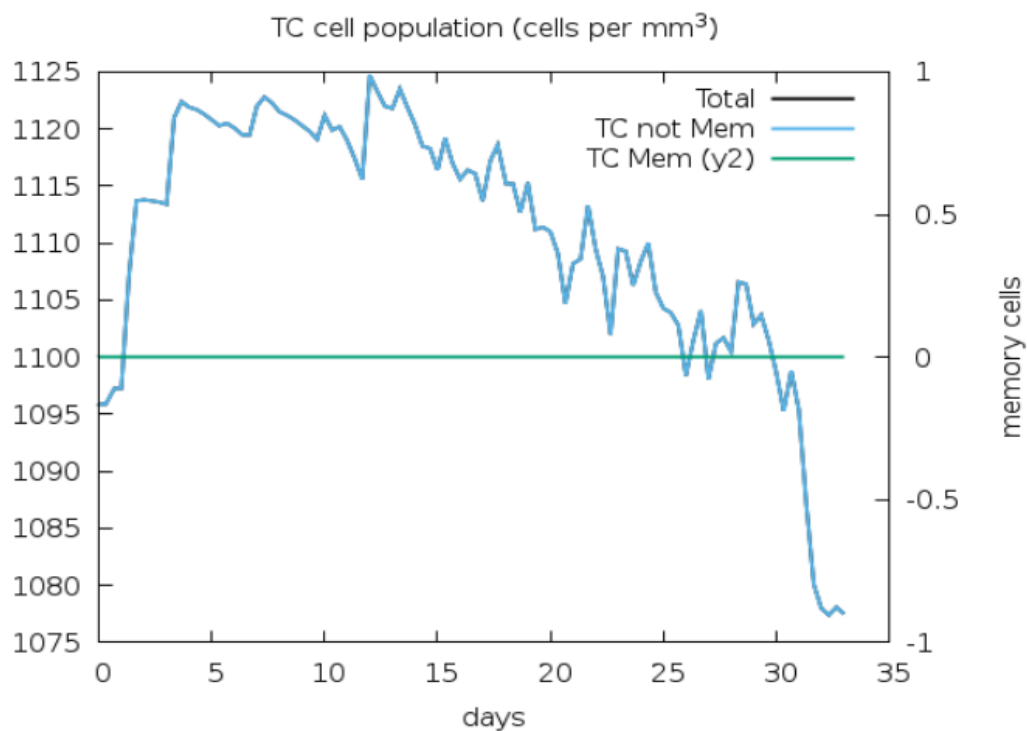
Farmacodinámica de vacuna PP establecidos para regulación de linfocito TCD4



CD4 T-regulatory lymphocytes count. Both total, memory and per entity-state counts are plotted here.

Imagen 233

Farmacodinámica de vacuna PP establecidos para población linfocitos TCD8



CD8 T-cytotoxic lymphocytes count. Total and memory shown.

Imagen 234

Farmacodinámica de vacuna PP establecidos para estado de linfocito TCD8

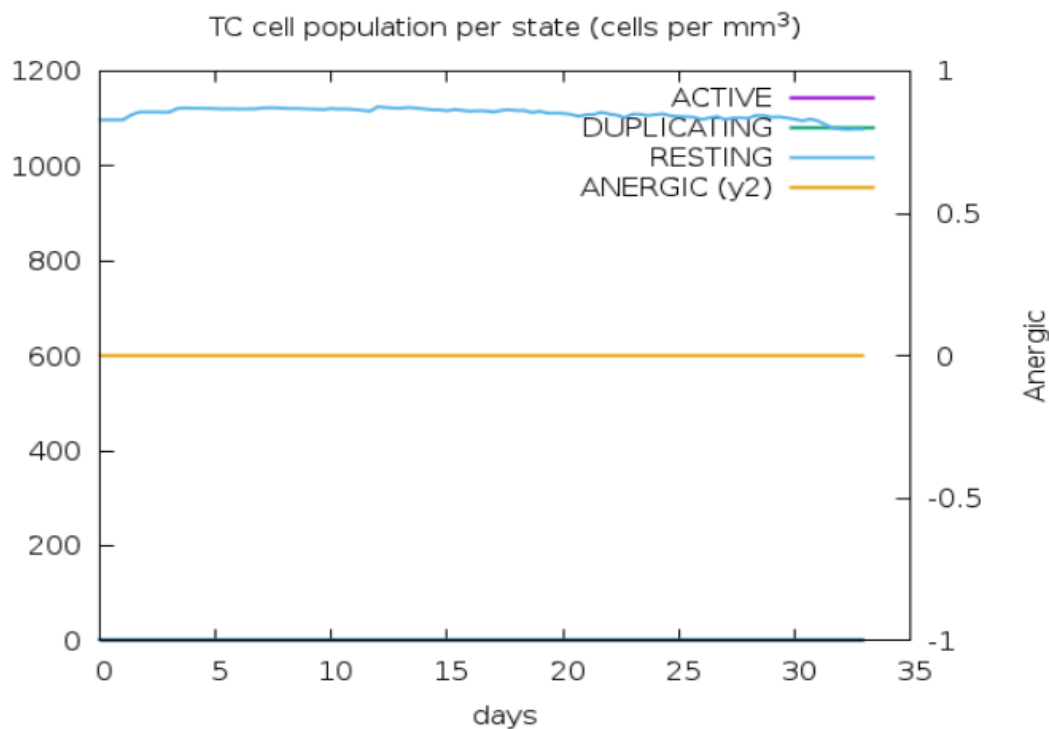


Imagen 235

Farmacodinámica de vacuna PP establecidos para células natural killer

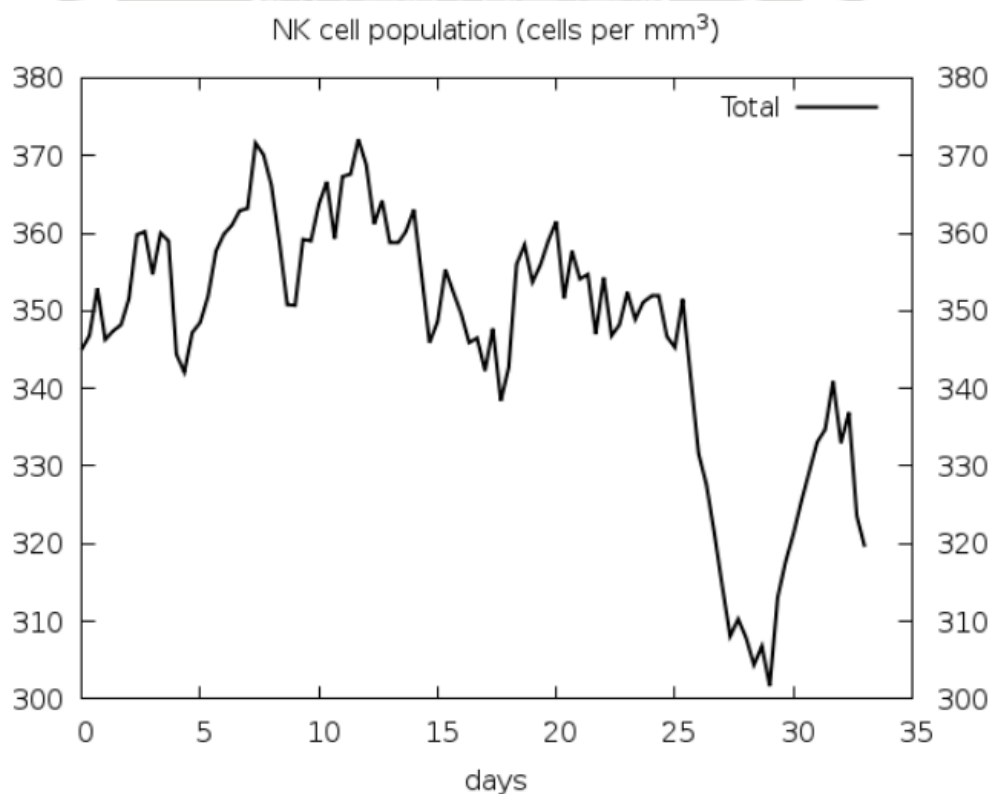
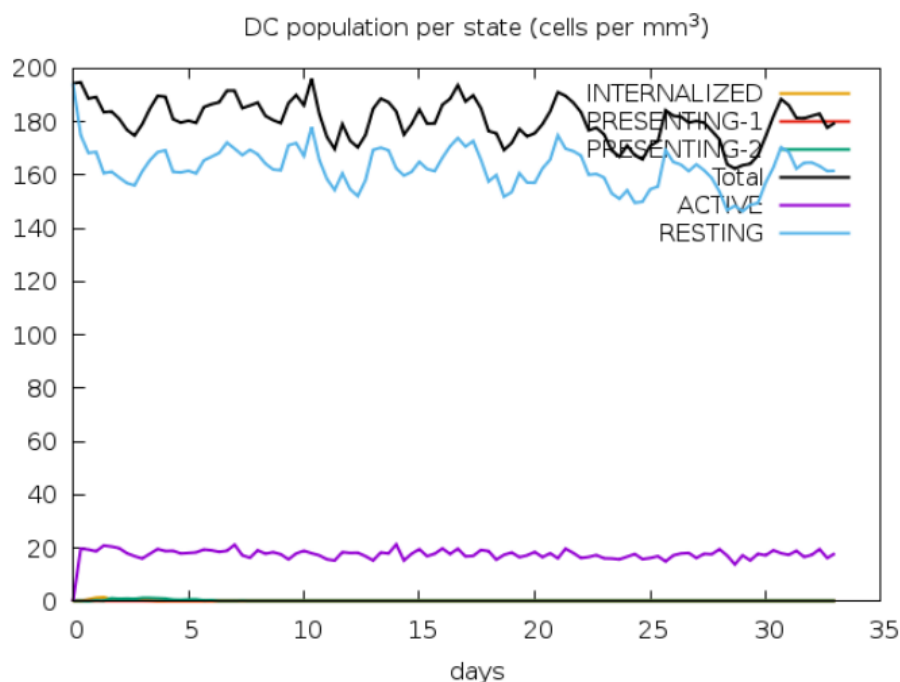


Imagen 236

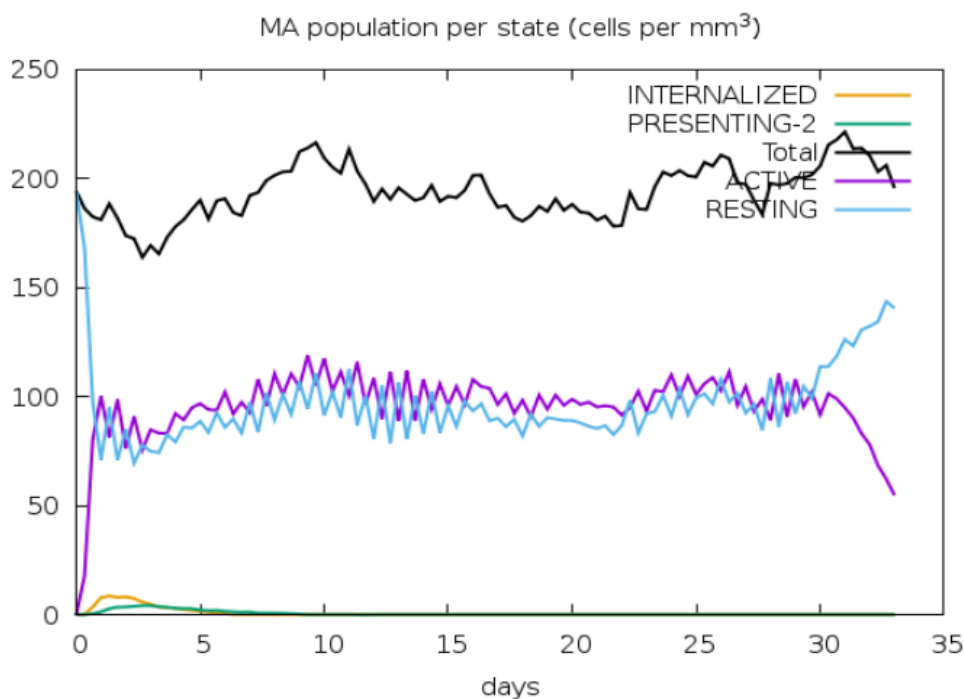
Farmacodinámica de vacuna PP establecidos para células dendríticas



Dendritic cells. DC can present antigenic peptides on both MHC class-I and class-II molecules. The curves show the total number broken down to active, resting, internalized and presenting the ag.

Imagen 237

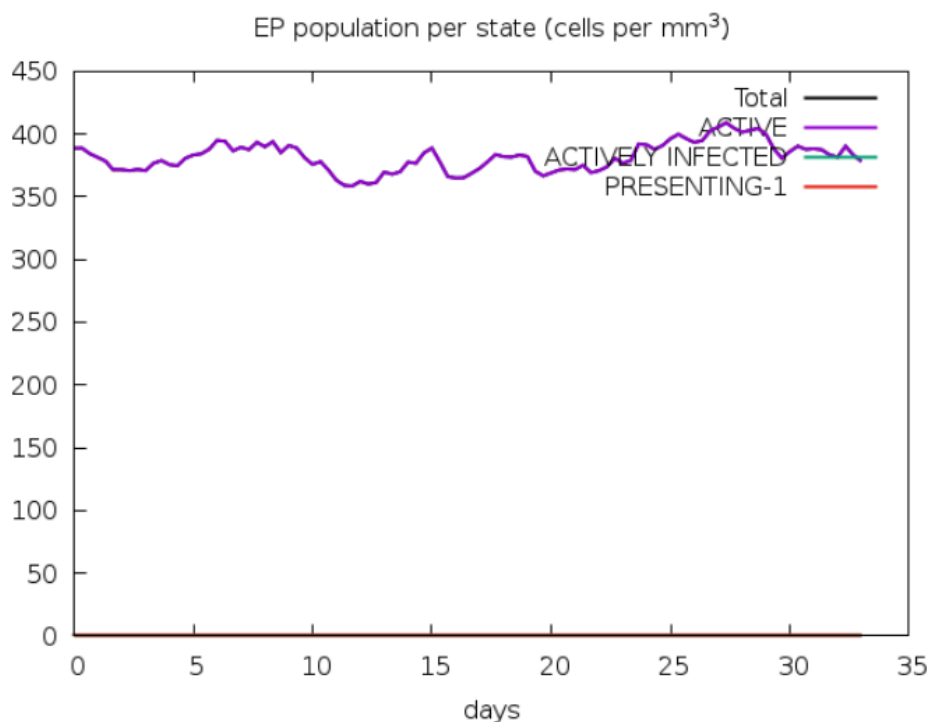
Farmacodinámica de vacuna PP establecidos para macrófagos



Macrophages. Total count, internalized, presenting on MHC class-II, active and resting macrophages.

Imagen 238

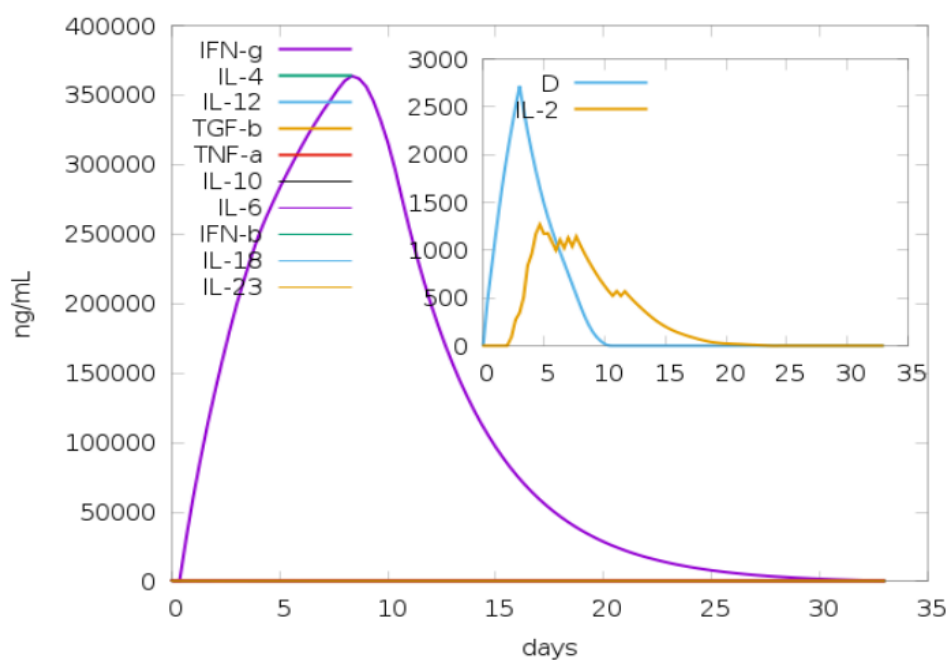
Farmacodinámica de vacuna PP establecidos para células epiteliales



Epithelial cells. Total count broken down to active, virus-infected and presenting on class-I MHC molecule.

Imagen 239

Farmacodinámica de vacuna PP establecidos para citocinas

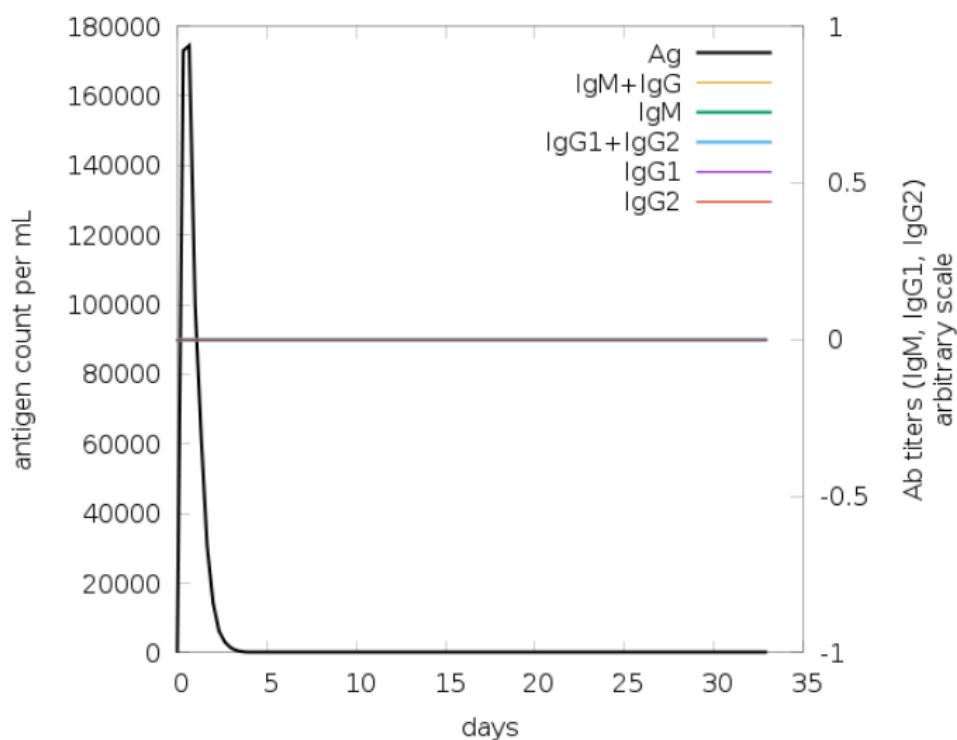


Cytokines. Concentration of cytokines and interleukins. D in the inset plot is danger signal.

1.1.1.7.2 Emergentes:

Imagen 240

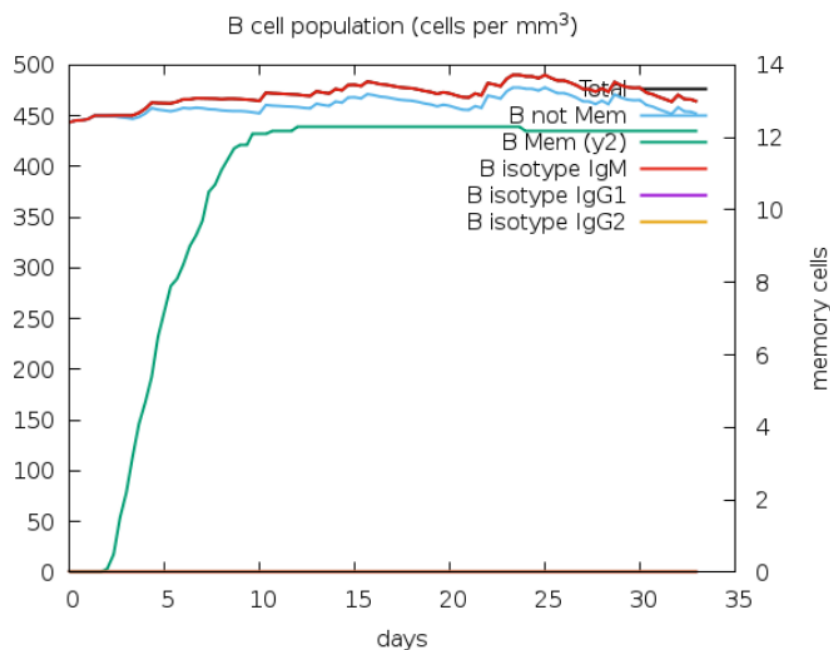
Farmacodinámica de vacuna PP emergentes para Antígenos e inmunoglobulinas



Antigen and immunoglobulins. Antibodies are sub-divided per isotype.

Imagen 241

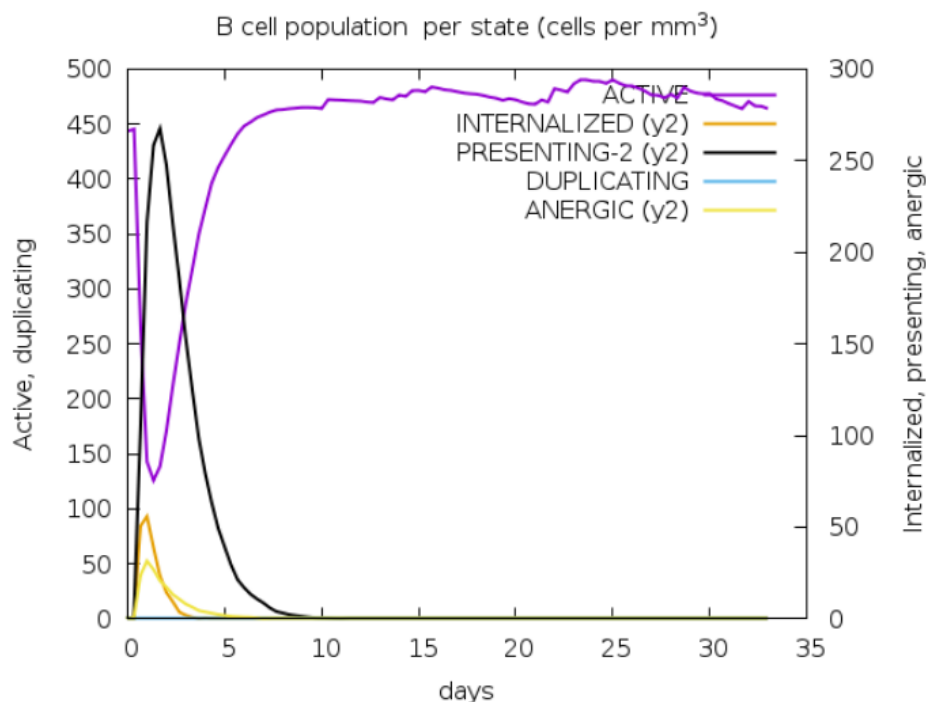
Farmacodinámica de vacuna PP emergentes para linfocitos B de memoria



B lymphocytes: total count, memory cells, and sub-divided in isotypes IgM, IgG1 and IgG2.

Imagen 242

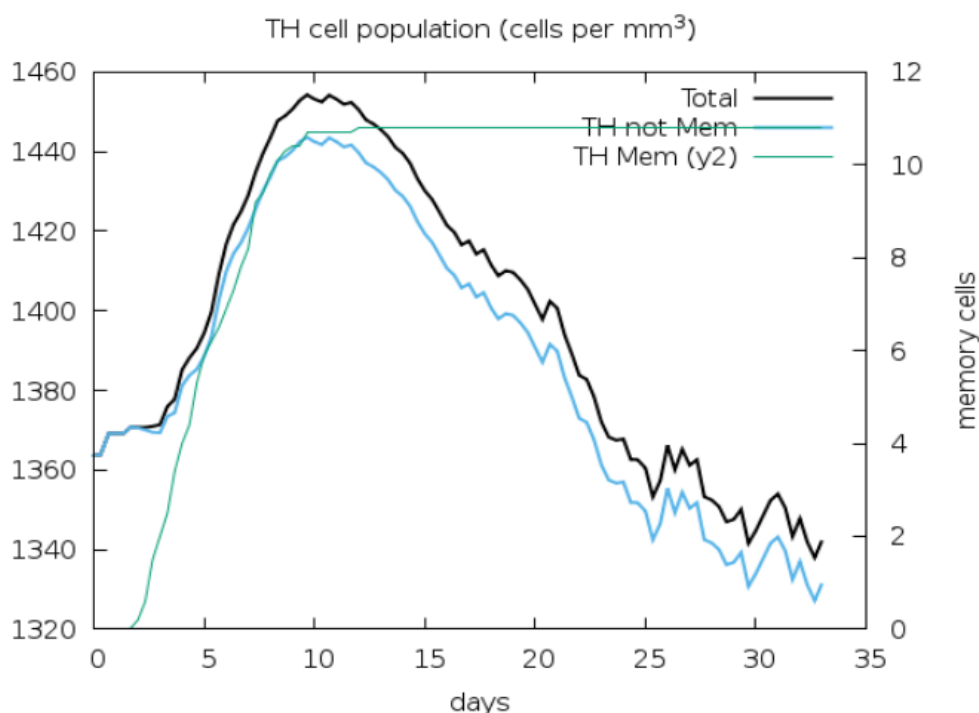
Farmacodinámica de vacuna PP emergentes para estados de linfocitos B



B lymphocytes population per entity-state (i.e., showing counts for active, presenting on class-II, internalized the Ag, duplicating and anergic).

Imagen 243

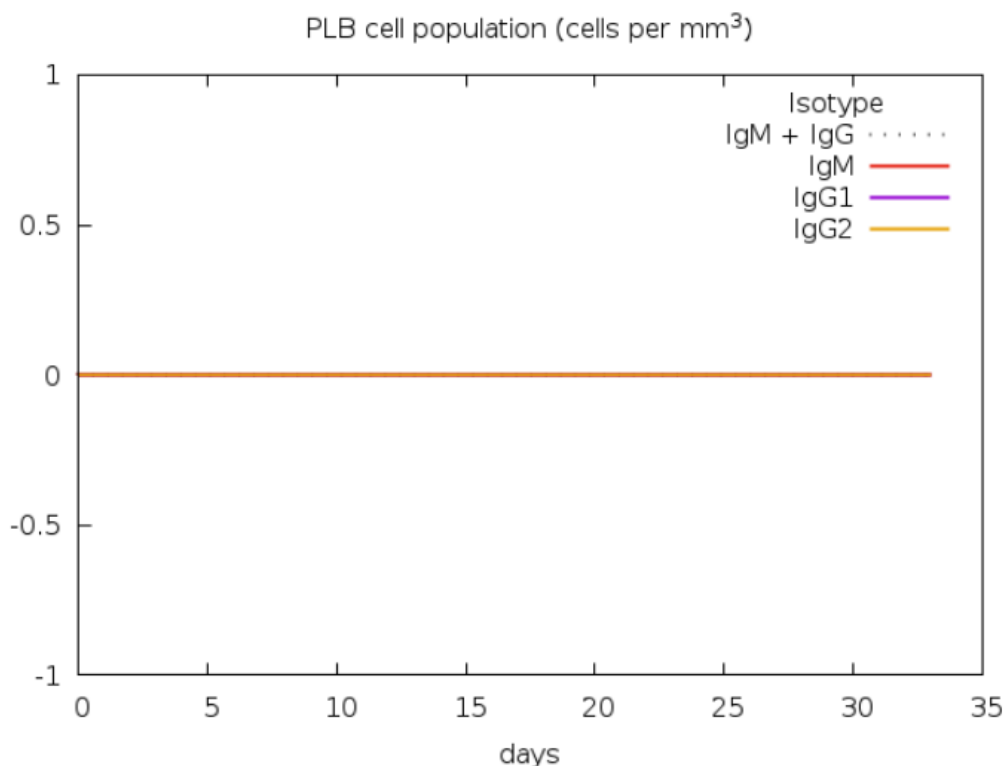
Farmacodinámica de vacuna PP emergentes para población de linfocitos TCD4



CD4 T-helper lymphocytes count. The plot shows total and memory counts.

Imagen 244

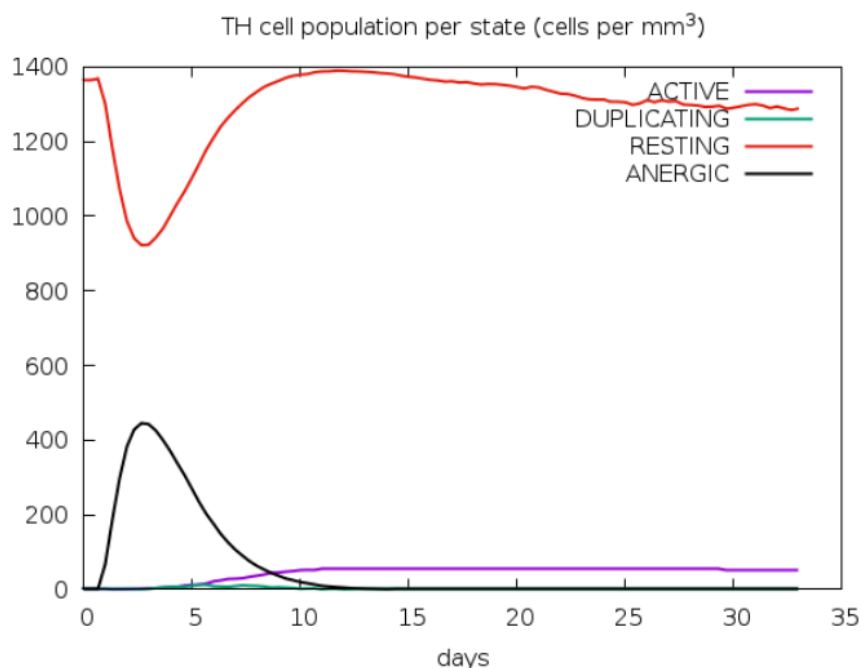
Farmacodinámica de vacuna PP emergentes para poblaciones de linfocitos B



Plasma B lymphocytes count sub-divided per isotype (IgM, IgG1 and IgG2).

Imagen 245

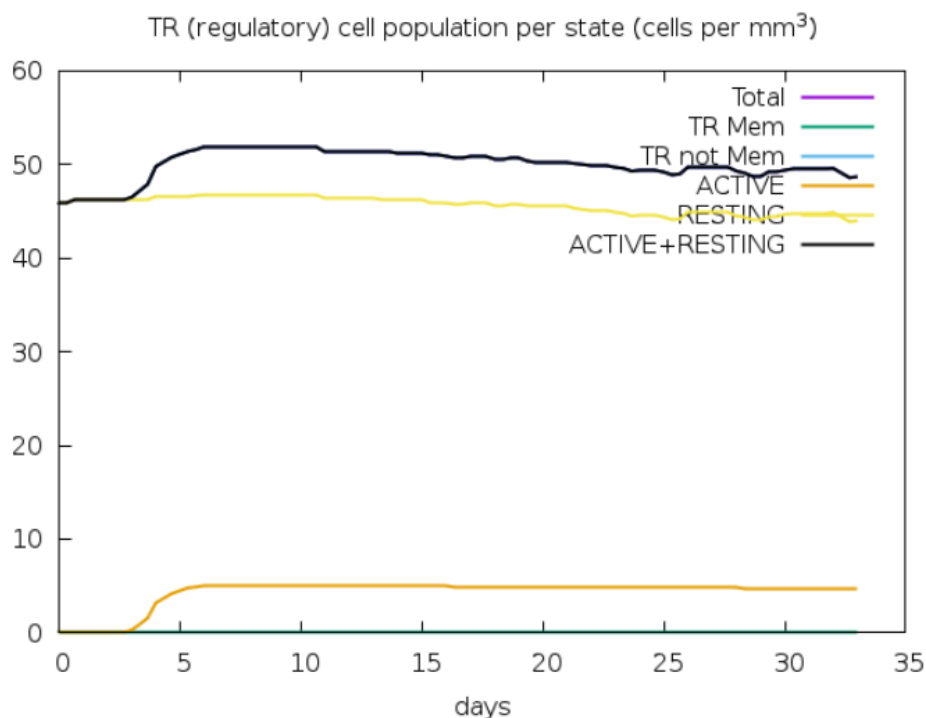
Farmacodinámica de vacuna PP emergentes para estados de linfocito TCD4



CD4 T-helper lymphocytes count sub-divided per entity-state (i.e., active, resting, anergic and duplicating).

Imagen 246

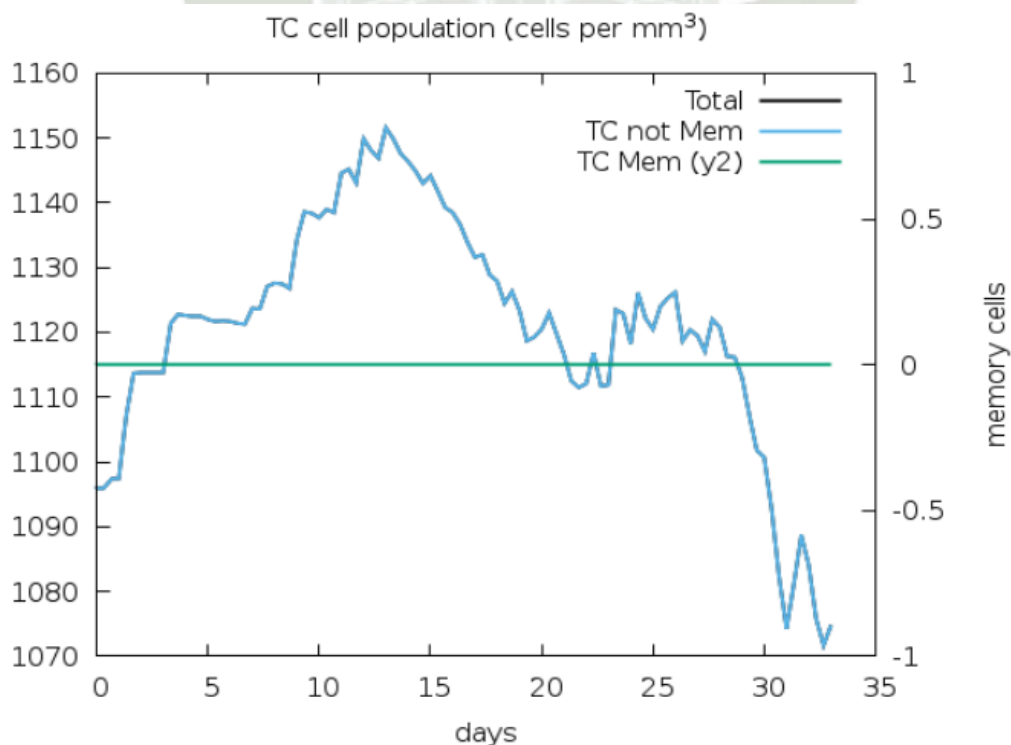
Farmacodinámica de vacuna PP emergentes para regulación de linfocito TCD4



CD4 T-regulatory lymphocytes count. Both total, memory and per entity-state counts are plotted here.

Imagen 247

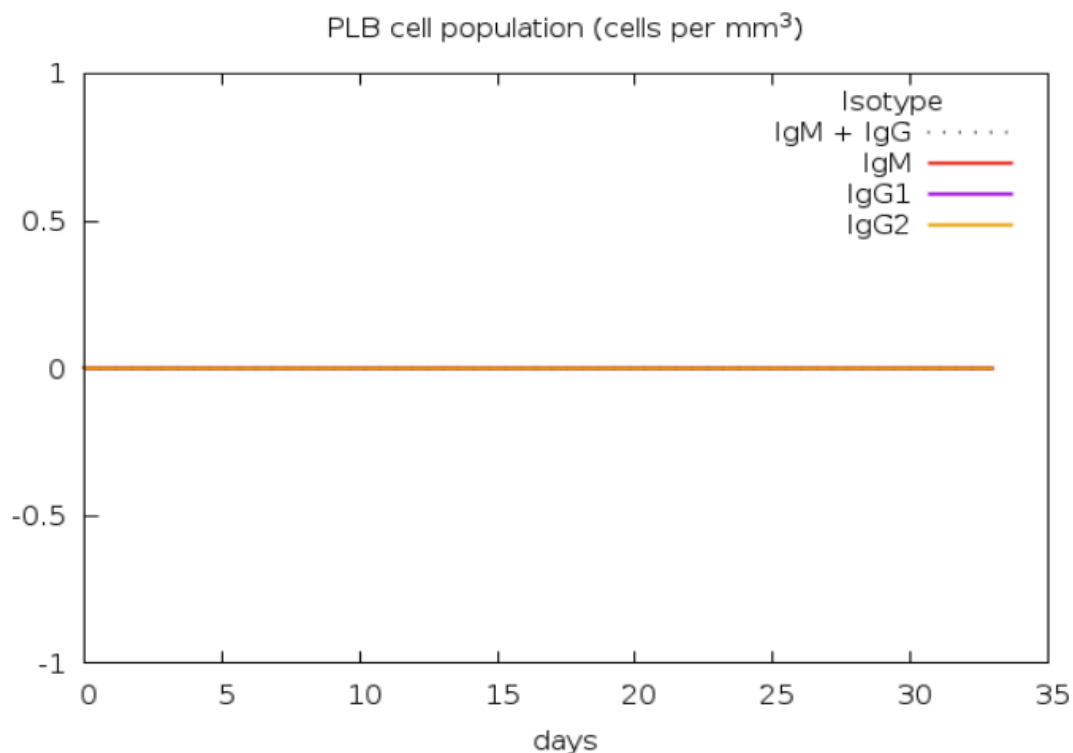
Farmacodinámica de vacuna PP emergentes para poblaciones de linfocitos TCD8



CD8 T-cytotoxic lymphocytes count. Total and memory shown.

Imagen 248

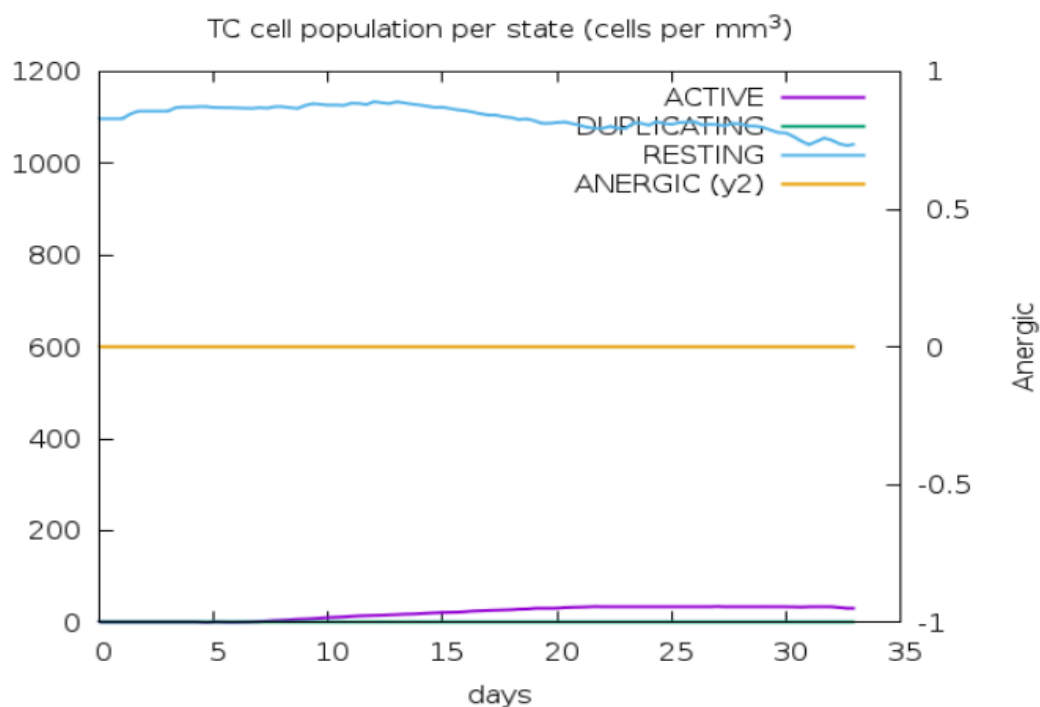
Farmacodinámica de vacuna PP emergentes para células plasmáticas



Plasma B lymphocytes count sub-divided per isotype (IgM, IgG1 and IgG2).

Imagen 249

Farmacodinámica de vacuna PP emergentes para estado de linfocito T CD8



CD8 T-cytotoxic lymphocytes count per entity-state.

Imagen 250

Farmacodinámica de vacuna PP emergentes para células natural killer

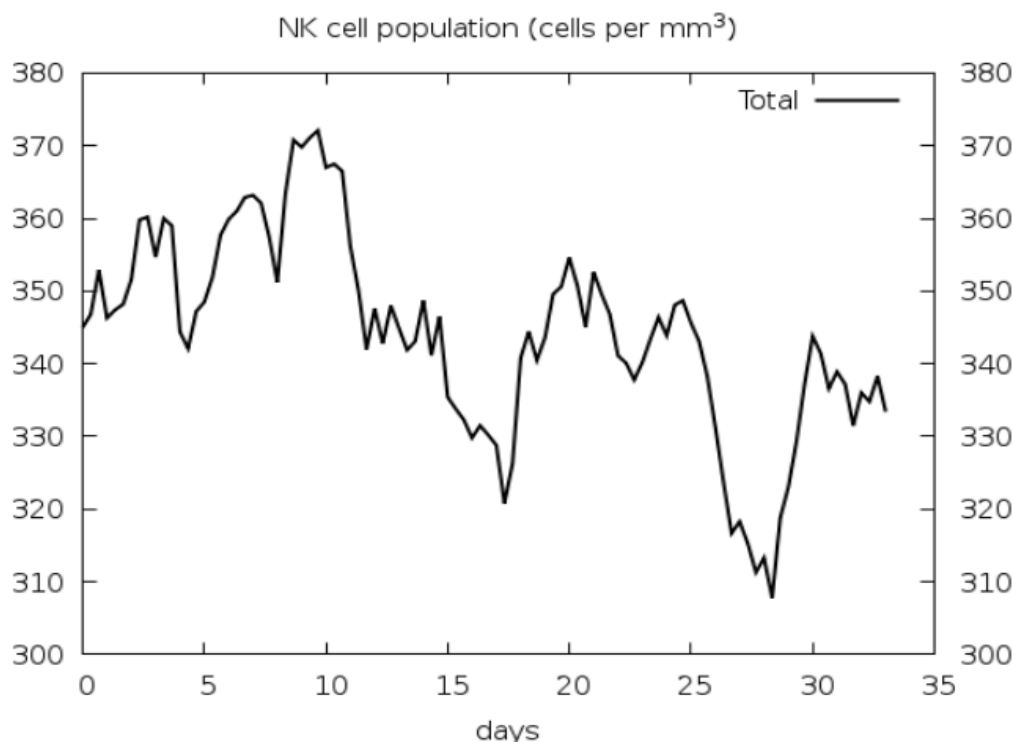
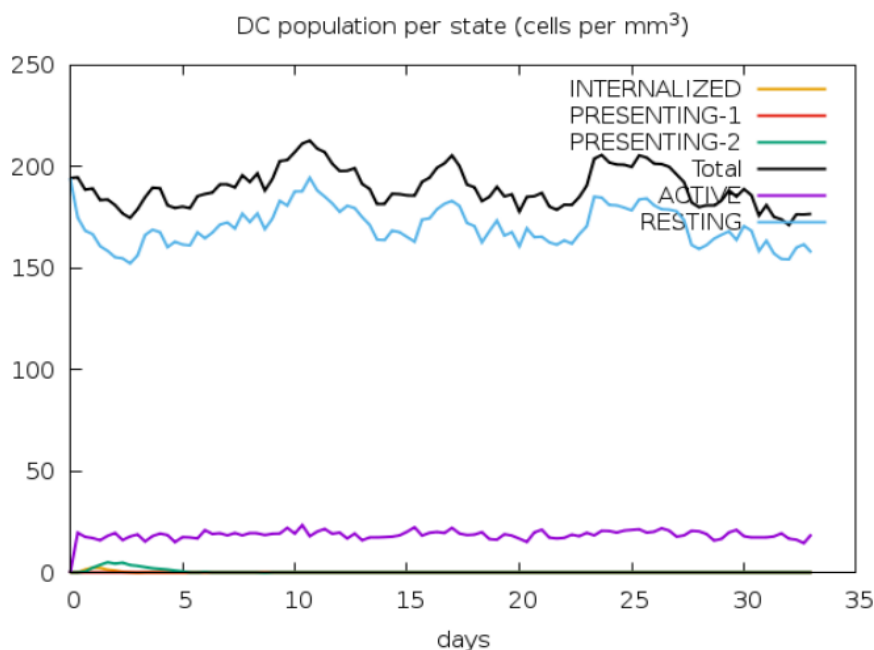


Imagen 251

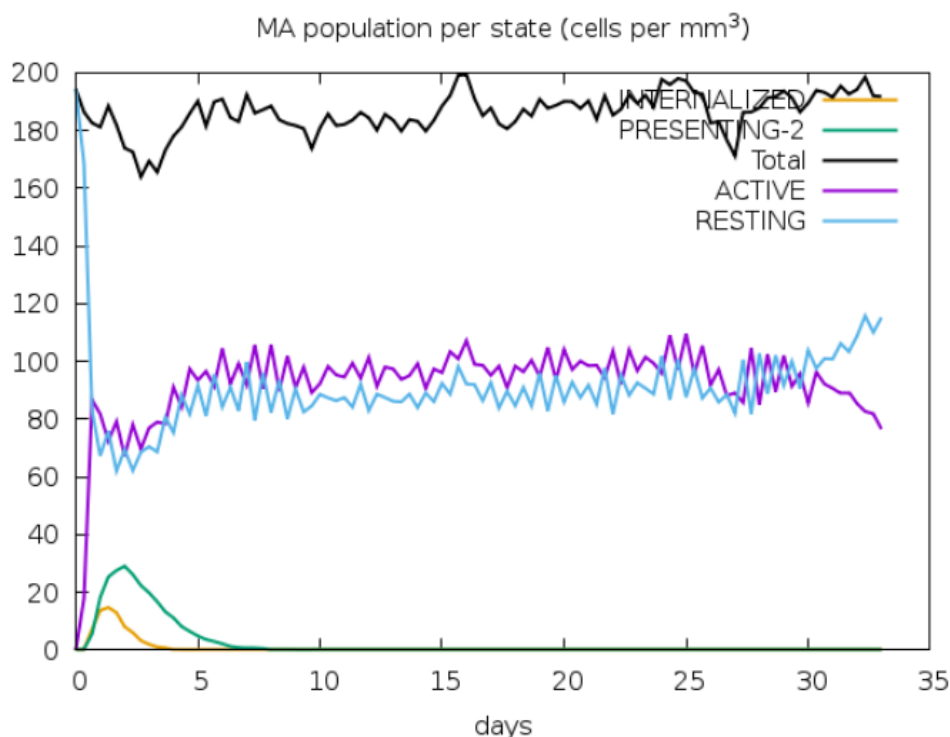
Farmacodinámica de vacuna PP emergentes para células dendríticas



Dendritic cells. DC can present antigenic peptides on both MHC class-I and class-II molecules. The curves show the total number broken down to active, resting, internalized and presenting the ag.

Imagen 252

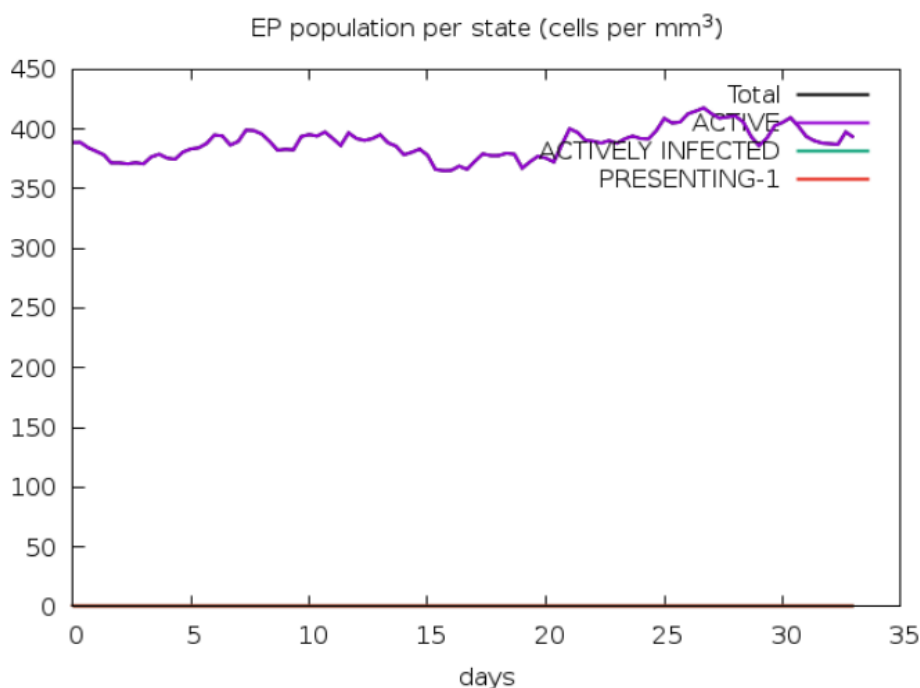
Farmacodinámica de vacuna PP emergentes para macrófagos



Macrophages. Total count, internalized, presenting on MHC class-II, active and resting macrophages.

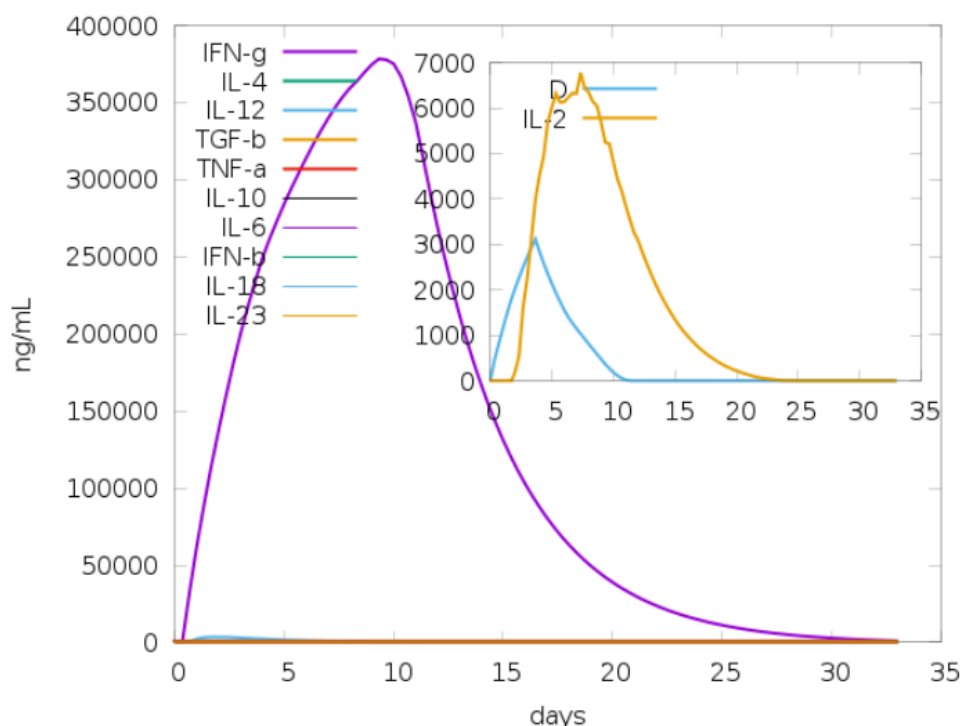
Imagen 253

Farmacodinámica de vacuna PP emergentes para células epiteliales



Epithelial cells. Total count broken down to active, virus-infected and presenting on class-I MHC molecule.

Imagen 254
Farmacodinámica de vacuna PP emergentes para citocinas



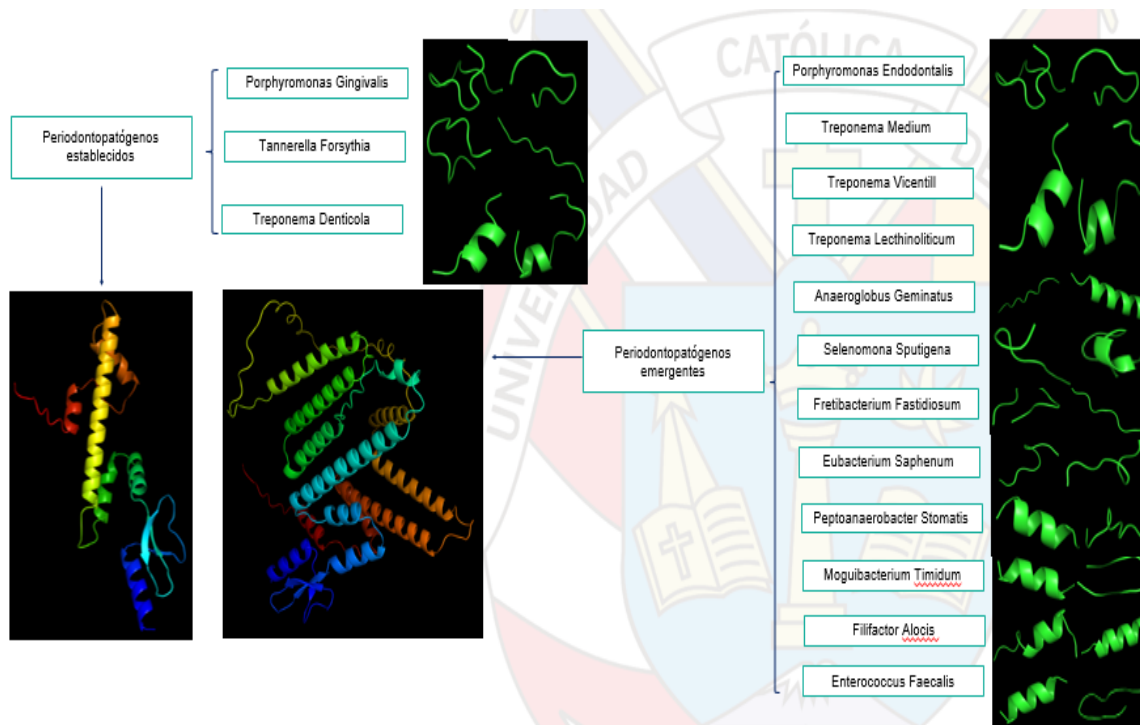
Cytokines. Concentration of cytokines and interleukins. D in the inset plot is danger signal.

1.1.1.8 Resumen General

Imagen 255
Identificación y procesamiento de epitopos



Imagen 256
Diseño y elaboración de vacuna



2. DISCUSIÓN:

2.1. Resumen de los antecedentes

Debido a que la enfermedad periodontal es una patología que tiene una gran incidencia a nivel mundial es que se ha buscado por muchas formas la posibilidad de poder ralentizar o evitar que se debe la progresión de la mencionada enfermedad a su estadio más destructivo. no debemos perder el foco de que la enfermedad periodontal tiene dos estadios, siendo el primero la gingivitis, en pocas palabras un proceso inflamatorio del tejido gingival que va a generar un aumento de volumen, desde un punto de vista clínico, las encías debido a la formación de las llamadas bolsas periodontales.

La profundidad de estas bolsas donde van a comenzar a establecerse después de un largo proceso de maduración del biofilm una serie de bacterias que no requieren de manera imprescindible del oxígeno para poder vivir, este tipo de bacterias se denominan anaerobias, dado el nombre trae a colación no requieren de oxígeno para poder subsistir dentro de las profundidades de la bolsa gingival.

Es aquí donde se establecen las bacterias que tienen un mayor potencial patogénico, Y por consiguiente tienen una elevada capacidad de generar la transición, del proceso inflamatorio propiamente de la gingivitis a un proceso inflamatorio lítico, que da el paso a la progresión de la enfermedad a su segundo estadio más agresivo al cual se le denomina periodontitis.

A grandes rasgos la diferencia entre el estadio de gingivitis y el estadio de periodontitis radica en que, en la gingivitis, la inflamación de los tejidos blandos lo que se evidencia clínicamente con la formación de las bolsas periodontales que pueden tener un crecimiento y un nivel de profundidad variable dependiendo de la severidad del cuadro, A diferencia de la periodontitis donde, como se dijo anteriormente, existe eso un proceso inflamatorio lítico, que se traduce en la reabsorción del hueso alveolar, un elemento constituyente del sistema de soporte del diente denominado parodonto, junto con el cemento radicular y ligamento periodontal.

Es por esta razón, que junto a la caries, en estadios avanzados ambas patologías

van a generar la pérdida de la pieza dentaria, y al haberse perdido la pieza, por el mecanismo de la erupción pasiva compensatoria, que se van a producir las maloclusiones que van a tener la capacidad agravarse y generar los traumas temporomandibulares; todo esto se explica como una tríada de las principales enfermedades o patologías orales en la tríada de Miller.

Es necesario considerar que la enfermedad periodontal se desarrolla gracias a un pilar fisiológico que es la formación del biofilm bacteriano, antes conocido como placa bacteriana.

La actualización del término radica en poder distinguir los dos componentes de la estructura, las que son la matriz y la comunidad bacteriana.

La matriz está constituida por un conjunto de glucoproteínas que van a establecerse en la superficie del diente por medio de un proceso electroforético contacto que existe entre la saliva y la superficie dentaria por la interacción de cargas de ambas sustancias, el resultado es la formación de una biopelícula de mucina, cuya principal característica física es la de constituir un elemento pegajoso sobre el cual podrán adherirse las bacterias propias de la microbiota oral por medio de diversos mecanismos como son las fibras entre otros.

El segundo elemento estará constituido, por la comunidad bacteriana, un conjunto de bacterias que van a ir colonizando la placa de manera sucesiva en un proceso denominado maduración del biofilm, que en pocas palabras tiene tres etapas que son:

- La adhesión.
- Colonización multiplicación.
- Maduración.

La etapa de la adhesión, muy brevemente, es básicamente la formación de una estructura denominada película adquirida, que podemos entender que viene a ser la formación de la matriz del biofilm, la capa de glucoproteínas que va a tener como función la de poder hidratar los tejidos, debido a la tensión superficial que va a cubrir los mismos los va a proteger contra el componente ácido que proviene del tracto digestivo, más en concreto, del estómago.

La etapa de la colonización corresponde a la progresiva gradual y compleja incorporación de distintos tipos bacterianos en la película adquirida, es importante destacar que la formación de la querida es un proceso fisiológico que, en sí mismo, no es patológico, es normal, lo anormal, lo patológico se desencadena cuando esta estructura persiste demasiado tiempo, Y es que es necesario considerar que dicha estructura no constantemente por una serie de factores mecánicos e hidrodinámicos, lo que no da tiempo a que bacterias patógenas puedan colonizarla, debido a la autólisis que se produce, por ejemplo el roce de los tejidos blandos como la lengua o carrillos, la fricción que existe entre los dientes, y por que estas son caras libres que están en contacto con esos elementos hidrodinámicos y mecánicos; sin embargo existen zonas como los espacios interdentes por ejemplo, otros como surcos y fosas propias de la anatomía oclusales de los dientes posteriores molares, persona retentivas que no están expuestas a estos estímulos mecánicos e hidrodinámicos, por lo que acá el biofilm persiste por más tiempo, y es donde se dan las complejas interacciones microbianas que desencadenan el desarrollo de las dos siguientes fases en el proceso de maduración del biofilm.

La colonización está marcada por una serie de interacciones complejas donde va a darse sustitución de bacterias, las inicialmente poco agresivas aerobias gram positivas serán desplazadas y posteriormente reemplazadas en su totalidad por las más agresivas anaerobias gram negativas en un proceso denominado sucesión alogénica bacteriana, que consiste en el del tipo bacteriano por un cambio de la fuente nutricional persistente en el medio.

En la etapa de la colonización, se puede evidenciar inicio del cambio, aún hay algunas aerobias, pero ya comienzan a aparecer las gram negativas anaerobias, es hasta la etapa de la maduración que se produce el cambio total tipo bacteriano siendo predominantes las gram negativas anaerobias.

Y es así que se llegan a establecer las tres bacterias que conforman el complejo rojo de la pirámide de Socransky, las bacterias con un mayor nivel de virulencia en el desarrollo y la progresión de la periodontitis.

Dada la gravedad de la enfermedad denominada periodontitis el que se han llevado

a cabo una serie de propuestas de tratamiento con el fin de poder evitar el desarrollo y progresión de la misma, pero a lo largo de los años con las propuestas de tratamiento antibióticas y las mecánicas o clínicas se ha conseguido que bacterias comienzan a adquirir altos niveles de resistencia por lo que en la actualidad es muy complicado poder llevar a cabo la eliminación de todo el ecosistema bacteriano disbiótico, y es esto lo que ha motivado lo que se impulsen las investigaciones con el objetivo de poder encontrar nuevas alternativas de tratamiento que garanticen la eliminación de dichas bacterias para de esta manera poder controlar el proceso inflamatorio que es lo que va a generar la reabsorción ósea y lo que determina la destrucción del parodonto, Por consiguiente es lo que va a generar los efectos graves de la periodontitis, ya que los estudios han demostrado que remodelado óseo es el mecanismo pertinente que va a generar como consecuencia el mantenimiento de la integridad del hueso porque de esta manera se regula la cantidad de contenido mineral que va a tener el mismo.

Existen dos tipos de remodelado óseo, un remodelado fisiológico que puede ser guiado, cuando estamos hablando de la exposición de la estructura a tensiones o fuerzas lo que va a generar la injuria necesaria para la destrucción de algunos de sus componentes y los mismos van a generar la liberación de sustancias que van a producir una neoformación de hueso. también está el remodelado no guiado que es en pocas palabras, aquel que se va a llevar a cabo debido a la acción de sustancias químicas en el cuerpo denominadas hormonas, donde vamos a encontrar la intervención de las hormonas de la hipófisis y otras glándulas.

Por otra parte, existe el remodelado óseo patológico, que se va a llevar a cabo por la alteración del sistema biológico. La regulación de remodelado óseo, hablamos del sistema RANK/RANKL/OPG.

La alteración de cualquiera de los elementos antes mencionados va a generar un desequilibrio al momento de llevar a cabo el remodelado óseo, y dicha alteración se produce cuando estamos frente a un tejido inflamado, ya que, los estudios demuestran que en estadios inflamatorios existe una gran cantidad de RANK en comparación a OPG; esto es importante por qué la unión de RANK y RANKL genera que se pueda llevar a cabo la diferenciación de los pre osteoclastos en osteoclastos que son responsables de la fagocitosis del hueso, mientras que en

estadios libres de inflamación, existe una mayor cantidad de OPG que actúa señuelo, y evita la formación del complejo RANK/RANKL de esta manera los preosteoclastos no se diferencian en osteoblastos y por consiguiente no pueden llevar a cabo la fagocitosis del hueso, por lo que no hay reabsorción ósea.

Para eso es imprescindible tomar en cuenta y considerar el proceso inflamatorio como un mecanismo que tiene el cuerpo para poder llevar a cabo la reparación del tejido y la eliminación de agentes que constituyen noxa, los cuales tienen el potencial de causar daño en los tejidos. Asimismo es necesario distinguir que existen dos tipos de inflamación la inflamación denominada séptica, ocasionada por un agente infeccioso como por ejemplo vendrían a ser las bacterias, y otro tipo de inflamación que es aséptica, dónde no intervienen agentes infecciosos como las bacterias, la finalidad de la inflamación en el primer caso, es la de controlar el foco infeccioso y posteriormente reparar el tejido, mientras que en el segundo caso la función primordial es la de poder llevar a cabo la reparación del tejido.

Este proceso reparatorio propio de la inflamación nunca se debe podrá llevar a cabo si es que en la estructura que es objeto de injuria aún persisten los agentes responsables de la noxa, por el contrario se llevará a cabo una extensión en el tiempo de dicho proceso inflamatorio, generando de esta manera consecuencias irreversibles como es la osteólisis.

Es por esta razón qué se comenzaron a pensar en otros mecanismos que puedan llevar a cabo un control del proceso inflamatorio en la periodontitis, es así, qué con el desarrollo tecnología se pudieron conseguir las necesarias para poder llevar a cabo la elaboración de elementos como son las vacunas.

Se entiende por vacuna a un tipo de medicación especial, qué va suministrarse, no individuos enfermos, si no individuos sanos, con el objetivo de poder generar en ellos una inmunidad, por la activación de su sistema inmune gracias a la presencia de diversos elementos de carácter infeccioso que son suministrados de manera controlada.

La aparición y posterior extensión de las herramientas informáticas, desde aquella época lejana en la que se dio su aparición por primera vez, con el “informe del autómatas celular”, es que se ha podido llevar a cabo una serie de procesos

complejos qué desembocan en la predicción del comportamiento de determinadas sustancias entre sí, digo esto ya que en un primer momento el término a la interacción de los componentes los medicamentos, es decir hablamos de la interacción entre principio activo y los excipientes de diversos fármacos, lo que permitía diseñar al fármaco por medio de la utilización de las herramientas digitales, de esta manera reduciendo costos y también tiempo, perfeccionando el elemento antes de su materialización.

El uso de estas herramientas computacionales se les denominó estudios *in silico*, y cómo se mencionó líneas arriba se utilizó en un primer momento en la farmacología, de manera posterior y con los avances tecnológicos de nuestros tiempos se pudo extender la aplicación de este mismo principio para poder llevar a cabo la simulación de los procesos biológicos, y es de esta manera que se da lugar a la llamada bioinformática, estos principios se extrapolaron y aplicaron a otras ramas como son la biología, la inmunología entre otras.

En materia de inmunología es qué aparece la Inmunoinformática, y en base a todo lo antes mencionado es que se puede llevar a cabo la realización de una vacuna utilizando medios computacionales, es decir hablamos de la realización de estudios científicos para poder llevar a cabo la elaboración de una vacuna.

Esta herramienta importante generó que los investigadores pueden llevar a cabo estudios para poder proponer una alternativa mucho más eficiente para poder controlar el desarrollo y la progresión de la periodontitis por medio de la elaboración de candidatos de vacuna.

Los estudios son muy pocos, pero existen antecedentes, estudios que se materializan en papers, clasificados, aprobados y publicados en distintas plataformas investigativas como PubMed por citar un ejemplo.

Es el caso de mi primer antecedente investigativo “*Porphyromonas gingivalis* Vaccine: Antigens and Mucosal Adjuvants”. (103) el estudio plantea el diseño de una vacuna contra *Porphyromonas gingivalis*, se plantea una conjugación de antígenos y elementos coadyuvantes de la mucosa, por estos efectos los autores en base a los estudios previamente realizados llegando a la conclusión de que el principal elemento con la categoría de agente causal de la enfermedad es la

bacteria complejo rojo de Socransky, el *Porphyromonas gingivalis*, una bacteria anaerobia que habita en la profundidad de las bolsas periodontales.

Asimismo, autores del estudio llegan también a poder desarrollar la necesidad de un medio para poder combatir la dicha bacteria responsable de la enfermedad tanto en desarrollo como en progresión, la problemática del alto nivel de resistencia que ha adquirido está a lo largo del tiempo por la utilización de los métodos de tratamiento convencional.

Todo esto es lo que motiva autores a llevar a cabo el desarrollo del estudio y poder proponer un modelo de vacuna utilizando estructuras antigénicas propias de las bacterias como por ejemplo vendrían a ser las fimbrias, proteínas de membrana, entre otras.

A estas estructuras se les denomina antigénicas en virtud de que tiene la capacidad de poder ser reconocida por el sistema inmunitario para subsecuentemente llevar a cabo la activación del mismo y se desencadena una respuesta inmune.

Pero la propuesta del estudio en cuestión no se limita simplemente a llevar a cabo una vacuna con los elementos constituyentes de *Porphyromonas gingivalis*, sí que también que se extienden y van más allá adicionando elemento coadyuvante inmunoestimulante, entendiéndose por este aquellos elementos que van a potenciar el reconocimiento y la ulterior activación de una respuesta inmune ya que este elemento ayuda a una acción del elemento activo de la vacuna. Existen varios coadyuvantes, pero se destacan por ejemplo complejos inmunoestimulantes, las emulsiones minerales, los adsorbentes, así como también productos microbianos entre otros.

Asimismo, estudio se da una calificación de lo que es la naturaleza de una vacuna, entendiéndola como un medicamento de características especiales, cuya finalidad es preventiva, generar una inmunidad de rebaño que va a evitar el número de individuos susceptibles de una infección, por qué la vacuna es eso, una herramienta que ayuda a poder combatir a las enfermedades que tienen un carácter infeccioso.

En lo que se refiere a mi segundo antecedente investigativo denominado

“Computational Design of a Multi-Epitope Vaccine Against *Porphyromonas gingivalis*”. (103) En el presente artículo se destaca la necesidad de poder llevar a cabo el diseño de una vacuna, frente a los fracasos de tratar de llevar a cabo un control de la enfermedad por medio de la utilización de los métodos convencionales, en el presente estudio se va de lleno ya a cuestión de la elaboración de la vacuna utilizando también estructuras que constituyen epítomos bacterianos, lo que se logra por medio de pruebas in Silico, es decir utilizando software y herramientas computacionales para determinar que los candidatos a epítomos constituyen estructuras competentes para poder ser utilizadas en el diseño de la vacuna, así mismo poder garantizar que las estructuras utilizadas como elementos integrantes de la misma no generen problemas al organismo humano, por ejemplo que no sean tóxicos o generen algún tipo de respuesta autoinmune.

El proceso concluye con un modelo 3D del candidato a vacuna y posteriormente se lleva a cabo una serie de estudios para poder evaluar el acople del principio activo a los receptores de tipo toll, principalmente en el caso en cuestión se hace una predicción al acople del receptor TLR2 que es responsable de reconocimiento de los productos microbianos, en el caso en cuestión, se deja de lado el acople receptores TLR4, que a diferencia del receptor antes mencionado, se encarga de reconocer estructuras denominadas PAMS.

De esta forma que los autores del estudio destacan la importancia de poder llevar a cabo estudios in Silico, la cual se considera como una herramienta poderosa para poder llevar a cabo el desarrollo de una vacuna definitiva, ya que los estudios computacionales se consideran como una base, sobre el cual se puede llevar a cabo la materialización de una vacuna tangible.

En el paper “Potential *Treponema denticola*-based periodontal vaccine to resolve a global public health challenge: a narrative literature review” (104). Se propone la elaboración de una vacuna periodontal, tomando como base a uno de los periodontopatógenos del complejo rojo de Socransky, el *Treponema denticola*, la finalidad de ese estudio es la de poder llevar a cabo una propuesta para poder mitigar y resolver un problema de salud pública general, y este enfoque se da en el sentido de que muchas de las bacterias que van a intervenir en el desarrollo y la progresión de la periodontitis son responsables de llevar a cabo el desarrollo de

múltiples enfermedades sistémicas Como por ejemplo, la artritis reumatoide, otras más tienen la capacidad de poder llevar a cabo el impulso necesario para que se enfermedades metabólicas como la diabetes, y algunas otras más tienen el potencial de desencadenar patologías neurológicas por ejemplo vendrían a ser enfermedades degenerativas como el Alzheimer.

Considerando todas estas enfermedades, desde un enfoque etiológico, se sustenta en la capacidad de diseminación que tienen las bacterias, ya está por la vía sanguínea también conocida como vía hemática o en su defecto la diseminación que se puede producir por vía linfática. donde la bacteria se traslada de un punto A y lleva a un órgano el que se instala inicia un proceso de colonización generando, por ejemplo, en el caso de la endocarditis infecciosa, la formación de una serie de cuerpos vegetativos a los que se le denomina vegetaciones, las cuales van a obstaculizar el correcto funcionamiento del sistema cardíaco.

La finalidad del desarrollo de la propuesta de vacuna en el presente estudio es la de poder llevar a cabo de manera inmediata una vacuna contra la periodontitis, qué forma reducir la incidencia de todas las enfermedades que tienen como génesis a los agentes causales de la mencionada enfermedad, principalmente enfocándose en el *Treponema denticola*.

Los autores del estudio titulado “Una vacuna conjugada en cápsula de *Porphyromonas gingivalis* protege de la pérdida ósea oral experimental” (105) plantean la naturaleza inflamatoria lítica de la periodontitis, la cual afecta al tejido duro y blando del soporte del diente generando como consecuencia con el desarrollo de la enfermedad la pérdida del diente, una forma al igual que en los estudios anteriores se va a establecer que el principal periodonto patógeno implicado en el desarrollo y la producción de la enfermedad es el *Porphyromonas gingivalis*, recalcando la problemática para poder llevar a cabo el control de la infracción por dicha bacteria debido a la gran resistencia que está ha obtenido a lo largo de los años con la utilización del tratamiento convencional, se resalta en el fracaso al momento de intentar detener la progresión de la enfermedad.

Es por esta razón que se plantea el desarrollo de una vacuna por medio de la conjugación de dos elementos fundamentales, primeramente el empleo de un

polisacárido de las cápsulas purificadas de la bacteria y en segundo lugar la adición ve una versión mejorada de la proteína transportadora CRM197, a la cual se le denomina eCRM, la aplicación clínica en animales revelo una alta eficacia de protección contra reabsorción ósea característica de la periodontitis, cabe destacar que el estudio se llevó a cabo en ratones.

Asimismo los autores del paper "Estudio de vacuna intranasal utilizando vesículas de membrana de *Porphyromonas gingivalis*: método de aislamiento y aplicación a un modelo de ratón" (106), maneja un enfoque en el que se van a captar los elementos qué hacen a la bacteria, el *Porphyromonas gingivalis*, un elemento extremadamente agresivo, identificados de estos elementos se van a comenzar a tratar para que también sean utilizados a nuestro favor, como elementos que fácilmente reconocido por el sistema inmune, y una vez esto se produzca se pueda llevar a cabo una respuesta inmunitaria eficiente; nos estamos refiriendo a los factores de virulencia, en este caso eligió a las vesículas de membrana externa de la bacteria.

Este Factor virulencia es sometido a un tratamiento lo que va a generar qué el mismo sea reconocido por el sistema para activarlo y que se desencadena una respuesta inmune en bajas las dosis, lo que aumenta la eficacia de dicha respuesta en contra de la bacteria.

Finalmente en el estudio titulado "Vacuna de ADN funcionalizada/diseñada por *rgpA* como una nueva vacunación profiláctica para prevenir la periodontitis inducida por *Porphyromonas gingivalis*: un estudio in vivo" (107), también toman como base primordial en la elaboración de la propuesta de vacuna a factores de virulencia de *Porphyromonas gingivalis*, de esta manera convirtiendo las armas de la bacteria en su mayor debilidad, que a partir de estas se llevará a cabo el reconocimiento del elemento patogénico por parte del sistema inmune.

2.2. Resumen de los Resultados:

Fueron varias las razones que impulsaron a la realización del presente estudio, partiendo por la cuestión de poder distinguir la naturaleza de la periodontitis, una enfermedad inflama crónica lítica que es una progresión de la gingivitis, esta se produce por la interacción de dos elementos muy semejantes entre sí tanto como

diferentes, hablamos causa y el agente causal.

Englobamos a ambos términos dentro de la enfermedad periodontal, distinguiendo particularmente el término general y posteriormente extrapolando lo a la enfermedad en cuestión, bajo este contexto diremos que la causa es aquello que de manera inmediata va a ser la causa de la enfermedad, Mientras tanto el agente causal va a hacer aquello que de manera inmediata va a generar el daño, en este caso va a causar la enfermedad. Extrapolando los términos a la enfermedad estudiada, encontraremos que la causa de la enfermedad periodontal no es otra que el biofilm bacteriano, mientras que el agente causal va a ser las comunidades de bacterias que colonizan este último.

Hay que recapitular el tema de la inflamación, como mecanismo fisiológico que va a buscar la reparación del tejido dañado por una noxa, la misma puede tener una variante en su naturaleza, encontramos un tipo de inflamación denominada aséptica, que se produce sin la intervención de agentes infecciosos como por ejemplo vendrían a ser las bacterias, y en este caso es obvio poder deducir que la finalidad de la inflamación va a ser la de poder llevar a cabo la reparación del tejido que ha sido dañado por una injuria.

Sin embargo, el tipo de inflamación que tratamos en el presente trabajo de investigación es la inflamación séptica, aquella que por un agente infeccioso como por ejemplo las bacterias que están implicadas en el desarrollo y la progresión de la enfermedad periodontal.

De esta enfermedad va desde un cuadro inflamatorio con la gingivitis, hasta un estadio inflamatorio lítico que va a generar destrucción del hueso alveolar, por consiguiente va a generar la destrucción del sistema de soporte del diente lo que va a generar como consecuencia la pérdida del mismo y con ello se arrastra a futuro múltiples problemas de oclusión.

La particularidad de esta enfermedad es que se da a partir proceso fisiológico inevitable y necesario para el correcto funcionamiento del sistema estomatognático, la formación de la película adquirida, una capa de glucoproteínas que va a tapizar todas las superficies orales con la finalidad de ofrecer protección frente a los ácidos que provienen del tracto gastrointestinal humectando la

superficies; pero así también va a hacer el sustrato sobre el cual se va a poder llevar a cabo la adherencia de las bacterias que posteriormente van a comenzar a colonizar la superficie, y por medio de procesos de agregación y coagregación se llevará una sustitución bacteriana pasando de las bacterias gram positivas aerobias a las gram negativas anaerobias.

El proceso antes descrito, produce que la ecología oral se vea alterada, de tal forma que podemos hablar de un medio a cambiar de un estado de eubiosis, qué equilibrio y ausencia enfermedad, a un estado de disbiosis, qué es un desequilibrio y quién te conlleva al desarrollo de la enfermedad es por todas estas razones que se llevó a cabo los estudios necesarios para poder proponer un candidato la vacuna para poder tratar a la periodontitis y evitar los efectos graves enfermedad genera.

Lo primero que se hizo fue llevar a cabo una extenuante búsqueda bibliográfica para poder identificar la causa el agente causal, así pude darme cuenta que la causa era inevitable pues hablamos de un proceso fisiológico naturalmente y tiene una finalidad de protección, entonces la variable que se tenía que tratar de atacar vendría a ser las comunidades bacterianas, en la revisión bibliográfica se pudo identificar a las bacterias propias desarrollo y la progresión de la periodontitis, las mismas que son descritas en el complejo de la pirámide de Socransky, un gráfico que agrupa a las bacterias a criterios como por ejemplo el nivel de patogenicidad que tienen.

Es así que se determinó un enfoque para poder combatir a las tres bacterias del complejo rojo de Socransky que son el *Treponema denticola*, *Tannerella forsythia* y *Porphyromonas gingivalis*.

Aun así la pirámide de Socransky fue elaborada en 1998, Y a partir de este tiempo se llevó a cabo una gran cantidad de estudios sobre lo que es la naturaleza microbiana de las tres bacterias del complejo rojo, ya que eran las establecidas cronológicamente. Pero los estudios no se detuvieron y continuaron descubriéndose bacterias que están implicadas directamente en el desarrollo de la enfermedad periodontal es así que se lleva a cabo una clasificación de las bacterias en base al nivel de tratativa que han tenido a lo largo del tiempo. de esta manera

surgen dos grupos de periodontopatógenos los establecidos que son las bacterias del complejo rojo de Socransky y los emergentes que fueron identificados y se iniciaron estudios de manera posterior la pirámide.

Es por eso que en materia de investigación de la presente tesis se optó por abarcar tanto a los periodontopatógenos establecidos y emergentes para poder llevar a cabo elaboración de un prototipo de vacuna para poder tratar la periodontitis.

Una vez identificado el problema, se procedió llevar a cabo el estudio del proteoma de cada una de las bacterias en cuestión, de esta manera identificar las proteínas que van a expresar cada microorganismo, de esta forma logré encontrar las proteínas que los factores de patogenicidad y factores de virulencia de cada una de las bacterias estudiadas.

Una vez identificadas las proteínas constituyentes de los factores de virulencia, se llevó a cabo un análisis de los aminoácidos, para poder identificar posibles epítomos, por medio de la utilización un software denominado Vaxijen, se logró identificar los aminoácidos que constituyen péptidos que tienen características antigénicas, a estos candidatos les llevó a cabo una serie de exámenes para poder ver que no exista elementos que pueda generar una contraindicación, desde el punto de vista de toxicidad o alergenicidad lo cual se llevó a cabo en software especializados.

Una vez realizado a cabo el testeo de los epítomos, se procedió a llevar a cabo una simulación de plegado en una herramienta denominada AlphaFold para de manera posterior llevar a cabo un modelado 3D de los epítomos en un programa especializado en dicha tarea, este tiene por nombre Pymol.

A partir de este punto es necesario entender que para llevar a cabo su función, los linfocitos tienen que pasar por un proceso de maduración, en este proceso los linfocitos van a adquirir dos cosas, primero obtendrán su molécula del complejo mayor de histocompatibilidad que puede ser del tipo uno o del tipo dos; a estos se le conoce mejor por MHC1 o MHC2; y posteriormente se les asignará su receptor específico que puede ser el receptor BCR, TCR2 o TCR4. es en base a estos dos elementos que se determina la función del Linfocito.

Por eso una vez llegado a cabo la generación 3D se lleva a cabo el acople al epítopo a la molécula de complejo mayor de histocompatibilidad, y esto se hace gracias a las gestiones del servidor HawkDock. En este nivel es también imprescindible poder distinguir dos términos que se van a emplear para describir el fenómeno, la afinidad y la fuerza de unión, para estos efectos diremos que la afinidad engloba una gran cantidad de fuerzas de unión.

Hecho esto se hace lo mismo en relación a los alelos en el servidor IEDB comparando las moléculas del MHC 1 con las moléculas del MHC 2.

Teniendo todo ello procede a llevar a cabo el diseño y la elaboración de la vacuna que consiste en agregar dos elementos más a la ecuación, una molécula transportadora o carrier de naturaleza lipídica y los linkers, con la adición de estos elementos se va a generar que encontremos ya nuestra vacuna expresada en aminoácidos, a esta la sometemos al Pymol para poder generar su modelo 3D y de manera posterior llevar a cabo su acople a los receptores BCR, TLR2 y TLR4, esto se realizó en el servidor ClusPro.

Concluido el proceso antes escrito encontramos ya una vacuna funcional entonces lo que faltaría sería llevar a cabo la simulación de cómo se va a comportar la vacuna con en el organismo y los cambios que está podría sufrir al momento de ingresar en el mismo, estas predicciones se pueden evidenciar en el servidor C-IMMCSI y iMOD respectivamente.

2.3. Comparación de los resultados y antecedentes:

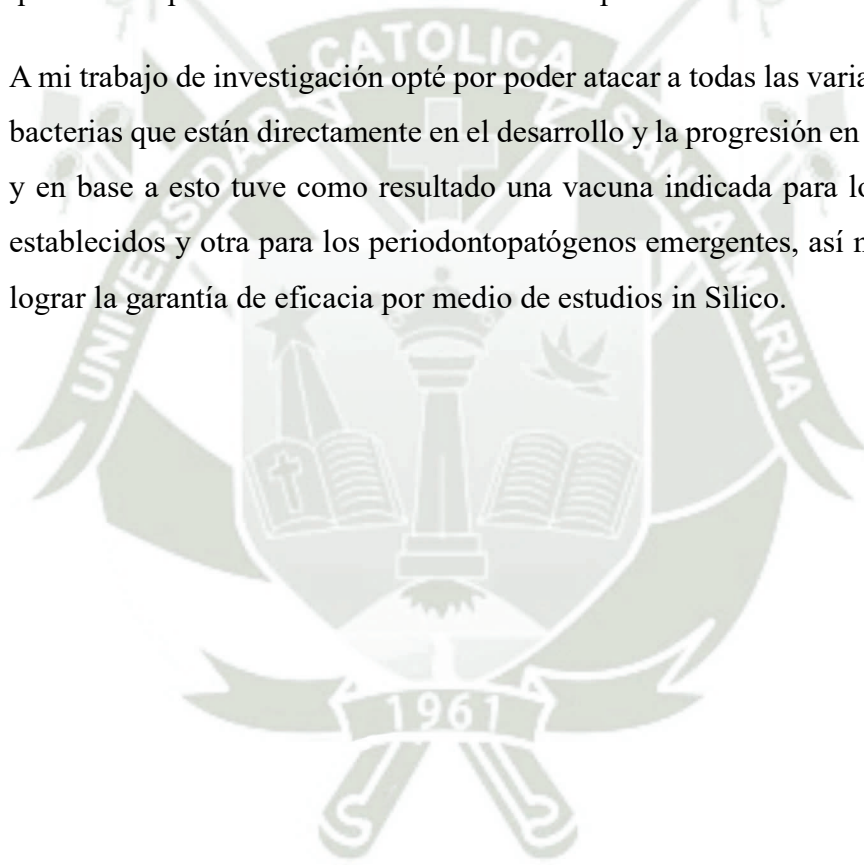
Todos los estudios precedentes han demostrado la necesidad de poder contar con una vacuna que puede hacer frente a los estragos que genera el inicio y la progresión de la periodontitis, Asimismo las consecuencias sistémicas de no controlar la proliferación bacteriana de los agentes causales propios de la enfermedad.

Las variaciones conllevan en el enfoque que se le ha podido dar alternativa y es que por mucho tiempo se creyó que únicamente era las bacterias del complejo rojo las responsable de llevar por a cabo el desarrollo y la progresión de la periodontitis; pero con los estudios ulteriores se pudo determinar que no solo son

estas qué están implicadas en el desarrollo y la progresión de la enfermedad sino que existen muchas otras que son responsables directamente, a las cuales se les denomina los periodontopatógenos emergentes.

La mayoría de los trabajos precedentes se enfocaron puedes tratar a la periodontitis abarcando a una bacteria en concreto, al Porphyromonas gingivalis o Treponema denticola, por lo que se estaría atacando una de las variables de la ecuación de la enfermedad, sin embargo, las demás variables estarían dejándose de tratar; por consiguiente, se estaría fallando en la pretensión última de la vacuna que es la de poder controlar la inflamación responsable absorción ósea.

A mi trabajo de investigación opté por poder atacar a todas las variables, todas las bacterias que están directamente en el desarrollo y la progresión en la enfermedad y en base a esto tuve como resultado una vacuna indicada para los periodontos establecidos y otra para los periodontopatógenos emergentes, así mismo se pudo lograr la garantía de eficacia por medio de estudios in Silico.



CONCLUSIONES

1. Se pudo determinar la estructura proteómica de los periodontopatógenos establecidos, seleccionándose dos proteínas constituyentes de factor de virulencia y de las mismas se obtuvo la secuencia de aminoácidos que constituyen un epítipo competente para el ensamblaje de la vacuna, posteriormente, los mismos fueron sometidos a un Doking con la molécula del Complejo Mayor de Histocompatibilidad tipo II (MHCII).
2. Se logro identificar los epítipos de los periodontopatógenos emergentes, a partir de la estructura proteómica de sus factores de virulencia, los mismos son competentes como estímulo para la expresión de una respuesta inmune adecuada después de haber sido sometidos a un proceso de acople a la molécula del complejo mayor de histocompatibilidad tipo II (MHCII).
3. Se llevo a cabo el diseño y elaboración de una vacuna multiepítipo para combatir los efectos gravesos generados por los periodonto patógenos establecidos, por medio de la síntesis de los epítipos, a los que se les adiciono una molécula transportadora o coadyuvante y una molécula transportadora; así mismo, se obtuvo una vacuna para combatir los efectos nocivos generados por los periodonto patógenos emergente con la síntesis de los epítipos competentes, la molécula de unión y la molécula transportadora.

De esta manera se pudo obtener una vacuna que haga frente a los agentes causales de la periodontitis, desde un enfoque de los periodontopatógenos establecidos, así como también desde el ámbito de los periodontopatógenos emergentes.

SUGERENCIAS

Es necesario tomar conciencia de que la inflamación puede tener una etiología de carácter aséptico (no hay infección), pero también la inflamación puede tener un carácter séptico (si hay infección), y esta se puede originar por la acción de varios agentes, que derivan de LUCA; dentro de los cuales encontramos a las bacterias, que son los microorganismos tratados en el presente trabajo de investigación.

Dichos microorganismos, son seres vivos, y como todo ser vivo tiene el instinto de buscar su supervivencia por medio del cumplimiento de los tres procesos básicos la nutrición, la relación y la reproducción; por tal motivo dichos microorganismos desarrollaron mecanismos que les dan la capacidad de sobrevivir dentro de su huésped.

Es de esta forma que se llega a hablar de la patogenicidad, que es la capacidad del organismo de poder causar enfermedades, pero también hablamos del factor de virulencia, que es un indicador de patogenicidad, es decir, el nivel de daño que puede causar un agente, en ambos casos encontraremos la fuente en el genoma y el proteoma del microorganismo.

El fundamento de lo mencionado líneas arriba, radica en que la vida, como fenómeno natural, que se rige por el principio de la causalidad, en contraste con el principio de la imputación, que rige los hechos sociales donde interviene la voluntad del hombre, encuentra su fundamento en el principio del escudo y la espada, el ataque y la defensa, porque así como hay organismos que, en su rol de depredador, perfeccionan mecanismo y formas de obtener presas de manera más eficiente; los organismos en el rol de presa desarrollan mecanismo que hagan frente a aquellas desarrolladas por el depredador. La finalidad última de todo este ciclo, es la supervivencia.

En conclusión, se necesita estudiar y conocer la enfermedad para poder tratarla y buscar una cura de la misma.

REFERENCIAS

1. Tankova HI, Lazarova ZB, Mitova NG. Dynamics of Gingival Indices and Microbiological Findings During Treatment of Plaque-Induced Gingivitis in Children Aged 10-14 Years. *Niger J Clin Pract.* 2024;27(3):361-7.
2. Roy R, Tiwari M, Donelli G, Tiwari V. Strategies for combating bacterial biofilms: A focus on anti-biofilm agents and their mechanisms of action. *Virulence.* 2018;9(1):522-54.
3. Belibasakis GN, Belstrom D, Eick S, Gursoy UK, Johansson A, Kononen E. Periodontal microbiology and microbial etiology of periodontal diseases: Historical concepts and contemporary perspectives. *Periodontol 2000.* 2023.
4. Abdulkareem AA, Al-Taweel FB, Al-Sharqi AJB, Gul SS, Sha A, Chapple ILC. Current concepts in the pathogenesis of periodontitis: from symbiosis to dysbiosis. *J Oral Microbiol.* 2023;15(1):2197779.
5. Tiburcio-Machado CS, Michelon C, Zanatta FB, Gomes MS, Marin JA, Bier CA. The global prevalence of apical periodontitis: a systematic review and meta-analysis. *Int Endod J.* 2021;54(5):712-35.
6. Tan L, Liu J, Liu Z. Association between periodontitis and the prevalence and prognosis of prediabetes: a population-based study. *J Transl Med.* 2023;21(1):484.
7. Nazir M, Al-Ansari A, Al-Khalifa K, Alhareky M, Gaffar B, Almas K. Global Prevalence of Periodontal Disease and Lack of Its Surveillance. *ScientificWorldJournal.* 2020;2020:2146160.
8. Todescan SMC, Schroth RJ, Dean H, Wicklow B, Michel-Crosato E, Sellers E. High prevalence of periodontitis in children and adolescents with type 2 diabetes. *J Periodontol.* 2023;94(2):174-83.
9. Rothman KJ, Greenland S. Causation and causal inference in epidemiology. *Am J Public Health.* 2005;95 Suppl 1:S144-50.
10. Herrera D, Sanz M, Kebschull M, Jepsen S, Sculean A, Berglundh T, et al. Treatment of stage IV periodontitis: The EFP S3 level clinical practice guideline. *J Clin Periodontol.* 2022;49 Suppl 24:4-71.
11. Di Stefano M, Polizzi A, Santonocito S, Romano A, Lombardi T, Isola G. Impact of Oral Microbiome in Periodontal Health and Periodontitis: A Critical Review on Prevention and Treatment. *Int J Mol Sci.* 2022;23(9).
12. Slots J. Primer on etiology and treatment of progressive/severe periodontitis: A

- systemic health perspective. *Periodontol 2000*. 2020;83(1):272-6.
13. Fischer RG, Gomes Filho IS, Cruz SSD, Oliveira VB, Lira-Junior R, Scannapieco FA, et al. What is the future of Periodontal Medicine? *Braz Oral Res*. 2021;35(Supp 2):e102.
14. Sanz M, Herrera D, Kebschull M, Chapple I, Jepsen S, Beglundh T, et al. Treatment of stage I-III periodontitis-The EFP S3 level clinical practice guideline. *J Clin Periodontol*. 2020;47 Suppl 22(Suppl 22):4-60.
15. Stincone A, Prigione A, Cramer T, Wamelink MM, Campbell K, Cheung E, et al. The return of metabolism: biochemistry and physiology of the pentose phosphate pathway. *Biol Rev Camb Philos Soc*. 2015;90(3):927-63.
16. Darby I. Risk factors for periodontitis & peri-implantitis. *Periodontol 2000*. 2022;90(1):9-12.
17. Solano C, Echeverz M, Lasa I. Biofilm dispersion and quorum sensing. *Curr Opin Microbiol*. 2014;18:96-104.
18. Haas AN, Furlaneto F, Gaio EJ, Gomes SC, Palioto DB, Castilho RM, et al. New tendencies in non-surgical periodontal therapy. *Braz Oral Res*. 2021;35(Supp 2):e095.
19. Rajendiran M, Trivedi HM, Chen D, Gajendrareddy P, Chen L. Recent Development of Active Ingredients in Mouthwashes and Toothpastes for Periodontal Diseases. *Molecules*. 2021;26(7).
20. Priyamvara A, Dey AK, Bandyopadhyay D, Katikineni V, Zaghlol R, Basyal B, et al. Periodontal Inflammation and the Risk of Cardiovascular Disease. *Curr Atheroscler Rep*. 2020;22(7):28.
21. Kwon T, Lamster IB, Levin L. Current Concepts in the Management of Periodontitis. *Int Dent J*. 2021;71(6):462-76.
22. Sutthiboonyapan P, Wang HL, Charatkulangkun O. Flowcharts for Easy Periodontal Diagnosis Based on the 2018 New Periodontal Classification. *Clin Adv Periodontics*. 2020;10(3):155-60.
23. Jepsen K, Sculean A, Jepsen S. Complications and treatment errors related to regenerative periodontal surgery. *Periodontol 2000*. 2023;92(1):120-34.
24. Loos BG, Van Dyke TE. The role of inflammation and genetics in periodontal disease. *Periodontol 2000*. 2020;83(1):26-39.
25. Beck JD, Papapanou PN, Philips KH, Offenbacher S. Periodontal Medicine: 100 Years of Progress. *J Dent Res*. 2019;98(10):1053-62.

26. Kirtiloglu T, Keskiner I, Sahin M, Kirtiloglu B, Aygul S, Sakalliloglu U, et al. Assessment of the half-life of cationic periodontal pocket irrigation. *BMC Oral Health*. 2020;20(1):10.
27. Do TA, Le HS, Shen YW, Huang HL, Fuh LJ. Risk Factors related to Late Failure of Dental Implant-A Systematic Review of Recent Studies. *Int J Environ Res Public Health*. 2020;17(11).
28. Jain R, Chaturvedi R, Pandit N, Grover V, Lyle DM, Jain A. Evaluation of the efficacy of subgingival irrigation in patients with moderate-to-severe chronic periodontitis otherwise indicated for periodontal flap surgeries. *J Indian Soc Periodontol*. 2020;24(4):348-53.
29. Slot DE, Valkenburg C, Van der Weijden GAF. Mechanical plaque removal of periodontal maintenance patients: A systematic review and network meta-analysis. *J Clin Periodontol*. 2020;47 Suppl 22:107-24.
30. Ferrillo M, Giudice A, Migliario M, Reno F, Lippi L, Calafiore D, et al. Oral-Gut Microbiota, Periodontal Diseases, and Arthritis: Literature Overview on the Role of Probiotics. *Int J Mol Sci*. 2023;24(5).
31. Nibali L, Sultan D, Arena C, Pelekos G, Lin GH, Tonetti M. Periodontal infrabony defects: Systematic review of healing by defect morphology following regenerative surgery. *J Clin Periodontol*. 2021;48(1):100-13.
32. Lin P, Niimi H, Ohsugi Y, Tsuchiya Y, Shimohira T, Komatsu K, et al. Application of Ligature-Induced Periodontitis in Mice to Explore the Molecular Mechanism of Periodontal Disease. *Int J Mol Sci*. 2021;22(16).
33. Pan W, Wang Q, Chen Q. The cytokine network involved in the host immune response to periodontitis. *Int J Oral Sci*. 2019;11(3):30.
34. Chakravarthy Y, Mishra A, Krishnan P, Pathakota KR, Vijaya V, Kamatham SN. Evaluation of serum and gingival crevicular fluid levels of Vitamin D binding protein in subjects with clinically healthy periodontium and chronic periodontitis: A clinico bio-chemical study. *Indian J Dent Res*. 2022;33(3):301-6.
35. Stueland H, Orstavik D, Handal T. Treatment outcome of surgical and non-surgical endodontic retreatment of teeth with apical periodontitis. *Int Endod J*. 2023;56(6):686-96.
36. Van der Weijden GAF, Dekkers GJ, Slot DE. Success of non-surgical periodontal therapy in adult periodontitis patients: A retrospective analysis. *Int J Dent Hyg*. 2019;17(4):309-17.

37. Kumar S. Evidence-Based Update on Diagnosis and Management of Gingivitis and Periodontitis. *Dent Clin North Am.* 2019;63(1):69-81.
38. Zini A, Mazor S, Timm H, Barker ML, Grender JM, Gerlach RW, et al. Effects of an oral hygiene regimen on progression of gingivitis/early periodontitis: A randomized controlled trial. *Can J Dent Hyg.* 2021;55(2):85-94.
39. Yang B, Pang X, Li Z, Chen Z, Wang Y. Immunomodulation in the Treatment of Periodontitis: Progress and Perspectives. *Front Immunol.* 2021;12:781378.
40. Charupinijkul A, Arunyanak S, Rattanasiri S, Vathesatogkit P, Thienpramuk L, Lertpimonchai A. The effect of obesity on periodontitis progression: the 10-year retrospective cohort study. *Clin Oral Investig.* 2022;26(1):535-42.
41. Raittio E, Baelum V. Justification for the 2017 periodontitis classification in the light of the Checklist for Modifying Disease Definitions: A narrative review. *Community Dent Oral Epidemiol.* 2023;51(6):1169-79.
42. Bayne T, Hohwy J, Owen AM. Reforming the taxonomy in disorders of consciousness. *Ann Neurol.* 2017;82(6):866-72.
43. Almubarak A, Tanagala KKK, Papapanou PN, Lalla E, Momen-Heravi F. Disruption of Monocyte and Macrophage Homeostasis in Periodontitis. *Front Immunol.* 2020;11:330.
44. Stodle IH, Verket A, Hovik H, Sen A, Koldsland OC. Prevalence of periodontitis based on the 2017 classification in a Norwegian population: The HUNT study. *J Clin Periodontol.* 2021;48(9):1189-99.
45. Papapanou PN, Kornman KS. Periodontitis Classification. *J Am Dent Assoc.* 2020;151(3):159.
46. Khot AJP, Ankola AV, Dodamani S, Sankeshwari RM, Kumar RS, Santhosh VN. Assessment of potential antimicrobial activity of Ocimum basilicum extract and chlorhexidine against Socransky's complex pathogens of oral cavity: An in vitro study. *J Indian Soc Periodontol.* 2023;27(5):479-86.
47. Kumar V, Ankola AV, Sankeshwari R, Jalihal S, Deepak V, Jois HS. Assessment of the antimicrobial efficacy of hydroalcoholic fruit extract of cranberry against Socransky complexes and predominant cariogenic, mycotic and endodontic climax communities of the oral cavity: An extensive in-vitro study. *J Oral Maxillofac Pathol.* 2019;23(3):407-11.
48. Tellez Corral MA, Herrera Daza E, Cuervo Jimenez HK, Bravo Becerra MDM, Villamil JC, Hidalgo Martinez P, et al. Cryptic Oral Microbiota: What Is Its Role

- as Obstructive Sleep Apnea-Related Periodontal Pathogens? *Int J Environ Res Public Health*. 2023;20(3).
49. Tomas I, Regueira-Iglesias A, Lopez M, Arias-Bujanda N, Novoa L, Balsa-Castro C, et al. Quantification by qPCR of Pathobionts in Chronic Periodontitis: Development of Predictive Models of Disease Severity at Site-Specific Level. *Front Microbiol*. 2017;8:1443.
 50. Ananda N, Suniarti DF, Bachtiar EW. The antimicrobial effect of *Limosilactobacillus reuteri* as probiotic on oral bacteria: A scoping review. *F1000Res*. 2023;12:1495.
 51. Malinowski B, Wesierska A, Zalewska K, Sokolowska MM, Bursiewicz W, Socha M, et al. The role of *Tannerella forsythia* and *Porphyromonas gingivalis* in pathogenesis of esophageal cancer. *Infect Agent Cancer*. 2019;14:3.
 52. Pisani F, Pisani V, Arcangeli F, Harding A, Singhrao SK. *Treponema denticola* Has the Potential to Cause Neurodegeneration in the Midbrain via the Periodontal Route of Infection-Narrative Review. *Int J Environ Res Public Health*. 2023;20(11).
 53. Pakbin B, Bruck WM, Rossen JWA. Virulence Factors of Enteric Pathogenic *Escherichia coli*: A Review. *Int J Mol Sci*. 2021;22(18).
 54. Leitao JH. Microbial Virulence Factors. *Int J Mol Sci*. 2020;21(15).
 55. Reyes L. *Porphyromonas gingivalis*. *Trends Microbiol*. 2021;29(4):376-7.
 56. Xu W, Zhou W, Wang H, Liang S. Roles of *Porphyromonas gingivalis* and its virulence factors in periodontitis. *Adv Protein Chem Struct Biol*. 2020;120:45-84.
 57. Bregaint S, Boyer E, Fong SB, Meuric V, Bonnaure-Mallet M, Jolivet-Gougeon A. *Porphyromonas gingivalis* outside the oral cavity. *Odontology*. 2022;110(1):1-19.
 58. Zheng S, Yu S, Fan X, Zhang Y, Sun Y, Lin L, et al. *Porphyromonas gingivalis* survival skills: Immune evasion. *J Periodontal Res*. 2021;56(6):1007-18.
 59. Hottmann I, Borisova M, Schaffer C, Mayer C. Peptidoglycan Salvage Enables the Periodontal Pathogen *Tannerella forsythia* to Survive within the Oral Microbial Community. *Microb Physiol*. 2021;31(2):123-34.
 60. Whitaker EJ, Darcey CD, Somerset SM. Aggregation of Human Platelets by *Tannerella forsythia*. *Contemp Clin Dent*. 2022;13(2):135-9.
 61. Aravindraja C, Jeepipalli S, Duncan W, Vekariya KM, Bahadekar S, Chan EKL, et al. Unique miRomics Expression Profiles in *Tannerella forsythia*-Infected

- Mandibles during Periodontitis Using Machine Learning. *Int J Mol Sci.* 2023;24(22).
62. Xu X, Li X, Chen Q, Yuan J. Detection of *Treponema denticola* in Chronic Periodontitis by Quantitative Real-Time Polymerase Chain Reaction. *J Nanosci Nanotechnol.* 2020;20(3):1463-9.
 63. Kikuchi Y, Ishihara K. Characterization of the *Treponema denticola* Virulence Factor Dentilisin. *Methods in molecular biology.* 2021;2210:173-84.
 64. Parthiban K, Veeraraghavan VP, Sekaran S, Rengasamy G, Eswaramoorthy R. Molecular docking analysis of a virulence factor protein dentilisin from *Treponema denticola* with oxazole piperazine derivatives. *Bioinformation.* 2023;19(1):57-62.
 65. Bourgeois D, Bravo M, Llodra JC, Inquimbert C, Viennot S, Dussart C, et al. Calibrated interdental brushing for the prevention of periodontal pathogens infection in young adults - a randomized controlled clinical trial. *Sci Rep.* 2019;9(1):15127.
 66. Kapila YL. Oral health's inextricable connection to systemic health: Special populations bring to bear multimodal relationships and factors connecting periodontal disease to systemic diseases and conditions. *Periodontology* 2000. 2021;87(1):11-6.
 67. Van Dyke TE, Bartold PM, Reynolds EC. The Nexus Between Periodontal Inflammation and Dysbiosis. *Front Immunol.* 2020;11:511.
 68. Miralda I, Uriarte SM. Periodontal Pathogens' strategies disarm neutrophils to promote dysregulated inflammation. *Mol Oral Microbiol.* 2021;36(2):103-20.
 69. Williams DW, Greenwell-Wild T, Brenchley L, Dutzan N, Overmiller A, Sawaya AP, et al. Human oral mucosa cell atlas reveals a stromal-neutrophil axis regulating tissue immunity. *Cell.* 2021;184(15):4090-104 e15.
 70. Sedghi LM, Bacino M, Kapila YL. Periodontal Disease: The Good, The Bad, and The Unknown. *Front Cell Infect Microbiol.* 2021;11:766944.
 71. Li X, Kiprowska M, Kansara T, Kansara P, Li P. Neuroinflammation: A Distal Consequence of Periodontitis. *J Dent Res.* 2022;101(12):1441-9.
 72. Mantovani A, Garlanda C. Humoral Innate Immunity and Acute-Phase Proteins. *N Engl J Med.* 2023;388(5):439-52.
 73. Gomez-Bris R, Saez A, Herrero-Fernandez B, Rius C, Sanchez-Martinez H, Gonzalez-Granado JM. CD4 T-Cell Subsets and the Pathophysiology of

- Inflammatory Bowel Disease. *Int J Mol Sci.* 2023;24(3).
74. Lo BC, Kryczek I, Yu J, Vatan L, Caruso R, Matsumoto M, et al. Microbiota-dependent activation of CD4(+) T cells induces CTLA-4 blockade-associated colitis via Fcγ receptors. *Science.* 2024;383(6678):62-70.
 75. Buck DW, 2nd, Dumanian GA. Bone biology and physiology: Part I. The fundamentals. *Plast Reconstr Surg.* 2012;129(6):1314-20.
 76. Yasuda H. Discovery of the RANKL/RANK/OPG system. *J Bone Miner Metab.* 2021;39(1):2-11.
 77. De Leon-Oliva D, Barrena-Blazquez S, Jimenez-Alvarez L, Fraile-Martinez O, Garcia-Montero C, Lopez-Gonzalez L, et al. The RANK-RANKL-OPG System: A Multifaceted Regulator of Homeostasis, Immunity, and Cancer. *Medicina (Kaunas).* 2023;59(10).
 78. Udagawa N, Koide M, Nakamura M, Nakamichi Y, Yamashita T, Uehara S, et al. Osteoclast differentiation by RANKL and OPG signaling pathways. *J Bone Miner Metab.* 2021;39(1):19-26.
 79. Datta HK, Ng WF, Walker JA, Tuck SP, Varanasi SS. The cell biology of bone metabolism. *J Clin Pathol.* 2008;61(5):577-87.
 80. Walsh MC, Choi Y. Regulation of T cell-associated tissues and T cell activation by RANKL-RANK-OPG. *J Bone Miner Metab.* 2021;39(1):54-63.
 81. Kim JE. Osteoclastogenesis and Osteogenesis. *Int J Mol Sci.* 2022;23(12).
 82. Cui J, Shibata Y, Zhu T, Zhou J, Zhang J. Osteocytes in bone aging: Advances, challenges, and future perspectives. *Ageing Res Rev.* 2022;77:101608.
 83. Kisielowski K, Drozdowska B, Koszowski R, Rynkiewicz M, Szuta M, Rahnama M, et al. Immunoexpression of RANK, RANKL and OPG in sporadic odontogenic keratocysts and their potential association with recurrence. *Adv Clin Exp Med.* 2021;30(3):301-7.
 84. Boyce BF, Xing L. Functions of RANKL/RANK/OPG in bone modeling and remodeling. *Arch Biochem Biophys.* 2008;473(2):139-46.
 85. Wu Z, Duan S, Li M, Zhang A, Yang H, Luo J, et al. Autophagy regulates bone loss via the RANKL/RANK/OPG axis in an experimental rat apical periodontitis model. *Int Endod J.* 2024;57(9):1315-25.
 86. Boyce BF, Xing L. Biology of RANK, RANKL, and osteoprotegerin. *Arthritis Res Ther.* 2007;9 Suppl 1(Suppl 1):S1.
 87. Hanada R, Hanada T, Sigl V, Schramek D, Penninger JM. RANKL/RANK-

- beyond bones. *J Mol Med (Berl)*. 2011;89(7):647-56.
88. Hienz SA, Paliwal S, Ivanovski S. Mechanisms of Bone Resorption in Periodontitis. *J Immunol Res*. 2015;2015:615486.
 89. Guo Y, Xu C, Wu X, Zhang W, Sun Y, Shrestha A. Leptin regulates OPG and RANKL expression in Gingival Fibroblasts and Tissues of Chronic Periodontitis Patients. *Int J Med Sci*. 2021;18(11):2431-7.
 90. Lopez Roldan A, Garcia Gimenez JL, Alpiste Illueca F. Impact of periodontal treatment on the RANKL/OPG ratio in crevicular fluid. *PLoS One*. 2020;15(1):e0227757.
 91. Kayser V, Ramzan I. Vaccines and vaccination: history and emerging issues. *Hum Vaccin Immunother*. 2021;17(12):5255-68.
 92. Canoui E, Launay O. [History and principles of vaccination]. *Rev Mal Respir*. 2019;36(1):74-81.
 93. Pavli A, Maltezou HC. Travel vaccines throughout history. *Travel Med Infect Dis*. 2022;46:102278.
 94. Oleckno WA. The risk of stroke in young adults: an analysis of the contribution of cigarette smoking and alcohol consumption. *Public Health*. 1988;102(1):45-55.
 95. Yeh MT, Bujaki E, Dolan PT, Smith M, Wahid R, Konz J, et al. Engineering the Live-Attenuated Polio Vaccine to Prevent Reversion to Virulence. *Cell Host Microbe*. 2020;27(5):736-51 e8.
 96. Jin L, Li Z, Zhang X, Li J, Zhu F. CoronaVac: A review of efficacy, safety, and immunogenicity of the inactivated vaccine against SARS-CoV-2. *Hum Vaccin Immunother*. 2022;18(6):2096970.
 97. Woodworth JS, Clemmensen HS, Battey H, Dijkman K, Lindenstrom T, Laureano RS, et al. A Mycobacterium tuberculosis-specific subunit vaccine that provides synergistic immunity upon co-administration with Bacillus Calmette-Guerin. *Nat Commun*. 2021;12(1):6658.
 98. Schneerson R, Robbins JB, Taranger J, Lagergard T, Trollfors B. A toxoid vaccine for pertussis as well as diphtheria? Lessons to be relearned. *Lancet*. 1996;348(9037):1289-92.
 99. Bonanni P, Steffen R, Schelling J, Balaisyte-Jazone L, Posiuniene I, Zatonski M, et al. Vaccine co-administration in adults: An effective way to improve vaccination coverage. *Hum Vaccin Immunother*. 2023;19(1):2195786.
 100. Li H, LaDuca H, Pesaran T, Chao EC, Dolinsky JS, Parsons M, et al. Classification

- of variants of uncertain significance in BRCA1 and BRCA2 using personal and family history of cancer from individuals in a large hereditary cancer multigene panel testing cohort. *Genet Med*. 2020;22(4):701-8.
101. Vicentini M, Vassallo M, Ferrero R, Androulakis I, Manzin A. In silico evaluation of adverse eddy current effects in preclinical tests of magnetic hyperthermia. *Comput Methods Programs Biomed*. 2022;223:106975.
 102. Pappalardo F, Russo G, Tshinanu FM, Viceconti M. In silico clinical trials: concepts and early adoptions. *Brief Bioinform*. 2019;20(5):1699-708.
 103. Shaker B, Ahmad S, Shen J, Kim HW, Na D. Computational Design of a Multi-Epitope Vaccine Against *Porphyromonas gingivalis*. *Front Immunol*. 2022;13:806825.
 104. Mirmohammadsadegh N, Mashreghi Mohammadi N, Amin M. Potential *Treponema denticola*-based periodontal vaccine to resolve a global public health challenge: a narrative literature review. *Expert Rev Vaccines*. 2022;21(5):621-32.
 105. Rocha FG, Berges A, Sedra A, Ghods S, Kapoor N, Pill L, et al. A *Porphyromonas gingivalis* Capsule-Conjugate Vaccine Protects From Experimental Oral Bone Loss. *Front Oral Health*. 2021;2:686402.
 106. Hirayama S, Nakao R. Intranasal Vaccine Study Using *Porphyromonas gingivalis* Membrane Vesicles: Isolation Method and Application to a Mouse Model. *Methods Mol Biol*. 2021;2210:157-66.
 107. Fan X, Li X, Ren H, Lan J, Zhang S. rgpA-Engineered/Functionalized DNA Vaccine as a Novel Prophylactic Vaccination to Prevent *Porphyromonas gingivalis*-Induced Periodontitis: An in Vivo Study. *Discov Med*. 2024;36(181):355-65.
 108. Ramana J, Mehla K. Immunoinformatics and Epitope Prediction. *Methods Mol Biol*. 2020;2131:155-71.
 109. Kallewaard NL, Corti D, Collins PJ, Neu U, McAuliffe JM, Benjamin E, et al. Structure and Function Analysis of an Antibody Recognizing All Influenza A Subtypes. *Cell*. 2016;166(3):596-608.
 110. Kaur T, Madgulkar A, Bhalekar M, Asgaonkar K. Molecular Docking in Formulation and Development. *Curr Drug Discov Technol*. 2019;16(1):30-9.
 111. Madanagopal P, Muthusamy S, Pradhan SN, Prince PR. Construction and validation of a multi-epitope in silico vaccine model for lymphatic filariasis by targeting *Brugia malayi*: a reverse vaccinology approach. *Bull Natl Res Cent*.

2023;47(1):47.

112. Ma S, Zhu F, Xu Y, Wen H, Rao M, Zhang P, et al. Development of a novel multi-epitope mRNA vaccine candidate to combat HMPV virus. Hum Vaccin Immunother. 2023;19(3):2293300.
113. Obando-Pereda G. Can molecular mimicry explain the cytokine storm of SARS-CoV-2?: An in silico approach. Journal of medical virology. 2021;93(9):5350-7.

