



UNIVERSIDADE CATÓLICA PORTUGUESA | INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

INTERACTOMA DA CAVIDADE ORAL EM DIABETES

*Dissertação apresentada à Universidade Católica Portuguesa para
obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária*

Por

Ricardo Jorge Nogueira Lopes

Viseu, 2014



UNIVERSIDADE
CATÓLICA PORTUGUESA | INSTITUTO DE
CIÊNCIAS DA SAÚDE

INTERACTOMA DA CAVIDADE ORAL EM DIABETES

*Dissertação apresentada à Universidade Católica Portuguesa para
obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária*

Por

Ricardo Jorge Nogueira Lopes

Sob a orientação do Professor Doutor Nuno Rosa

Viseu, 2014

-Ó homem, conhece-te a ti mesmo e conhecerás os deuses e o universo-
Oráculo de Delfos

Agradecimentos

Ao Professor Doutor Nuno Rosa,
Pela orientação e pelo auxílio na aprendizagem necessária ao longo da tese, a qual teria sido bem mais morosa.

À Professora Doutora Maria José,
Pela motivação e

À Professora Doutora Marlene Barros,
Pelo estímulo à arte da crítica e da dúvida.

À Ana,
Por me permitir conhecer-me melhor e aprender a amar.

Aos meus pais,
Pelo apoio a todos os níveis.

À Lurdes e ao Jorge,
Por me aturarem.

Ao Carlos,
Pela ajuda preciosa.

Nota Prévia

Ao longo deste trabalho irão ser apresentados termos na língua Inglesa cuja tradução não foi realizada com vista a manutenção do seu significado original. Tomo como exemplo o sistema de classificação à base de ontologias, às quais me refiro ao longo da presente dissertação, em que a permanência das expressões na língua Inglesa é essencial para uma classificação terminológica comum e objectiva, que pode ser utilizada por investigadores e sistemas informáticos de investigação em todo o mundo, evitando-se ambiguidades e perdas de significados do ponto de vista biológico.

Índice

1	Introdução	1
1.1	Diabetes Mellitus	1
1.1.1	Fisiopatologia	2
1.1.2	Complicações Orais	8
1.1.3	Microbiota oral na Diabetes Mellitus	10
1.3	Proteómica/Interactómica	11
1.4	Ferramentas bioinformáticas	14
2	Objetivos	16
3	Material e Métodos	17
3.1	Atualização do Oraloma da DMT1 e DMT2	17
3.1.1.	Identificação e origem dos microrganismos orais da DMT1 e DMT2	18
3.1.2.	Relação com os estados de saúde e doença	19
3.1.3.	Caracterização do dador da amostra	20
3.1.4.	Métodos de amostragem e análise	20
3.1.5.	Outras informações	20
3.2	Tratamento dos dados de interactómica do OralInt	21
3.3	Caracterização funcional das proteínas humanas alteradas em Diabetes Mellitus, de acordo com o OralCard	22
3.3.1.	Nome das proteínas	28
3.3.2.	Quantificação	28
3.3.3.	Local de amostragem	29
3.3.4.	Identificação como biomarcadores	30
3.3.5.	Processos biológicos	30
3.4	Seleção das proteínas humanas de interesse para a análise interactómica	31
3.5	Caracterização funcional das proteínas microbianas em interação com as humanas	31
4	Resultados e discussão	37
4.1	Microrganismos alterados em DMT1 e DMT2	37
4.2	Caracterização funcional das proteínas humanas alteradas em Diabetes Mellitus, de acordo com o OralCard	38
4.3	Seleção das proteínas humanas com interesse fisiopatológico	42
4.4	Caracterização funcional das proteínas microbianas em interação com as humanas	47

4.5	Interações.....	56
5	Conclusão.....	61
6.	Bibliografia.....	63
7	Anexos	67

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 - Via dos polióis alterada em situação diabética. A hiperglicemia induz uma sobreprodução de espécies reativas de oxigénio (ROS), que conduz, por sua vez, ao aumento da conversão da glicose em sorbitol e à sua oxidação em frutose, com uma exacerbação final da produção de ROS. Abreviaturas: ROS, espécies reativas de oxigénio; SDH, desidrogenase do sorbitol; NAD, nicotinamida adenina dinucleótido; NADP, nicotinamida adenina dinucleótido fostato; NADPH, nicotinamida adenina dinucleótido fosfato reduzida (8).	5
Figura 2 - Via da proteína cinase C. Elevadas concentrações de glicose intracelular aumentam a produção do segundo mensageiro diacilglicerol nas células endoteliais, o que conduz à ativação da PKC e causa uma subsequente expressão de uma série de genes pró-inflamatórios e fatores de crescimento, como TGF β , colagénio, fibronectina, PAI-1, VEGF, possivelmente associados à ativação do NF- κ B. Abreviaturas: ROS, espécies reativas de oxigénio; DAG, diacilglicerol; PKC, proteína cinase C; TGF β , factor de crescimento tumoral; PAI-1, inibidor do ativador de plasminogénio-1; VEGF, factor de crescimento do endotélio vascular; NF- κ B, factor nuclear-kappa B (8).....	6
Figura 3 - Cabeçalhos que permitem a organização da informação recolhida dos diferentes estudos microbiológicos da cavidade oral, em DMT1 e DMT2, numa tabela em Microsoft Excel 2007.	18
Figura 4 - Cabeçalho da tabela em Microsoft Excel 2007 relativo à identificação e origem dos microrganismos da DMT1 e DMT2.....	18
Figura 5 - Cabeçalho da tabela em Microsoft Excel 2007 da relação dos microrganismos com os estados de saúde e doença.....	19
Figura 6 - Cabeçalho da tabela em Microsoft Excel 2007 referente à caraterização do dador da amostra.	20
Figura 7 - Cabeçalho da tabela em Microsoft Excel 2007 referente aos métodos de amostragem e análise para os microrganismos da DMT1 e DMT2.....	20
Figura 8 - Cabeçalho da tabela em Microsoft Excel 2007 referente às interações disponibilizadas no OralInt.	21
Figura 9 - Páginat inicial do sítio na internet do AgBase, com seleção da ferramenta GoRetriever, no separador “Tools”.	23
Figura 10 - Página do GoRetriever – seleção da opção “UniProt Accession”.	23
Figura 11 - Página de resultados da ferramenta GoRetriever – seleção da opção “GO Summary file (for use in GOSlimViewer) para obtenção do ficheiro de texto (.txt) para utilização na ferramenta GOSlimViewer.	24
Figura 12 - Seleção da ferramenta GOSlimViewer, no separador “Tools”.....	25
Figura 13 - Página do GOSlimViewer – seleção da opção “Generic”, no campo “Select GOSlim Set”.	25
Figura 14 - Página de resultados do GOSlimViewer – seleção da opção “View acessions for each slim id”.....	26
Figura 15 - Página com a listagem detalhada das ontologias genéticas para cada uma das proteínas analisadas. Seleção da opção “View acessions for each slim id text only”.....	26
Figura 16 - Porção de uma das tabelas dinâmicas elaboradas como passo intermédio para a construção da tabela funcional para as proteínas humanas de DMT1 e DMT2. Na tabela, “GO_Name” refere-se ao processo biológico geral, “GO_name2” refere-se ao	

processo biológico específico, e “Input_Accession” refere-se às proteínas identificadas em cada um dos processos biológicos específicos.....	27
Figura 17 - Porção da tabela funcional para as proteínas humanas de DMT1 (identificadas a vermelho) e de DMT2 (identificadas a azul), mostrando todos os dados que foram utilizados para a construção da tabela – código UniProt, nome da proteína, quantificação, local de amostragem, identificação como biomarcador e processos biológicos.....	28
Figura 18 - Porção (com respetivo cabeçalho) da tabela dinâmica obtida para o cálculo da quantificação de cada uma das proteínas de DMT1 e DMT2.	29
Figura 19 - Página do GOSlimViewer.....	32
Figura 20 - Página inicial do UniProt, com destaque para o separador “Retrieve”.	33
Figura 21 - Página da ferramenta “Retrieve”, apresentando a colagem dos códigos das proteínas no campo “UniProt identifiers” e a seleção da opção “Retrieve”.	34
Figura 22 - Página da ferramenta “Retrieve”, após processamento das proteína introduzidas, com seleção da opção “UniProtKB”, permitindo aceder à página de resultados.	34
Figura 23 - Página de resultados do “Retrieve”, mostrando o separador “customize”. 34	
Figura 24 - Página do separador “customize”, mostrando o campo “columns”, onde é possível selecionar as informações a introduzir na tabela de resultados, através dos botões “Show” e “Hide”, assim como o botão “Save”, utilizado para guardar a informação e obter a tabela personalizada.	34
Figura 25 - Página de resultados, após a personalização da tabela, com a seleção da opção “download”, para obtenção do ficheiro da tabela resultante.	35
Figura 26 - Página de “download”, com seleção da opção que permite obter o ficheiro de formato para importação para o Excel.....	35
Figura 27 - Distribuição das proteínas humanas alteradas em DMT1 por processo biológico.	39
Figura 28 - Distribuição das proteínas humanas alteradas em DMT2 por processo biológico.	40
Figura 29 - Distribuição das proteínas microbianas em interação com as humanas selecionadas para DMT1, de acordo com o processo biológico.	48
Figura 30 - Distribuição das proteínas microbianas em interação com as humanas selecionadas para DMT1, de acordo com a função molecular.	50
Figura 31 - Distribuição das proteínas microbianas em interação com as humanas selecionadas para DMT2, de acordo com o processo biológico.	52
Figura 32 - Distribuição das proteínas microbianas em interação com as humanas selecionadas para DMT2, de acordo com a função molecular.	54

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 – Microrganismos alterados em DM e respetiva bibliografia associada.	37
Tabela 2 – Proteínas humanas com interesse fisiopatológico, apresentadas com o código UniProt e o nome.	42

Tabela 3 – Proteínas humanas selecionadas, com apresentação dos processos biológicos em que intervêm..... 44

Tabela 4 – Pares de PPIs com o código UniProt e o nome de cada proteína.. 56

Lista de abreviaturas

DM – Diabetes Mellitus

DMT1 – Diabetes Mellitus Tipo 1

DMT2 – Diabetes Mellitus Tipo 2

AGE – Advanced glycation end-product

VLDL – Very low-density lipoprotein

ROS – Reactive oxygene species

NAD⁺ - Aldehyde dehydrogenase

HbA1c – Glycated hemoglobin

Resumo

Introdução: A cavidade oral é um ecossistema complexo que reflete as interações moleculares estabelecidas entre proteínas do hospedeiro e proteínas produzidas pelo microbiota que o coloniza. Isto é verdade não só em estados de saúde como também em diversas patologias.

A microflora poderá desempenhar um papel fulcral na etiologia da diabetes e, mais especificamente, a microflora oral nas complicações orais desta patologia. De modo a esclarecer este papel, urge identificar não só as moléculas envolvidas mas também os mecanismos moleculares em que elas participam.

As ferramentas bioinformáticas desempenham um papel importante nesta tarefa, fornecendo os meios que permitem estabelecer os pares de proteínas interactuantes, ou seja, o interactoma hospedeiro-microbiota em diabetes.

Objectivo: Determinar e interpretar do ponto de vista fisiopatológico o conjunto de interações entre as proteínas microbianas e do hospedeiro, na cavidade oral, no contexto da diabetes.

Materiais e Métodos: Identificar os microrganismos alterados em diabetes e fazer o levantamento das proteínas produzidas por eles. Atualizar a informação relativa às proteínas humanas alteradas em diabetes. As proteínas identificadas foram incluídas no OralCard e submetidas ao OralInt de modo a estabelecer o interactoma hospedeiro-microbiota em diabetes. Os resultados obtidos foram interpretados e discutidos à luz da fisiopatologia da diabetes.

Resultados e discussão: De entre todas as interações obtidas, foram avançadas como hipóteses 6 interações nunca propostas para para DMT1 e 24 interações para DMT2. Destas foram detalhadas a interação entre interleucina-1 beta e uma aminometiltransferase microbiana e entre a mieloperoxidase e uma C5a peptidase humana. Ambas as interações discutidas em detalhe e outras sugeridas neste trabalho revelam evidência de suporte ao facto da resposta à infeção por parte de pacientes diabéticos estar comprometida.

Palavras-chave: proteoma oral, OralOme, interatómica inter-organismo, diabetes, biomedicina computacional

Abstract

Introduction: The oral cavity is a complex ecosystem that reflects the molecular interactions established between proteins from the host and proteins produced by the microbiota which colonizes it. This is not only true for healthy states, but also for many pathologies.

The microflora could play a fundamental role in the etiology of diabetes and, more specifically, the oral microflora could play a role in the oral complications of this pathology. In order to establish this role, it urges to identify not only the molecules involved, but also the molecular mechanisms in which they participate.

The bioinformatic tools play an important role in this task, providing the means to establish the pairs of interacting proteins, which is the host-microbiota interactome in diabetes.

Goals: To determine and interpret, from the physiopathological point of view, the set of interactions between microbial and host proteins, in the oral cavity, in the context of diabetes.

Materials and Methods: To identify the altered microorganisms in diabetes and the proteins produced by them. To update the information related to altered human proteins in diabetes. The identified proteins were included in OralCard and submitted to OralInt, in order to establish the host-microbiota interactome in diabetes. The results were interpreted and discussed according to the fisiopathology of diabetes.

Results and Discussion: Among all the obtained interactions, there were selected 6 interactions in DMT1 and 24 interactions in DMT2, which were presented as possibilities, never proposed before. Among these, there were detailed the interaction between interleukin-1 beta and an microbial aminomethyltransferase and between myeloperoxidase and a human C5a peptidase. Both interactions discussed in detail and others suggested in this work give support to the fact that the infection response is compromised in diabetic patients.

Key-Words: oral proteome, OralOme, inter-organism interactomics, diabetes, computational biology

1 Introdução

1.1 Diabetes Mellitus

Encontra-se classificado, sob a denominação de Diabetes Mellitus (DM), um conjunto de patologias metabólicas que se caracterizam por um estado hiperglicêmico crônico, que geralmente conduz a diversas complicações de ordem sistêmica (1, 2).

Os dois principais tipos de Diabetes são o 1 e o 2, existindo ainda diversos tipos de diabetes secundários menos comuns (1, 3, 4).

Estima-se que, do total de pacientes diabéticos, cerca de 10% sofram de Diabetes Mellitus do Tipo 1 (DMT1) e os restantes 90% de Diabetes Mellitus do Tipo 2 (DMT2) (1, 5).

A DMT1 tende a manifestar-se em pessoas jovens, geralmente com idade inferior a 20 anos. Apresenta-se histologicamente como uma destruição auto-imune das células β do pâncreas, caracterizando-se, então, pela ausência de secreção de insulina. Os sintomas tradicionais são a polifagia, a polidipsia e a poliúria. Os pacientes apresentam também uma tendência marcada para a perda de peso súbita, sem outra causa associada, assim como para a cetoacidose e o coma (1, 2, 5).

A DMT2 geralmente ocorre em pacientes com idade superior a 40 anos, embora a sua incidência esteja a aumentar em jovens adultos (6). Nesta condição, a síntese de insulina pelas células β pancreáticas encontra-se preservada, estando o problema relacionado com uma secreção insuficiente e/ou com uma resistência periférica à insulina aumentada (1). Desenvolve-se mais comumente em indivíduos obesos, resultando, em grande medida de fatores modificáveis, como a dieta, o exercício físico e o consumo de álcool (3), podendo ser controlada por meio de cuidados dietéticos e/ou farmacoterapia hipoglicemiante oral (4, 5).

1.1.1 Fisiopatologia

Na DMT1, verifica-se uma ausência completa de insulina, causada pela destruição das células β pancreáticas, geralmente produzida por um mecanismo auto-imune que, em alguns casos, pode ser despoletado por uma infecção vírica. Além disso, linfócitos T infiltram as ilhotas de Langerhans do pâncreas, podendo ser detetados auto-anticorpos contra o tecido alvo (2).

Na DMT2, existe uma deficiência relativa de insulina. A secreção de insulina pode ser normal ou até aumentada, mas depara-se com uma sensibilidade periférica à insulina diminuída. A redução da sensibilidade à insulina afeta, principalmente, o metabolismo da glicose (2, 3).

A insulina assume um papel de criação de reservas energéticas, no organismo humano. Promove a captação de aminoácidos e glicose, especialmente nas células musculares e adiposas. Ao nível destas células a insulina induz a síntese de proteínas e inibe a sua degradação. Ao nível hepático e muscular, estimula a síntese de glicogénio e inibe a gluconeogénese a partir de aminoácidos, além de promover a síntese de triglicéridos e lipoproteínas, assim como a secreção hepática de VLDL (3).

Num quadro de deficiência aguda de insulina, a ausência do seu efeito sobre o metabolismo da glicose resulta em hiperglicemia. A acumulação extracelular de glicose conduz à hiperosmolaridade. Ao nível renal, verifica-se a excreção de glicose na urina, resultando numa diurese osmótica, por perda concomitante de água (poliúria), Na^+ , K^+ , com desidratação e sede (polidipsia). A desidratação conduz à hipovolemia, com diminuição correspondente da circulação. A secreção associada de aldosterona aumenta a deficiência de K^+ , ao mesmo tempo que a libertação de epinefrina e glicocorticóides exacerba o catabolismo. O fluxo sanguíneo renal reduzido diminui a excreção renal de glicose, agravando o quadro de hiperglicemia. As células perdem mais P e Mg, que são também excretados pelos rins. Na presença de uma deficiência de insulina, as proteínas são degradadas em aminoácidos nos músculos e outros tecidos, o que, associado à desregulação electrolítica, produz fraqueza muscular. No esquema metabólico, prevalece a lipólise, com libertação de ácidos gordos para a corrente sanguínea (hiperlipidacidemia). Ao nível hepático ocorre a produção de ácido aceto-acético e ácido β -hidroxibutírico, a partir dos

ácidos gordos. A acumulação destes ácidos provoca acidose, forçando o paciente a respirar profundamente (respiração de Kussmaul). Alguns dos ácidos gordos sofrem degradação em acetona (corpos cetónicos). Concomitantemente, são ainda produzidos triglicerídeos no fígado, a partir de ácidos gordos, e incorporados em VLDL. Uma vez que a deficiência de insulina retarda a degradação das lipoproteínas, a hiperlipidemia é agravada. A degradação de proteínas e lípidos, bem como a poliúria, resultam em perda de peso (3). Quando a hiperglicemia adquire um estado crónico, verifica-se a redução da glicose a sorbitol, ao nível das células que contêm a enzima aldose-reductase. O sorbitol, um álcool hexahídrico, não consegue passar a membrana celular, o que resulta no aumento da sua concentração intracelular, com turgescência celular.

Decorrentes destes mecanismos, geram-se as principais complicações sistémicas da DM (2, 4). A nível ocular, a incorporação de água diminui a transparência lenticular (cataratas). A acumulação de sorbitol nas células de Schwann e nos neurónios reduz a condução nervosa (polineuropatia). As células que não captam glicose, como os linfócitos, “encolhem”, como resultado da hiperosmolaridade extracelular, prejudicando as suas funções (propensão à infecção). O estado hiperglicémico promove a síntese de proteínas plasmáticas que contêm açúcar, como o fibrinogénio, a haptoglobina e a α_2 -macroglobulina, assim como os fatores de coagulação do V ao VIII, com um aumento do risco protrombótico (3, 4).

A ligação da glicose a grupos amina livres, formam-se AGEs (produtos finais de glicosilação avançada). Ligando-se aos respetivos recetores da membrana celular, os AGEs promovem a deposição de colagénio nas membranas basais dos vasos sanguíneos. O espessamento das membranas basais, com permeabilidade reduzida e estreitamento do lumen, conduz a microangiopatia. Esta condição, a nível da retina, pode conduzir a retinopatia.

A nível renal, verifica-se glomerulosclerose, que pode resultar em proteinúria, redução da taxa de filtração glomerular devido à perda de glomérulos, hipertensão e insuficiência renal.

Associando o aumento de VLDL sérico ao aumento do risco protrombótico, a hipertensão promove o desenvolvimento de macroangiopatia,

com potencial para lesar ainda mais os rins e causa enfarte agudo do miocárdio, acidente vascular cerebral e doença vascular periférica.

A glicose pode, ainda, reagir com a hemoglobina para formar HbA_{1c}, cuja quantificação sérica é uma medida do controlo da DMT, indicando um estado hiperglicémico que tem estado presente por algum tempo (3 a 6 semanas antes da mensuração) (1, 3, 7).

1.1.1.1 Mecanismos moleculares fisiopatológicos

A nível molecular, são vários os mecanismos que a patologia diabética pode afetar.

Os principais mecanismos que sofrem interferência no que diz respeito ao desenvolvimento micro e macro-vasculares são a via dos polióis, a via da proteína cinase C e a via da hexosamina (8).

1.1.1.1.1 Via dos polióis

A via dos polióis atua na conversão da glicose intracelular em alcoóis de açúcar, em reações catalizadas pela enzima aldose redutase. Esta induz a conversão de glicose em sorbitol, que por sua vez despoleta uma série de variações intracelulares nos tecidos vasculares. A aldose redutase tem uma fraxa afinidade pela glicose. Perante concentrações normais de glicose, em pacientes não diabéticos, o metabolismo da glicose por esta via representa uma percentagem muito pequena da utilização total de glicose. Numa situação de diabetes, a hiperglicemia induz um aumento na produção de espécies reativas de oxigénio (ROS), através da cadeia transportadora de eletrões mitocondrial, conduzindo à ativação da aldose redutase e o subsequente aumento na conversão da glicose em sorbitol. O sorbitol, por sua vez, é oxidado em frutose, pela sorbitol desodrogenase, com NAD⁺ reduzido a NADH. Este processo consome NADPH, e determina uma diminuição na regeneração de glutatona, induzindo uma exacerbação na produção de ROS, com deterioração vascular (figura 1).

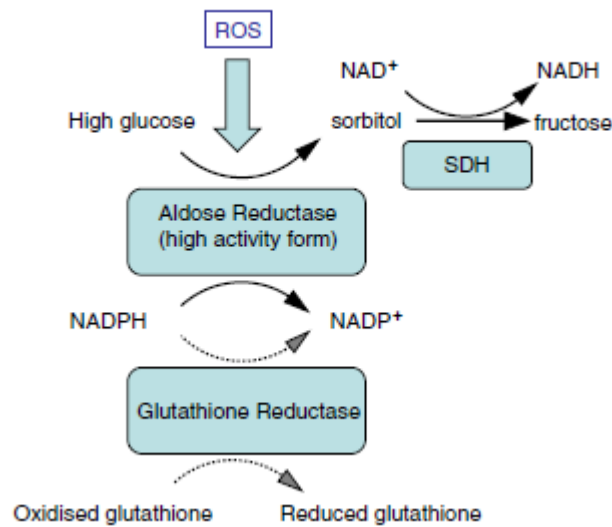


Figura 1 - Via dos polióis alterada em situação diabética. A hiperglicemia induz uma sobreprodução de espécies reativas de oxigênio (ROS), que conduz, por sua vez, ao aumento da conversão da glicose em sorbitol e à sua oxidação em frutose, com uma exacerbação final da produção de ROS. Abreviaturas: ROS, espécies reativas de oxigênio; SDH, desidrogenase do sorbitol; NAD, nicotinamida adenina dinucleótido; NADP, nicotinamida adenina dinucleótido fosfato; NADPH, nicotinamida adenina dinucleótido fosfato reduzida (8).

1.1.1.1.2 Via da proteína cinase C

Níveis elevados de glicose intracelular conduzem também à ativação da proteína cinase C (PKC). Quando ativada, esta proteína altera a função celular de diversas maneiras. Induz a produção aumentada de produtos como o TGF β , o colagénio e a fibronectina, que atuam no espessamento da membrana basal das células endoteliais, o PAI-1, que atua na oclusão vascular trombótica, o VEGF, que atua no aumento da permeabilidade vascular e na angiogénese, e o NF- κ B, que atua ao nível da inflamação (figura 2).

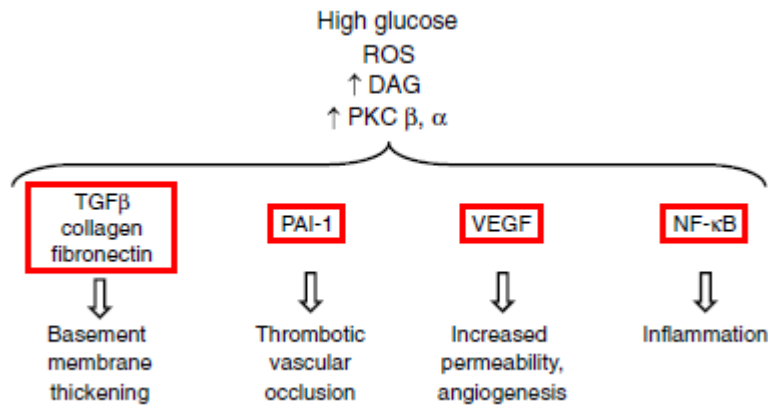


Figura 2 - Via da proteína cinase C. Elevadas concentrações de glicose intracelular aumentam a produção do segundo mensageiro diacilglicerol nas células endoteliais, o que conduz à ativação da PKC e causa uma subsequente expressão de uma série de genes pró-inflamatórios e fatores de crescimento, como TGFβ, colagénio, fibronectina, PAI-1, VEGF, possivelmente associados à ativação do NF-κB. Abreviaturas: ROS, espécies reativas de oxigénio; DAG, diacilglicerol; PKC, proteína cinase C; TGFβ, factor de crescimento tumoral; PAI-1, inibidor do ativador de plasminogénio-1; VEGF, factor de crescimento do endotélio vascular; NF-κB, factor nuclear-kappa B (8).

1.1.1.1.3 Via da hexosamina

A via da hexosamina também é ativada perante hiperglicemia intracelular. Neste caso, a frutose-6 fosfato, um intermediário glicolítico, é convertida em glicosamina-6 fosfato, pela enzima glutamina frutose 6-fosfato aminotransferase (GFAT). O maior produto resultante de tais reações é a uridina difosfato N-acetilglucosamina, a qual é um substrato para a modificação por parte da O-acetilglucosamina (O-GlcNAc) de diversas proteínas alvo e fatores de transcrição em resíduos de serina e treonina. Em estados normais de glicemia, apenas uma pequena fração da glicose (1-3%) é metabolizada por esta via. As consequências funcionais da ativação desta via são representadas pela expressão e atividades aumentadas de PAI-1 e TGFβ, sendo ambos os efeitos mediados pela modificação operada pela O-GlcNAc no fator de transcrição Sp1 (Specificity Protein 1).

Uma meta-análise reporta as principais vias moleculares alteradas em DMT2 (9). Na identificação de grupos de genes associados com a DMT2, conclui-se que estes se integravam em três principais vias moleculares: “PPAR signaling”, “Adipocytokine signaling” e “Insulin signaling pathway”. Mais especificamente, no que se refere ao metabolismo dos ácidos gordos, encontrou-se uma forte associação com as vias do alindamento dos ácidos

gordos saturados e insaturados, complementadas pelas categorias de ontologias genéticas “positive regulation of fatty acid biosynthesis”, “positive regulation of fatty acid metabolism”, “fatty acid binding” e “fatty acid oxidation”. Também em relação às cascatas de ativação da via do complemento e da coagulação, verificou-se a sua complementação pelas vias “initial triggering of complement” e “complement cascade” e pelas ontologias genéticas “defense response” e “complement activation, alternative pathway” (9).

No que diz respeito à sinalização celular, os recetores de tirosina cinase (RTKs), que incluem os recetores de superfície membranar EGF (epidermal growth factor), VEGF (vascular endothelial growth factor), PDGF (platelet-derived growth factor), IGF-I (insulin-like growth factor-I) e o recetor de insulina e as proteínas G constituem dois grandes grupos de vias de sinalização que devem intercomunicar de maneira a obter uma sinalização apropriada na regulação da proliferação celular, da diferenciação celular e do metabolismo. A insulina provoca o recrutamento de proteínas G para complexos baseados em recetores de insulina, que regulam a autofosforilação catalizada de recetores de insulina, um ponto proximal na cascata de sinalização sensível à insulina (10).

No que diz respeito a adesão celular, tem sido demonstrada uma forte associação entre a DM e a expressão aumentada de moléculas de adesão celular (CAMs), tanto em DMT1 como em DMT2. As CAMs estão envolvidas na interação entre os leucócitos circulantes e o endotélio. Uma expressão aumentada de CAMs conduz a que o endotélio se torne mais permeável aos monócitos. Num estudo que procurou averiguar quais os processos celulares comuns em interações proteína-proteína em doenças auto-imunes, conclui-se que, no caso específico da DMT1, os mecanismos do sistema imune em que se verificavam mais interações eram a regulação da apoptose celular, a regulação da transcrição, a regulação do ciclo celular, a regulação da produção de citocinas, a ativação das cascatas de Nf- κ B e de MAPKK e a regulação da ativação de células T (11).

1.1.2 Complicações Orais

A hiperglicemia crônica, além de provocar lesões em órgãos como os rins, olhos, nervos, vasos sanguíneos e o coração, pode também comprometer a função salivar, conduzindo a uma redução no fluxo salivar.

1.1.1.2 Redução do fluxo salivar

A redução do fluxo salivar, como consequência de hiperglicemia aguda, pode provocar as seguintes alterações orais: aumento da concentração de mucina e glicose; comprometimento da produção e/ou acção de vários fatores antimicrobianos, comprometendo a acção do sistema imune (12).

É comumente encontrado em pacientes diabéticos um aumento de volume das glândulas parótidas, designado de sialose, que geralmente é seguido por uma diminuição da produção salivar, conduzindo a xerostomia (13, 14). Esta ocorrência fica a dever-se à infiltração adiposa no parênquima glandular, com alterações nas células acinares e ductais. As alterações salivares provocadas pela DM incluem fatores bioquímicos, como sendo a concentração de glicose, o nível total de proteínas, albumina, lisosimas, peroxidase, electrólitos (sódio, potássio, cloro, fósforo, magnésio e cálcio), amilase, IgA e capacidade tampão. A hipossalivação pode causar glossodinia, úlceras, queilite, língua fissurada, cáries e dificuldades na manutenção da retenção de próteses removíveis, o que leva a trauma dos tecidos moles, predispondo para a ocorrência de infeções. Também, a atrição entre tecidos moles e duros aumenta a exfoliação de células da mucosa, podendo conduzir a lesões brancas e vermelhas.

1.1.1.3 Doença periodontal

A doença periodontal é, talvez, a complicação oral com uma relação melhor estabelecida com a DMT, sendo que muitos autores a têm considerado como uma das complicações sistémicas mais comuns da DM. Alguns estudos encontraram uma prevalência de 9,8% em pacientes com DMT1, em oposição

a uma prevalência de 1,6% em pacientes não diabéticos. No caso de pacientes com DMT2, o risco de desenvolver doença periodontal é 3 vezes superior ao da população geral (15). Algumas das alterações já explanadas poderão explicar o aumento da suscetibilidade de pacientes diabéticos ao desenvolvimento de doença periodontal: o comprometimento da função de leucócitos polimorfonucleares; anormalidades no metabolismo do colagénico e na formação de AGEs que afetam a estabilidade do colagénico e a integridade vascular. Os AGEs ligam-se a recetores de macrófagos e monócitos e aumentam a produção de IL-1 e TNF- α (14), o que aumenta a suscetibilidade à destruição tecidual (5, 12, 13, 16).

1.1.1.4 Alterações do paladar

As alterações de paladar resultam tanto da alteração quantitativa como da alteração qualitativa do fluxo salivar, tendo uma forte relação com deficiências na produção de gustina e zinco, que intervêm na maturação das papilas gustativas. Esta alteração de paladar influencia a seleção dos alimentos a ingerir, com uma tendência para preferir alimentos doces, agravando a condição hiperglicémica (12, 13).

1.1.1.5 Síndrome da boca ardente

Apesar de existirem estudos que correlacionam a DMT com a síndrome da boca ardente (13), principalmente devido ao fato desta condição estar associada a baixo fluxo salivar, a sua etiologia é multifatorial, o que torna difícil estabelecer uma relação consistente ou causal entre as duas patologias (17).

1.1.1.6 Aumento da suscetibilidade a infeções

Uma das alterações mais fortemente associadas à DMT, e que tem expressão na cavidade oral, é o aumento da suscetibilidade a infeções, associada ao atraso no processo de cicatrização. Nomeadamente na infeção por *Candida albicans* (13, 18), estes dois aspetos derivam, particularmente, de modificações no conteúdo proteico antimicrobiano salivar, no que se refere a

proteínas como a lactoferrina, a lisosima e a lactoperoxidase (19). Para as infecções no geral, o aumento da suscetibilidade deriva do comprometimento de funções do sistema imunitário, como a quimiotaxia e a fagocitose diminuídas, assim como a microcirculação afetada. O atraso no processo cicatricial é particularmente importante em paciente reabilitados com implantes, uma vez que a formação de osso e a osseointegração se encontram comprometidas em osso trabecular, afetando, então, mais a maxila (12).

1.1.1.7 Cárie dentária

No que se refere à cárie dentária, encontraram-se estudos com resultados contraditórios no estabelecimento de uma relação com a DM (13, 14, 16, 20, 21). Tal relação torna-se difícil de determinar, uma vez que o principal mecanismo da DM que influi na gênese de processos cariosos é a diminuição do fluxo salivar, que pode não ser relevante em pacientes com níveis glicêmicos controlados, ou pode ser algo derivado de outras condições sistêmicas associadas. Outra hipótese encontrada em estudos que relacionam a DM com a cárie dentária é a de que, apesar dos pacientes controlados dieteticamente apresentarem uma menor ingestão de hidratos de carbono, a glicose encontra-se mais disponível no fluido crevicular de pacientes diabéticos, exacerbando o aparecimento de lesões cariosas a nível radicular e cervical (21).

1.1.3 Microbiota oral na Diabetes Mellitus

A cavidade oral humana é o habitat de um dos microbiomas mais diversificados do corpo humano, que inclui vírus, protozoários, archaea e bactérias. As comunidades bacterianas encontradas na cavidade oral são altamente complexas, com cerca de 1000 espécies presentes, e foi demonstrado como o segundo microbiota mais complexo do corpo humano, a seguir ao que coloniza o cólon (22).

A simples presença do microbiota oral inibe a colonização por entidades patogénicas – o fenómeno da resistência à colonização (23). A importância deste efeito pode ser asseverada nos casos em que o microbiota comensal

sofre uma disrupção, por exemplo nas terapias antimicrobianas. Então, infecções oportunistas podem ocorrer, com patógenos como as espécies de *Candida sp.* e *Staphylococcus aureus*.

Desde que, num dia do verão de 1683, Anthony van Leeuwenhoek decidiu examinar o biofilme que crescia na sua boca, através de um microscópio caseiro(24), que tem sido uma longa jornada, até ao estudo resultante de uma combinação de ciências ómicas (genómica, metagenómica, transcriptómica, proteómica e metabolómica) tem sido usada ao longo dos últimos anos para esmiuçar as interações microbioma-hospedeiro a nível oral, relevantes para estados de saúde e de doença (25).

A comunidade bacteriana da cavidade oral é dominada pelos *phyla Firmicutes, Bacteroidetes, Proteobacteria, Actinobacteria, Spirochaetes* e *Fusobacteria*, que contabilizam cerca de 96% das espécies bacterianas identificadas (26). Sendo que o conhecimento destas comunidades tem sido revolucionado nas ultimas décadas pelo desenvolvimento dos métodos de identificação taxonómica sobretudo moleculares e independentes de cultura.

A composição do microbioma oral depende não só de variantes inter-individuais, como de variantes intra-individuais, nas quais se inclui a influência de fatores sistémicos nas condições ambientais a nível oral.

Assim, a DM, através dos mecanismos fisiopatológicos já descritos, e das suas implicações específicas na fisiologia oral, exerce uma influência importante, nomeadamente em estados de hiperglicémia não controlada, na composição do microbioma oral. Um ponto de partida importante para, através da identificação dos microrganismos alterados em estado de patologia diabética, identificar as alterações ocorridas a nível de proteómica microbiana.

1.3 Proteómica/Interactómica

Apesar da crescente evidência da relação entre doenças crónicas e alterações no microbioma, estas perturbações são caracterizadas após a ocorrência da doença e, assim, não permitem tirar conclusões acerca das relações de causalidade entre as alterações microbiotas e o fenótipo do hospedeiro. No entanto, experiências em modelos animais indicaram que, em alguns casos, o microbiota aparentemente desempenha um papel causal no

fenótipo do hospedeiro, e tem-se começado a desvendar o contributo funcional de algumas espécies microbianas chave. No entanto, o nosso conhecimento da totalidade das interações ente comunidades microbianas e o seu hospedeiro ainda é muito limitado. Uma tentativa importante de monitorizar as alterações a nível da composição do microbioma, antes do início da doença e ao longo da sua progressão, passa pela realização de estudos de coorte. Assim, informação acerca da variação natural na população saudável e a influência a longo prazo da dieta, dos fatores ambientais e da idade é necessária para determinar a variação normal do microbioma, ao longo da vida dos indivíduos.

Nesta senda, recentes avanços nas tecnologias de sequenciação e de bioinformática criaram novas possibilidades de caracterização do repertório completo da genética funcional. Uma vez estabelecida a caracterização do microbioma, o passo seguinte passa pelo desenvolvimento e aplicação de ferramentas de metagenómica funcional, para desvendar os padrões da actividade microbiótica, em saúde e em doença.

As interações moleculares entre microrganismos e os recetores das células do hospedeiro, assim como as interações resultantes do metabolismo bacteriano da comida são mecanismos de comunicação com o hospedeiro bem estabelecidos. A análise de alterações globais na expressão genética de microrganismos e células do hospedeiro tem-se mostrado de grande utilidade, por forma a entender como ambas as interações respondem a sinais e alterações a nível da interface. A análise das alterações na expressão genética e nas interações entre as proteínas derivadas pode ser usada na previsão e investigação de alterações ao nível das vias celulares, e prever e comparar alterações na rede celular (interactoma) (27).

A microbiologia tradicional, que enfatizou a capacidade de realizar culturas e estudar microrganismos de forma independente, deu lugar a uma miríade de aplicações “metaómicas”, desde o exame da expressão e regulação genética (metatranscriptoma), até à produção proteica (metaproteómica) e de pequenas moléculas (metabolómica). Esta nova era enfatiza tanto a necessidade de incorporar os dados de investigação resultantes de estudos de culturas individuais, como de comunidades microbianas (28).

Tem sido sugerido que a vida celular está organizada através de uma complexa rede de interações proteicas, na qual várias proteínas que participam

nas mesmas vias funcionais tendem a agregar-se em complexos multi-componentes. A interactómica apresenta-se, então, no seio das plataformas “ómicas”, como a resolução da totalidade das interações moleculares entre células, com foco nas proteínas, actuando a par da proteómica, na deteção, em larga escala, destes referidos agregados funcionais proteicos, representando uma das importantes direções da proteómica funcional e providenciando uma nova visão do metabolismo celular humano, microbiano e do conjunto dos vários metabolismos. Se, por um lado, a proteómica nos permite aprender as funções bioquímicas de todos os produtos genéticos (proteínas), a interactómica permite conhecer a totalidade de todas as interações entre eles (29, 30). Os dados de interactómica colhidos revelam a interação física e funcional entre componentes de diferentes níveis celulares.

Mais especificamente, deparamos com a interactómica interespecífica, nomeadamente na sua abordagem de interações microbiota-hospedeiro, entre as quais se contam as interações patogénio-hospedeiro ou simbiote-hospedeiro. A interactómica aplicada a este tipo específico de interações pode permitir formular conhecimento acerca de fatores proteicos de virulência, previsão dos pontos de ataque nas células do hospedeiro e a clarificação das vias de interação molecular durante o processo infeccioso. As interações mais visadas são as do tipo proteína-proteína (PPI's), sendo que uma estratégia comum por parte de microrganismos patogénicos passa por imitar os domínios ou locais de ligação PPI das células eucariotas, por forma a remodelar a rede PPI do hospedeiro, tratando-se, então, de interações com grande especificidade (31). Alguns microrganismos, nomeadamente os vírus, têm desenvolvido estratégias, por meio das interações PPI que estabelecem com células do hospedeiro, visando contornar a defesa celular e manter o controlo sobre a maquinaria celular (32). Estes sistemas PPI que integram os objetos de estudo da interactómica organizam-se em arquitecturas funcionais complexas (33).

Nesta senda, importa estabelecer bases de dados que contenham toda a informação disponível acerca das proteínas expressas pelo microbiota e pelo hospedeiro envolvidos na interação em causa, além de determinar a rede complexa de interações moleculares, como foco nas de índole proteica, e estabelecer aquelas que podem conduzir a alterações patológicas, por

interferirem na maquinaria celular, sem descurar o fato de que nem todas as interações microbiota-hospedeiro são patogénicas, podendo estabelecer-se de uma forma simbiótica. Em suma interessa conhecer e catalogar as interações descritas para poder propor e verificar novas interações do ponto de vista teórico que terão de ser confirmadas no laboratório.

O interactoma celular e as PPIs intra e inter organismos podem ser obtidos por diversos tipos de abordagens, sendo uma delas a aplicação de métodos computacionais na identificação sistemática de interações proteicas (34).

1.4 Ferramentas bioinformáticas

Para chegar ao estudo e determinação da interactómica numa determinada patologia, temos ao dispor diversas ferramentas bioinformáticas, que podemos agrupar em dois grupos. O primeiro grupo corresponde ao das ferramentas que disponibilizam dados de proteómica e permitem a classificação das proteínas em ontologias genéticas, permitindo, como tal, a sua classificação funcional. O segundo grupo permite agrupar as proteínas em pares interactuantes e analisá-las em “clusters” de funções biológicas.

O OralCard apresenta-se como uma ferramenta bioinformática que integra a informação manualmente anotada de artigos que refletem o ecossistema molecular oral (fisioma oral). A sua base de dados é composta pela informação experimental derivada do proteoma oral tanto de seres humanos (oraloma), como de origem microbiana (microoraloma), organizada por proteínas, doenças e organismos. Desta forma, constitui um recurso dos investigadores na compreensão dos fundamentos moleculares com implicações nos mecanismos biológicos e patológicos da cavidade oral (35).

Associado ao OralCard, o OralInt compreende a informação constante no OralCard, trabalhada do ponto de vista da transição da proteómica para a interactómica, com a previsão dos pares de proteínas interactuantes de todas as proteínas presentes na base de dados do OralCard (36).

Na classificação ontológica de proteínas, o Agbase apresenta-se como uma ferramenta bioinformática que disponibiliza recursos para facilitar a modelação de informação de genómica funcional e anotações estruturais e

funcionais de genomas de animais, plantas, micróbios e parasitas com importância para a agricultura. Providencia cerca de 590240 ontologias genéticas (GO) para produtos genéticos provenientes de 64 espécies diferentes. Disponibiliza ferramentas como o GORetriever – que analisa os produtos genéticos com anotações em ontologias genéticas – e o GOSlimViewer – que apresenta uma análise qualitativa da informação introduzida (37).

Também, o UniProt (Universal Protein Resource) é uma ferramenta de fácil acesso para a anotação funcional de proteínas(38).

Por forma a facilitar a visualização das redes de interactómica, existe o Cytoscape, um projeto de software open-source para a integração biomolecular de redes de interações(39). Este permite também integrar as proteínas em diversos graus de visualização, permitindo estabelecer grupos de proteínas interactuantes organizados de acordo com critérios, como por exemplo a função biológica.

2 Objetivos

O presente trabalho pretende, através do estudo *in silico* da informação resultante dos dados de proteómica derivados do OralCard, após a sua atualização, e dos dados de interactómica do OralInt, estabelecer uma abordagem primária às PPIs interespecíficas que poderão apresentar alguma significância no quadro da fisiopatologia da doença diabética, abrindo caminho para que, em estudos futuros, se possa averiguar a utilização da identificação de parâmetros biológicos associados às interações propostas no diagnóstico desta patologia, através da cavidade oral. Assim sendo, foram definidos como objetivos para este trabalho:

- rever a literatura atual de estudos de proteómica da cavidade oral do paciente diabético;
- anotar manualmente a informação proveniente da revisão de artigos científicos, considerada essencial para interpretar os dados de proteómica e, conseqüentemente, de interactómica;
- atualizar o OralCard, se necessário, com a informação recolhida;
- realizar a análise *in silico* dos dados obtidos através de ferramentas bioinformáticas;
- analisar e selecionar as proteínas humanas e microbianas que poderão ter interesse para análise interactómica, em termos de PPIs interespecíficas, à luz da fisiopatologia da DM;
- analisar individualmente as interações resultantes da seleção realizada, no que se refere à possibilidade de integrarem alterações moleculares a nível das proteínas intervencientes, com implicações funcionais.

3 Material e Métodos

De maneira a cumprir os objectivos determinados, segue-se a metodologia descrita neste capítulo.

O primeiro passo envolveu a revisão da literatura e recolha de dados relativamente a proteínas microbianas, encontradas na saliva, e proteínas humanas alteradas, associadas a Diabetes Melitos dos tipos 1 e 2.

Os dados foram tratados em ferramentas bioinformáticas.

3.1 Atualização do Oraloma da DMT1 e DMT2

Recorrendo à base de dados do OralCard, verificou-se a ausência de proteínas microbianas identificadas para a Diabetes Melitos Tipo 1, e apenas duas para a Diabetes Melitos Tipo 2, a Phosphoribosylaminoimidazole carboxylase e o Factor de Alongamento G.

De modo a verificar a publicação de dados relativos a novas proteínas de origem microbiana, com a finalidade de estabelecer a interactómica entre estas e as proteínas humanas já encontradas, principiou-se com a atualização dos microrganismos associados com a Diabetes Mellitus, recorrendo-se à base de dados Medline®, através do motor de busca PubMed, utilizando a seguinte metodologia de pesquisa (palavras-chave, operadores booleanos e limites):

- (microbiota) AND (diabetes) AND (oral);
- (diabetes type 1) AND (micro*) AND (oral);
- (diabetes type 2) AND (micro*) AND (oral);
- (diabetes type 1) AND (microbiome OR microorganism);
- (diabetes type 2) AND (microbiome OR microorganism).

De entre todos os resultados obtidos, foram selecionados 8 artigos, com o cuidado de excluir todos aqueles cuja metodologia não envolvesse a caracterização microbiana de amostras salivares, em casos de DMT1 e DMT2 (40-47).

Os dados recolhidos dos artigos, foram compilados num livro do Microsoft Excel™, por forma a complementar as tabelas já elaboradas por

Patrícia Moreira (48) e por Vítor Brás (49).

A análise de cada um dos estudos experimentais permitiu anotar manualmente uma série de informações consideradas essenciais para a interpretação dos dados catalogados. Esta inclui dados de identificação de cada um dos microrganismos, o local de obtenção da amostra, a relação de cada proteína com os estados de saúde e de doença, a caracterização do dador da amostra e a caracterização dos métodos de amostragem e de análise.

NCBI Taxon ID	Organism Name	Domain	All Body Subsites	
Health	Disease (OMIM ID or Diseases Database)	Disease (MeSH ID)	Type of Diabetes	Regulation
Age group	Gender*	Social Habits*	Exclusion Criteria	
Methods of Sampling**	Methods of Analysis***	Type of Study	Citation (NCBI ID)	Obs

Figura 3 - Cabeçalhos que permitem a organização da informação recolhida dos diferentes estudos microbiológicos da cavidade oral, em DMT1 e DMT2, numa tabela em Microsoft Excel 2007.

3.1.1. Identificação e origem dos microrganismos orais da DMT1 e DMT2

Procedeu-se primariamente ao preenchimento da tabela no que se refere à identificação completa dos microrganismos identificados nos estudos recolhidos.

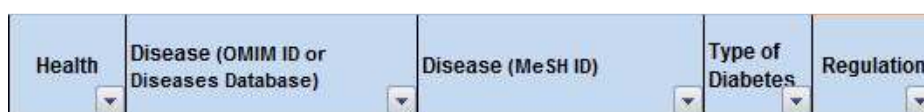
Para tal, recorreu-se à base de dados Taxonomy, do NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/taxonomy/>). Os microrganismos foram, então, caracterizados em termos de Taxon ID, nome, domínio e local de recolha.

NCBI Taxon ID	Organism Name	Domain	All Body Subsites
---------------	---------------	--------	-------------------

Figura 4 - Cabeçalho da tabela em Microsoft Excel 2007 relativo à identificação e origem dos microrganismos da DMT1 e DMT2.

3.1.2. Relação com os estados de saúde e doença

A anotação da relação dos microrganismos da DMT1 e DMT2 com os estados de saúde ou doença permite inferir se os microrganismos em análise estão presentes exclusivamente em indivíduos saudáveis, se apenas estão presentes na saliva de indivíduos com uma determinada patologia ou se estão presentes em ambos os casos. Também se estabeleceu a diferenciação dos microrganismos no que se refere à sua presença nos dois tipos de Diabetes. Para identificar a patologia foi anotado o seu OMIM ID (*Online Mendelian Inheritance in Man*) e o seu código MESH (Figura 5).



Health	Disease (OMIM ID or Diseases Database)	Disease (MeSH ID)	Type of Diabetes	Regulation
--------	--	-------------------	------------------	------------

Figura 5 - Cabeçalho da tabela em Microsoft Excel 2007 da relação dos microrganismos com os estados de saúde e doença.

A regulação de um determinado microrganismo corresponde à variação da sua expressão na doença em relação ao controlo saudável. A regulação das proteínas salivares da DMT1 e DMT2 teve em consideração a *fold change calculation*:

$$\frac{\text{Número de ocorrências na doença}}{\text{Número de ocorrências no controlo}} = \text{Valor}$$

Hipótese a) valor ≥ 1 : regulação positiva (+)

Hipótese b) $0 < \text{valor} < 1$: regulação negativa (-)

Em **b)**, é necessário realizar o quociente abaixo descrito para que se obtenha uma regulação com valor negativo:

$$\frac{1}{\text{Valor}} = Y \text{ (a este é atribuído o valor negativo = -Y)}$$

Este quociente permite uma melhor interpretação dos dados, uma vez que uma *fold change calculation* com um valor de, por exemplo, 0,5

corresponde a uma diminuição na quantidade de expressão da proteína de 2 vezes. Realizando o quociente descrito em **b)** obtemos diretamente o valor de -2, o que torna a interpretação dos dados mais direta.

3.1.3. Caracterização do dador da amostra

A caracterização do dador da amostra inclui a sua faixa etária, género e hábitos sociais (por exemplo o tabagismo), uma vez que estes fatores podem ser modificadores do microbioma oral dos indivíduos. Os critérios de exclusão definidos pelos autores de cada estudo analisado foram igualmente anotados (Figura 6).

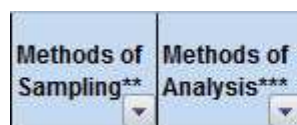


Age group	Gender*	Social Habits*	Exclusion Criteria
-----------	---------	----------------	--------------------

Figura 6 - Cabeçalho da tabela em Microsoft Excel 2007 referente à caraterização do dador da amostra.

3.1.4. Métodos de amostragem e análise

Os métodos de amostragem e análise permitem caracterizar a metodologia utilizada na colheita, na identificação e na análise dos microrganismos salivares (Figura 7).



Methods of Sampling**	Methods of Analysis***
-----------------------	------------------------

Figura 7 - Cabeçalho da tabela em Microsoft Excel 2007 referente aos métodos de amostragem e análise para os microrganismos da DMT1 e DMT2.

3.1.5. Outras informações

Foram ainda anotadas informações acerca do tipo de estudo e observações relevantes para o efeito.

3.2 Tratamento dos dados de interactómica do OralInt

Recorrendo ao OralInt (36), foi realizada uma análise de interactómica das proteínas microbianas com as humanas, elaborou-se uma tabela em Microsoft Excel 2007, entrecruzando os códigos UniProtKBAC disponibilizados na base de dados, com os dados encontrados na base de dados total do OralCard(35), uma ferramenta bioinformática que consiste num repositório que indexa os dados de diversos estudos de proteómica da cavidade oral a partir de anotações manuais.

Na tabela, P1 e P2 designam os pares de interações, com P1 a corresponder à proteína humana e P2 a corresponder à proteína bacteriana.

Por forma a obter apenas as PPI's referentes à DMT1 e DMT2, realizou-se uma filtragem avançada da tabela total de interações do OralInt, utilizando para tal as proteínas humanas identificadas nas respetivas patologias na tabela do OralCard. Desta forma, obtendo a lista completa de PPI's entre proteínas humanas e bacterianas identificadas em DMT1 e DMT2.

Os pares de interações obtidos, foram, então, utilizados para construir uma tabela, com identificação das diversas proteínas, em termos de código UniPrto, nome, microrganismo e doença associada (figura 8).

P1				P2			
UniProt	Name	Organism	Disease (Mesh)	UniProt	Name	Organism	Disease (Mesh)

Figura 8 - Cabeçalho da tabela em Microsoft Excel 2007 referente às interações disponibilizadas no OralInt.

Na elaboração da tabela, começou-se por importar os dados presentes na base de dados OralCard, actualizada até ao dia 15-12-2013, para uma folha do mesmo livro do Microsoft Excel, que se designou de "Oraloma".

De seguida, no preenchimento das colunas referentes às diversas informações pretendidas para a caracterização das proteínas, recorreu-se a diversas fórmulas do mesmo programa.

No que se refere ao preenchimento da coluna referente ao nome das proteínas humanas, a fórmula utilizada foi "=PROCV(\$A3;Oraloma!\$A\$2:Y\$21086;2;FALSO). Para o preenchimento da coluna referente ao nome do organismo no qual foi encontrada a proteína a ser expressa, foi utilizada a fórmula

“=PROCV(\$A3;Oraloma!\$A\$2:Z\$21086;3;FALSO)”. Para o preenchimento da coluna referente à doença na qual foi encontrada a proteína a ser expressa, recorreu-se à fórmula “=PROCV(\$A3;Oraloma!\$A\$2:AA\$21086;15;FALSO)”.

No que concerne ao preenchimento das informações relativas às proteínas bacterianas, a fórmula utilizada para a coluna do nome da proteína foi “=PROCV(\$E3;Oraloma!\$A\$2:Y\$21086;2;FALSO)”, para a coluna do microrganismo associado foi “=PROCV(\$E3;Oraloma!\$A\$2:Z\$21086;3;FALSO)”, e para a doença associada foi “=PROCV(\$A3;Oraloma!\$A\$2:AA\$21086;15;FALSO)”.

3.3 Caracterização funcional das proteínas humanas alteradas em Diabetes Mellitus, de acordo com o OralCard

Com o objetivo de compreender o papel fisiológico das proteínas orais da DMT1 e DMT2 que intervêm em PPIs, estas foram caracterizadas funcionalmente de acordo com a sua ontologia, nomeadamente o processo biológico em que intervêm, a componente celular e a função molecular que desempenham. Esta classificação foi realizada com recurso à ferramenta bioinformática online AgBase (37).

As colunas obtidas anteriormente no Microsoft Excel, para a DMT1 e DMT2, foram guardadas em livros separados, sob o formato Texto (MS-DOS), para permitir a sua importação para o AgBase.

Uma vez no sítio da internet do AgBase, recorreu-se, num passo inicial, à ferramenta GoRetriever (figuras 9), para obter as anotações de ontologias genéticas para as proteínas humanas das respetivas patologias. Na página desta ferramenta, no campo “Select Accession Type”, foi selecionada a opção “UniProt Accession”, uma vez que os códigos das proteínas se encontravam identificadas pelo código UniProt (figura 10).

Na página de resultados da ferramenta, foi selecionada a opção “GO Summary file (for use in GOSlimViewer)”, de modo a obter o ficheiro de texto com a informação das ontologias genéticas para as proteínas analisadas, para posterior importação para a ferramenta GOSlimViewer (figura 11).

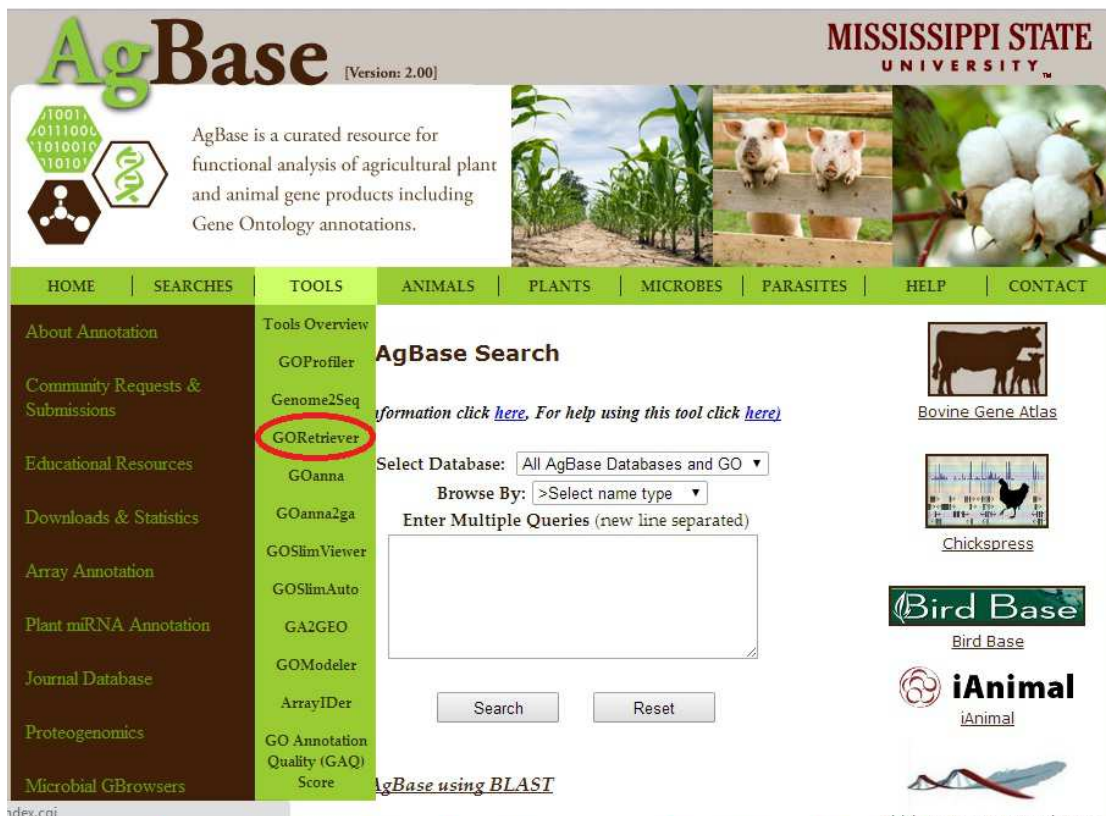


Figura 9 - Página inicial do sítio na internet do AgBase, com seleção da ferramenta GoRetriever, no separador “Tools”.

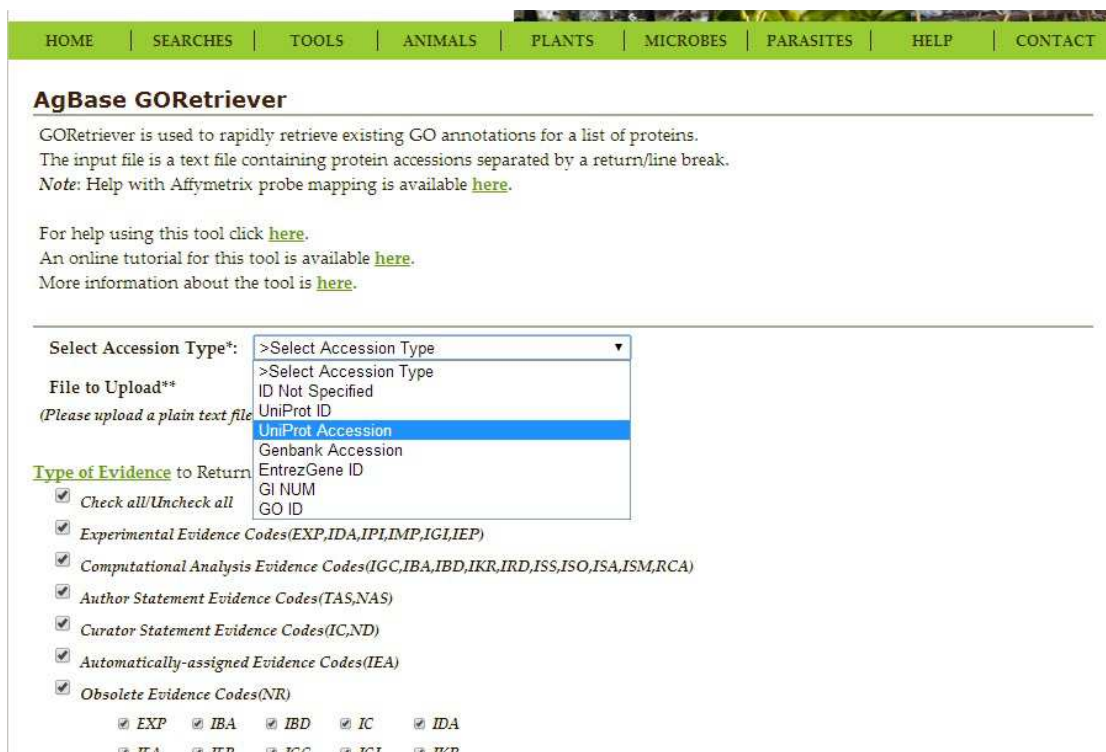


Figura 10 - Página do GoRetriever – seleção da opção “UniProt Accession”.

AgBase [Version: 2.00]

MISSISSIPPI STATE UNIVERSITY

AgBase is a curated resource for functional analysis of agricultural plant and animal gene products including Gene Ontology annotations.

HOME | SEARCHES | TOOLS | ANIMALS | PLANTS | MICROBES | PARASITES | HELP | CONTACT

GORetriever Results

Number of Input IDs: 939

Input filename: P01584.txt
Evidence Codes to return: IC,IDA,IEA,IEP,IGI,IMP,IPI,ISS,NAS,ND,RCA,TAS,NR,EXP,ISO,ISA,ISM,IGC,IBA,IBD,IKR,IMR,IRD

[View GO annotation file in tab-delimited format \(can be opened in Excel\)](#)
[View ID List without GO annotation](#)
[GO Summary file \(for use in GOSlimViewer\)](#)

Contact AgBase | Mississippi State University is an Equal Opportunity Institution

Database Copyright © Mississippi State University. Permission to use the information contained in this database was given by the researchers/institutes who contributed or published the information. Users of the database are solely responsible for compliance with any copyright restrictions, including those applying to the author abstracts. Documents from this server are provided "AS-IS" without any warranty, expressed or implied.

Figura 11 - Página de resultados da ferramenta GoRetriever – seleção da opção “GO Summary file (for use in GOSlimViewer) para obtenção do ficheiro de texto (.txt) para utilização na ferramenta GOSlimViewer.

Tendo sido guardado o ficheiro de texto, abriu-se a ferramenta GOSlimViewer (figura 12). Esta ferramenta providencia um resumo de elevado nível das ontologias de uma determinada lista de proteínas, facilitando a sua interpretação funcional.

Na página desta ferramenta, selecionou-se a opção “Generic”, no campo “Select GOSlim Set” (figura 13).

Na página de resultados do GOSlimViewer, foi selecionada a opção “View accessions for each slim id” (figura 14). Esta direcionou para uma página com a listagem detalhada das ontologias genéticas das proteínas analisadas. De seguida, foi selecionada a opção “View accessions for each slim id text only”, para obtenção de uma página no formato de texto (.txt), passível de ser guardada para importação no Excel (figura 15).

Figura 12 - Seleção da ferramenta GOSlimViewer, no separador “Tools”.

Figura 13 - Página do GOSlimViewer – seleção da opção “Generic”, no campo “Select GOSlim Set”.

AgBase [Version: 2.00]

MISSISSIPPI STATE UNIVERSITY

AgBase is a curated resource for functional analysis of agricultural plant and animal gene products including Gene Ontology annotations.

HOME | SEARCHES | TOOLS | ANIMALS | PLANTS | MICROBES | PARASITES | HELP | CONTACT

GOSlimViewer Results

To download, right click a file and select Save As

To view the detail for cellular components, molecular components, and biological processes click the View accessions for each slim id link

[View Cellular Component](#)
[View Molecular Function](#)
[View Biological Process](#)
[View accessions for each slim id](#)

Contact AgBase | Mississippi State University is an Equal Opportunity Institution

Database Copyright © Mississippi State University. Permission to use the information contained in this database was given by the researchers/institutes who contributed or published the information. Users of the database are solely responsible for compliance with any copyright restrictions, including those applying to the author abstracts. Documents from this server are provided "AS-IS" without any warranty, expressed or implied.

Figura 14 - Página de resultados do GOSlimViewer – seleção da opção “View accessions for each slim id”.

GOSlimViewer accession detail for each slim id

[View accessions for each slim id text only](#)

Index

- Cellular Component Accessions
- Molecular Function Accessions
- Biological Process Accessions

Cellular Component Accessions [Back to top](#)

Slim id: GO:0005575	cellular_component	171
Q99ZS8	GO:0043190	ATP-binding cassette (ABC) transporter complex
C7W198	GO:0005727	extrachromosomal circular DNA
C7WBT0	GO:0005727	extrachromosomal circular DNA
P53124	GO:0000307	cyclin-dependent protein kinase holoenzyme complex
C5NV08	GO:0033178	proton-transporting two-sector ATPase complex, catalytic domain
CSQLD0	GO:0033178	proton-transporting two-sector ATPase complex, catalytic domain
C8PEW3	GO:0033178	proton-transporting two-sector ATPase complex, catalytic domain
C9R1P9	GO:0033178	proton-transporting two-sector ATPase complex, catalytic domain
P95787	GO:0033178	proton-transporting two-sector ATPase complex, catalytic domain
P95789	GO:0033178	proton-transporting two-sector ATPase complex, catalytic domain

Figura 15 - Página com a listagem detalhada das ontologias genéticas para cada uma das proteínas analisadas. Seleção da opção “View accessions for each slim id text only”.

Obtidas as tabelas para a DMT1 e DMT2, procedeu-se à construção de uma tabela funcional, com o resumo dos processos biológicos mais importantes em que cada uma das proteínas intervêm.

Em fase de pré-seleção, por forma a reduzir o número de processos biológicos resultantes da caracterização ontológica pelo Agbase, e tentando descartar precocemente os processos biológicos irrelevantes para análise, com

base na fisiopatologia da diabetes, realizou-se uma filtragem, tendo-se restringido a seleção aos processos biológicos de: “carbohydrate metabolic process”, “cell adhesion”, “cell proliferation”, “cell-cell signaling”, “circulatory system process”, “extracellular matrix organization”, “homeostatic process”, “immune system process”, “lipid metabolic process”, “membrane organization”, “response do stress”, “sulfur compound metabolic process” e “symbiosis, encompassing mutualism through parasitism”.

Assim, principiou-se por elaborar, individualmente para cada uma das duas patologias, uma tabela dinâmica, recorrendo aos campos do código da proteína, do processo biológico geral e do processo biológico específico, de acordo com as ontologias genéticas devolvidas pelo AgBase, obtendo-se uma tabela idêntica à apresentada na figura 16.

GO_Name	GO_name2	Input_Accession
carbohydrate metabolic process	carbohydrate metabolic process	P06865
differentiation of osteoclast		P07686
differentiation		P16278
regulation of T cell mediated immunity response	galactose catabolic process	P16278
response	glucose metabolic process	P01375
response	oligosaccharide catabolic process	P07686
chemotaxis	positive regulation of hyaluronan biosynthetic process	P01133
cell adhesion	leukocyte tethering or rolling	P01375
regulation of T cell proliferation	monocyte aggregation	P01584
immune response	positive regulation of heterotypic cell-cell adhesion	P01375
immune response		P01584
cell proliferation	epithelial cell proliferation involved in salivary gland morphogenesis	P01375
inflammatory response to antigenic stimulus	negative regulation of cell proliferation	P01375
receptor signaling pathway		P01584
cell migration	positive regulation of cell proliferation	P01133
cell migration	positive regulation of cerebellar granule cell precursor proliferation	P01133
regulation of mononuclear cell migration	positive regulation of smooth muscle cell proliferation	P01375
secretion of immunoglobulin	positive regulation of T cell proliferation	P01584
regulation of osteoclast differentiation	regulation of cell proliferation	P01375
cell-cell signaling	cell-cell signaling	P01584
transvasation	negative regulation of adiponectin secretion	P01584

Figura 16 - Porção de uma das tabelas dinâmicas elaboradas como passo intermédio para a construção da tabela funcional para as proteínas humanas de DMT1 e DMT2. Na tabela, “GO_Name” refere-se ao processo biológico geral, “GO_name2” refere-se ao processo biológico específico, e “Input_Accession” refere-se às proteínas identificadas em cada um dos processos biológicos específicos.

De seguida, para obtenção da lista de proteínas associada a cada um dos processos biológicos específicos, recorreu-se a uma fórmula de deslocamento, representada

por
“=SE(DESLOCAMENTO(\$D\$1;CORRESP(\$L3;\$D\$3:\$D\$1000;0))+
COL(A1;0)=\$L3;DESLOCAMENTO(\$D\$1;CORRESP(\$L3;\$D\$3:\$D\$1000;0))+
COL(A1;1);””, sendo que os processos biológicos específicos foram

dispostos numa coluna da folha do Excel, e a fórmula arrastada ao longo das linhas referentes a cada processo biológico.

Para a construção final da tabela funcional, recorreu-se ao código UniProt de cada uma das proteínas, ao nome, à quantificação, ao local de amostragem, à sua identificação como biomarcador no OralCard, e aos processos biológicos específicos em que intervêm, tendo-se obtido uma tabela, da qual se pode visualizar uma porção na figura 17.

Figura 17 - Porção da tabela funcional para as proteínas humanas de DMT1 (identificadas a vermelho) e de DMT2 (identificadas a azul), mostrando todos os dados que foram utilizados para a construção da tabela – código UniProt, nome da proteína, quantificação, local de amostragem, identificação como biomarcador e processos biológicos.

O preenchimento dos dados requeridos para a construção da tabela funcional foi obtido por recurso à base de dados do OralCard.

3.3.1. Nome das proteínas

O nome de cada proteína foi obtido a partir do OralCard, com recurso a uma fórmula Procv, representada por “=PROCV(Oraloma!\$A\$2:\$B\$149;2;FALSO)”.

3.3.2. Quantificação

No caso da quantificação, num primeiro passo foi obtida a média da quantificação de cada uma das proteínas identificadas em DMT1 e DMT2, respetivamente, no OralCard. Esta média foi calculada com recurso a uma tabela dinâmica (figura 18).

UniProtKB AC	Regulation	Rótulos de Linha	Média de Regulation
P15515	-2,20	F6KPG5	-0,30
P02808	-2,10	O00300	-1,60
P22301	-1,80	P01036	
O00300	-1,60	P01037	
P02814	-1,30	P01133	-0,30
P02810	-1,20	P01375	-0,40
P15516	-1,10	P01579	2,30
P01375	-0,40	P01584	5,00
F6KPG5	-0,30	P01876	-0,30
P01133	-0,30	P02808	-2,10
P16278	-0,30	P02810	-1,20
P01876	-0,30	P02814	-1,30
P16278	-0,23	P04745	3,20
P07686	-0,12	P05109	1,40
P08246	1,10	P05231	29,20
P06865	1,30	P06702	1,60
P31323	1,40	P06865	1,80
P13861	1,40	P07686	1,44
P05109	1,40	P08246	1,10
P06702	1,60	P09228	
P18510	1,70	P10145	35,00

Figura 18 - Porção (com respetivo cabeçalho) da tabela dinâmica obtida para o cálculo da quantificação de cada uma das proteínas de DMT1 e DMT2.

Uma vez obtida a tabela dinâmica, recorreu-se, novamente, a uma fórmula Procv, para o preenchimento da média de quantificação na tabela funcional, representada por “=PROCV(C2;Media_DMT1!\$D2:E22000;2;FALSO)”, para a DMT1, e por “=PROCV(C2;Media_DMT2!\$D2:E22000;2;FALSO), para a DMT2.

Optou-se para acrescentar a média da quantificação das proteínas à tabela funcional, uma vez que se tratou do critério principal para a seleção das proteínas humanas que, em interação com proteínas microbianas no contexto da diabetes, pela sua quantificação importante (com valor superior a 3, ou inferior a -3) poderia constituir uma nova proposta de biomarcador da saliva oral para esta patologia.

3.3.3. Local de amostragem

Para o preenchimento da informação relativa ao local de amostragem de cada uma das proteínas, começou-se por identificar os locais de amostragem aos quais estavam associadas proteínas de DMT1 e DMT2, no OralCard. Para tal, na tabela da base de dados total do OralCard, começou-se por verificar

quais as colunas referentes aos locais de amostragem, após filtragem para DMT1 e DMT2 de acordo com os códigos MeSH de cada uma das patologias, em que se encontravam proteínas assinaladas. Desta forma, foram selecionados apenas os locais de amostragem “whole saliva”, “mucosa” e “SM/SL”, uma vez que correspondiam aos únicos locais em que haviam sido identificadas bactérias para estas patologias.

Previamente ao preenchimento, ordenou-se de A a Z cada uma das colunas dos locais de amostragem.

O preenchimento foi obtido com recurso, mais uma vez, a uma fórmula Procv, representada por “=PROCV(C2;Amostra_DMT1!\$A\$2:Y\$21086;8;FALSO)”, para a DMT1, e por “=PROCV(C2;Amostra_DMT2!\$A\$2:Y\$21086;8;FALSO)”, para a DMT2.

3.3.4. Identificação como biomarcadores

Para fins de discussão das proteínas de diabetes propostas como biomarcadores no OralCard, procedeu-se à identificação das mesmas.

O preenchimento desta informação foi feito com recurso a fórmulas Procv, representadas por “=PROCV(C2;Biomarcadores_DMT1!\$A1:Z22000;24;FALSO)”, para a DMT1, e por “=PROCV(C2;Biomarcadores_DMT2!\$A1:Z22000;24;FALSO)”, para a DMT2.

3.3.5. Processos biológicos

A parte da tabela referente aos processos biológicos obtidos pela classificação ontológica do Agbase para cada uma das proteínas, foi preenchida com recurso a fórmulas representadas por “=SE(É.ERRO(PROCH(C\$2;DMT1_resumo!\$L4:\$ZZ4;1;0));"";"+"”), para DMT1, e por “=SE(É.ERRO(PROCH(M\$2;DMT2_resumo!\$L4:\$ZZ4;1;0));"";"+"”), para DMT2). Previamente, haviam sido copiados manualmente os processos biológicos, a partir da tabela dinâmica obtida para cada uma das patologias, com o resumo dos processos biológicos.

3.4 Seleção das proteínas humanas de interesse para a análise interactómica

De entre as proteínas constantes da tabela funcional, realizou-se uma seleção, tendo como critério a sua quantificação. Assim, foram seleccionadas, para análise interactómica, as proteínas com uma média de quantificação superior a 3 ou inferior a -3. Este critério foi tomado, uma vez que se considerou que valores inferiores a 3 ou superiores a -3 não permitiriam uma mensuração que pudesse ser tomada como significativamente diferente de um estado de saúde.

3.5 Caracterização funcional das proteínas microbianas em interação com as humanas

Uma vez obtida a seleção das proteínas humanas de interesse, procedeu-se à caracterização funcional e seleção das proteínas microbianas, em interação com as humanas previamente seleccionadas.

Para tal, realizou-se uma filtragem da tabela das interações do OralInt de DMT1 e DMT2 para cada uma das proteínas humanas seleccionadas, individualmente.

Elaboraram-se, então, duas listas de proteínas microbianas, para DMT1 e DMT2, que foram mais uma vez submetidas a caracterização funcional no Agbase, tendo sido todo o processo semelhante ao realizado para as proteínas humanas.

Uma vez obtidas as respetivas tabelas com a classificação ontológica das proteínas microbianas, começou-se por filtrar a lista, de acordo com a componente celular, excluindo as proteínas que apresentavam apenas localização intracelular, sob o pressuposto de que não seriam boas candidatas para estabelecer uma interação com proteínas de outros organismos.

As listas resultantes foram novamente submetidas ao Agbase.

Obtidas as folhas em Excel correspondentes à caracterização das proteínas, realizaram-se filtragens ao nível da função molecular e do processo biológico, para seleção das proteínas de interesse. As filtragens foram

auxiliadas pelos dados numéricos de quantificação das proteínas por função molecular e processo biológico, obtidos na página do GOSlimViewer, do Agbase (figura 19).

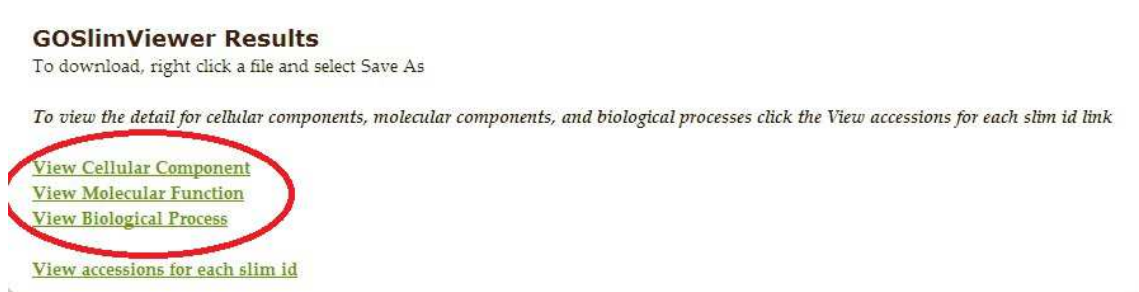


Figura 19 - Página do GOSlimViewer.

De acordo com a fisiopatologia da DMT1, foram selecionadas as proteínas que intervinham nos processos biológicos “carbohydrate metabolic process” e “catabolic process” e que apresentavam as funções moleculares “hydrolase activity, acting on glycosyl bonds” e “hydrolase activity, acting on carbon-nitrogen (but not peptide) bonds”.

Na DMT2, foram selecionadas as proteínas que intervinham nos processos biológicos “immune system process”, “carbohydrate metabolic process”, “cell adhesion” e “symbiosis, encompassing mutualism through parasitism”, e que apresentavam as funções moleculares “peptidase activity”, “transferase activity, transferring glycosyl groups”, “hydrolase activity, acting on glycosul bonds”, “hydrolase activity, acting on carbon-nitrogen (but not peptide) bonds”, “lyase activity” e “ligase activity”.

As respetivas listas obtidas foram submetidas ao UniProt (38). Para tal, na página inicial do sítio do UniProt na internet, abriu-se o separador “Retrieve” (figura 20). Dentro do separador, colaram-se os códigos UniProt das proteínas microbianas selecionadas, para o campo (UniProt identifiers), tendo-se selecionado, de seguida, a opção “retrieve” (figura 21).

Na página da ferramenta “Retrieve”, selecionou-se a opção “UniProtKB”, permitindo aceder a uma página de resultados (figura 22). Nesta página, é possível personalizar a tabela de resultados, com a informação a apresentar nas colunas, selecionando a opção “customize” (figura 23). Para tal, percorre-se a lista de informações disponíveis no campo “Columns”, e utiliza-se o botão

“Hide” para remover um campo da lista dos selecionados, e o botão “Show” para adicionar um campo à tabela (figura 24).

De forma a dispor da informação que permitiria obter uma caracterização mais de acordo com os interesses deste trabalho, e para facilitar a seleção final das proteínas microbianas para análise interactómica, os campos selecionados foram “Entry name”, “Organism”, “Disease”, “Features”, “General annotation (allergen)”, “General annotation (biotechnology)”, “General annotation (catalytic activity)”, “General annotation (function)”, “General annotation (disease)”, “General annotation (pathway)”, “General annotation (subcellular location)”, “Interacts with”, “Organism ID”, “Pathway”, “Protein existence”, “Protein names” e “Subcellular location”.

Uma vez selecionados os campos que deverão compor as colunas da tabela, selecionou-se a opção “Save”, por forma a actualizar a tabela (figura 25).

Por fim, e para que a tabela pudesse ser importada para o Excel, acedeu-se à página de “download” (figura 23), fazendo o descarregamento do respetivo ficheiro (figura 26).

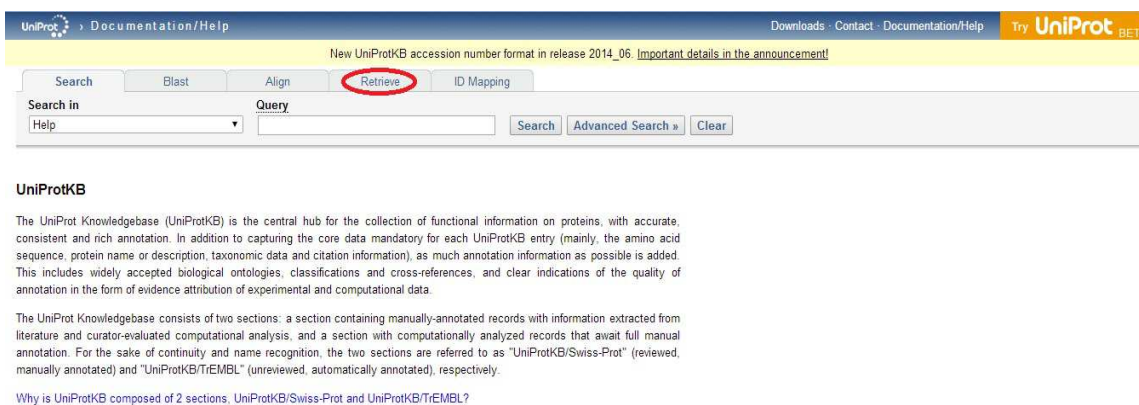


Figura 20 - Página inicial do UniProt, com destaque para o separador “Retrieve”.

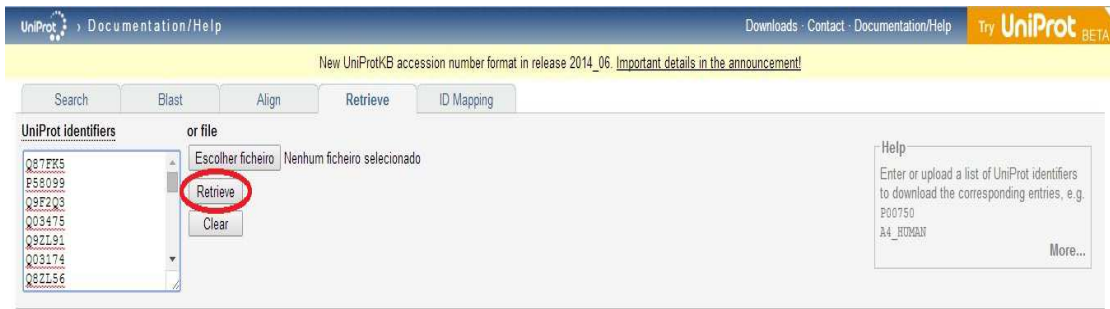


Figura 21 - Página da ferramenta “Retrieve”, apresentando a colagem dos códigos das proteínas no campo “UniProt identifiers” e a seleção da opção “Retrieve”.



Figura 22 - Página da ferramenta “Retrieve”, após processamento das proteína introduzidas, com seleção da opção “UniProtKB”, permitindo aceder à página de resultados.

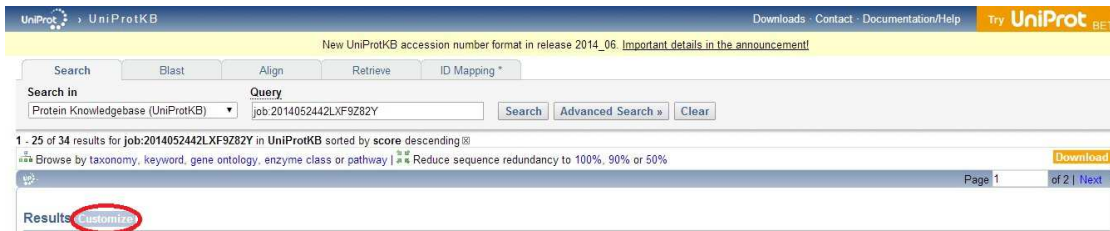


Figura 23 - Página de resultados do “Retrieve”, mostrando o separador “customize”.

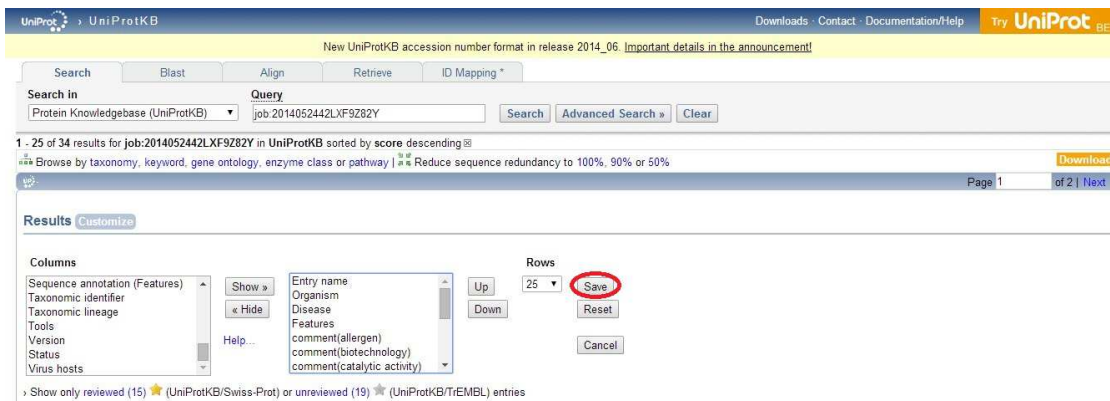


Figura 24 - Página do separador “customize”, mostrando o campo “columns”, onde é possível selecionar as informações a introduzir na tabela de resultados, através dos botões “Show” e “Hide”, assim como o botão “Save”, utilizado para guardar a informação e obter a tabela personalizada.

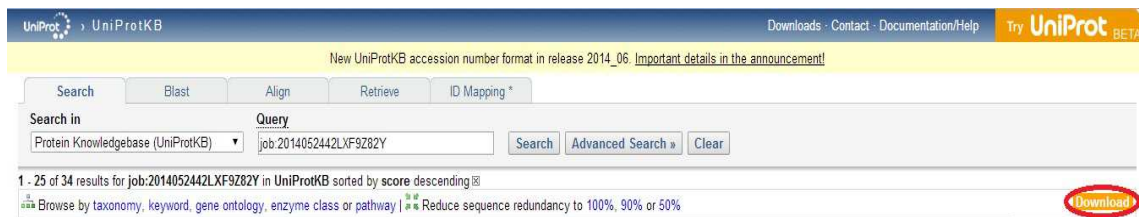
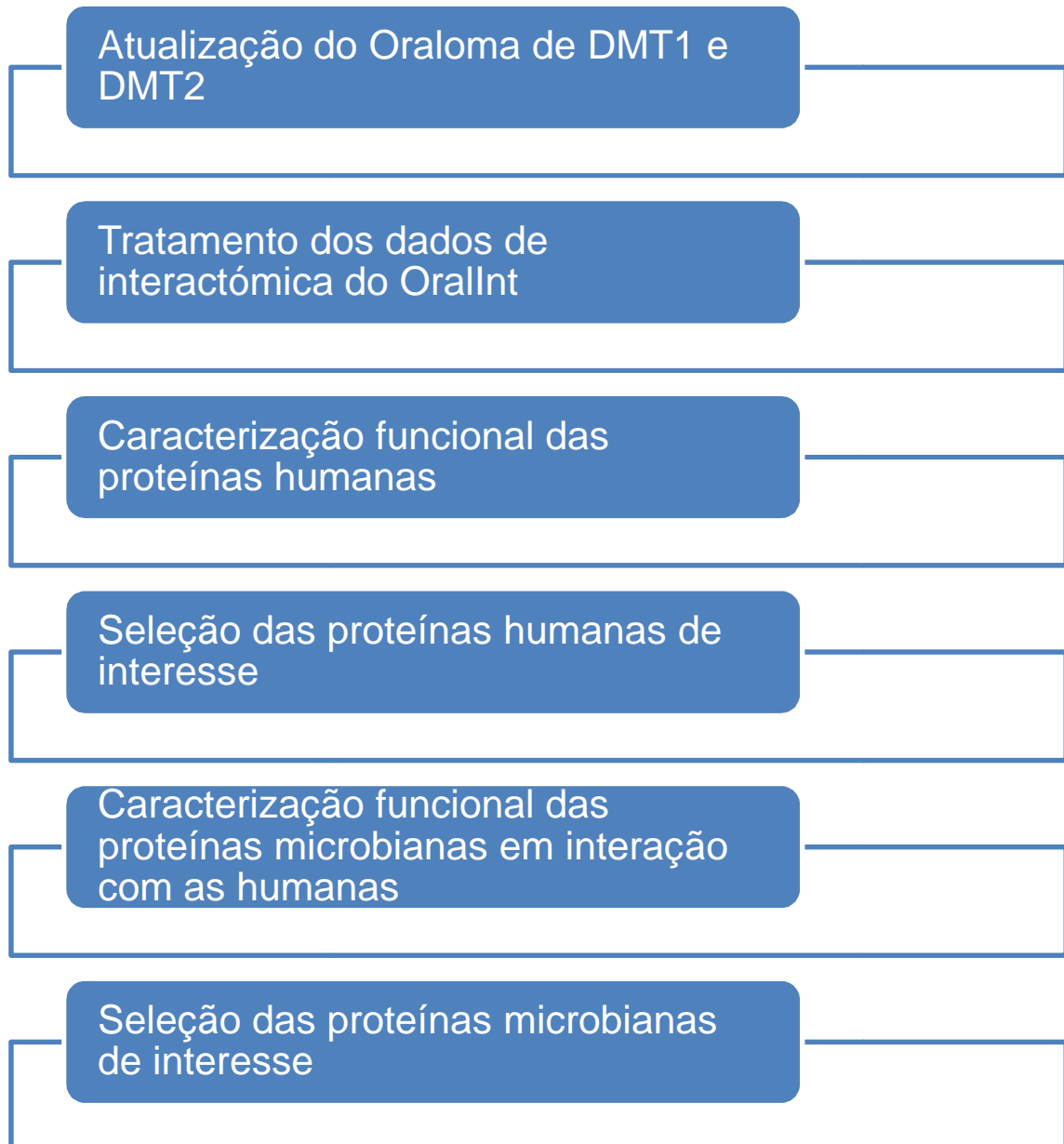


Figura 25 - Página de resultados, após a personalização da tabela, com a seleção da opção “download”, para obtenção do ficheiro da tabela resultante.

Figura 26 - Página de “download”, com seleção da opção que permite obter o ficheiro de formato para importação para o Excel.

Uma vez obtidas as tabelas do UniProt, a seleção final das proteínas microbianas foi feita com base na sua função, à luz da possibilidade de intervir em mecanismos fisiopatológicos da DM.

Fluxograma



4 Resultados e discussão

4.1 Microrganismos alterados em DMT1 e DMT2

A pesquisa relativa aos microrganismos associados com Diabetes Mellitus, a nível oral, permitiu actualizar a base de dados OralCard, com os resultados apresentados na tabela 1, complementando os já obtidos por Patrícia Moreira(48) e Vítor Brás(49).

Tabela 1 – Microrganismos alterados em DM e respetiva bibliografia associada.

Microrganismo	Fonte(s)	Microrganismo	Fonte(s)
<i>Actinobacillus actinomycetemcomitans</i>	(43); (46); (47); (45)	<i>Prevotella intermedia</i>	(43); (46); (41); (45)
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	(43); (46); (41); (47); (45); (40)	<i>Campylobacter rectus</i>	(43)
<i>Tannerella forsythia</i>	(43); (41); (46); (45); (40)	<i>Parvimonas micra</i>	(43); (41); (40)
<i>Treponema denticola</i>	(43); (41); (47); (45)	<i>Eubacterium nodatum</i>	(43)
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	(43); (41); (40)	<i>Eikenella corrodens</i>	(43); (47); (40)
<i>Veillonella parvula</i>	(43); (40)	<i>Enterococcus spp.</i>	(41)
<i>Actinomyces naeslundii</i>	(43)	<i>Candida albicans</i>	(47); (44)
<i>Prevotella nigrescens</i>	(41)	<i>Desulfovibrio fairfieldensis</i>	(42)
<i>Porphyromonas endodontalis</i>	(41); (40)	<i>Desulfovibrio desulfuricans</i>	(42)
<i>Streptococcus spp.</i>	(41)	<i>Raoultella ornithinolytica</i>	(42)
<i>Filifactor alocis</i>	(40)	<i>Rothia dentocariosa</i>	(40)

<i>Eubacterium saphenum</i>	(40)	<i>Capnocytophaga gingivalis</i>	(40)
<i>Streptococcus mitis</i>	(40)	<i>Candida tropicalis</i>	(44)
<i>Veillonella dispar</i>	(40)	<i>Candida glabrata</i>	(44)
<i>Candida krusei</i>	(44)	<i>Candida guilliermondii</i>	(44)

A pesquisa de novas proteínas humanas de expressão alterada em DMT1 e DMT2, não devolveu resultados no período considerado para este estudo, pelo que não foi possível adicionar nova informação ao OralCard.

4.2 Caracterização funcional das proteínas humanas intervenientes em PPIs em Diabetes Mellitus, de acordo com o OralCard

A elaboração da tabela com os pares de interações fornecidos pelo algoritmo OralInt, permitiu concluir que o número de proteínas humanas com interação com proteínas microbianas era de 10, em DMT1, e 163, em DMT2.

No que respeita à classificação das proteínas humanas submetidas ao Agbase, obteve-se o gráfico apresentado nas figuras 27 (para DMT1) e 28 (para DMT2), com a quantificação numérica das proteínas, de acordo com a sua distribuição por processo biológico.

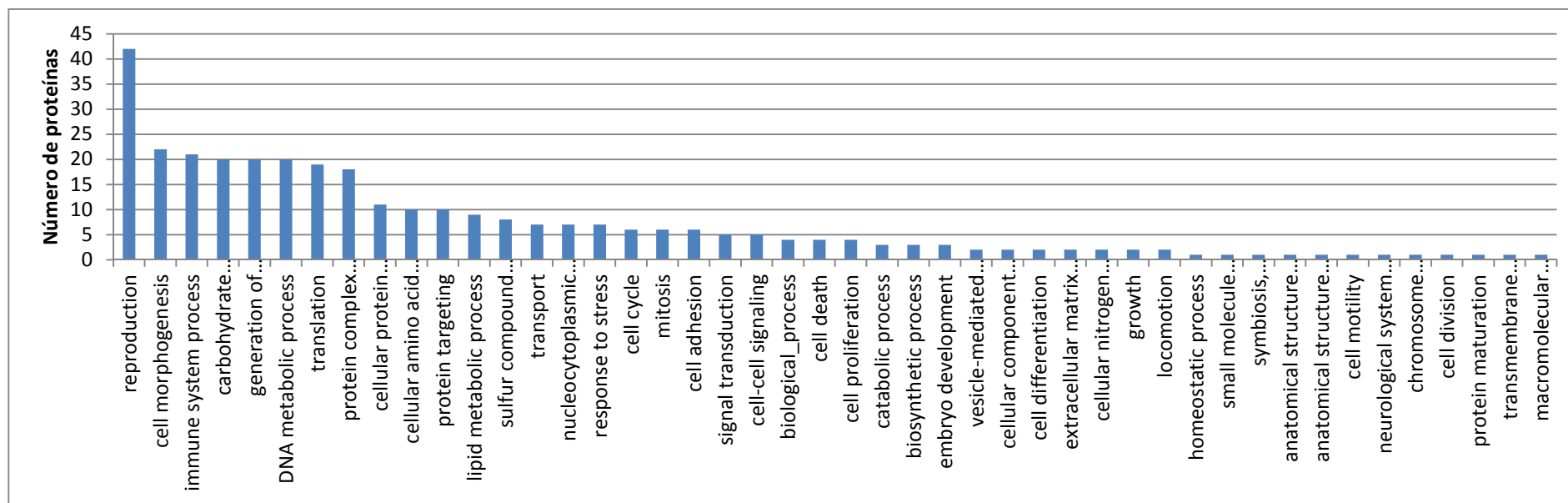


Figura 27 - Distribuição das proteínas humanas alteradas em DMT1 por processo biológico.

Assim, na DMT1, contabilizaram-se 46 processos biológicos gerais, com a seguinte distribuição: reproduction – 7; cell morphogenesis – 2; immune system process – 19; carbohydrate metabolic process – 5; generation of precursor metabolites and energy – 1; DNA metabolic process – 1; translation – 1; protein complex assembly – 3; cellular protein modification process – 20; cellular amino acid metabolic process – 1; protein targeting – 5; lipid metabolic process – 10; sulfur compound metabolic process – 4; transport – 22; nucleocytoplasmic transport – 6; response to stress – 18; cell cycle – 3; mitosis – 1; cell adhesion – 3; signal transduction – 42; cell-cell signaling – 4; biological process – 10; cell death – 20; cell proliferation – 7; catabolic process – 11; biosynthetic process – 20; embryo development – 1; vesicle-mediated transport – 1; cellular component assembly – 1; cell differentiation – 8; extracellular matrix organization – 1; cellular nitrogen compound metabolic process – 7; growth – 1; locomotion –

2; homeostatic process – 4; small molecule metabolic process – 9; symbiosis, encompassing mutualism through parasitism – 2; anatomical structure formation involved in morphogenesis – 2; anatomical structure development – 21; cell motility – 6; neurological system process – 6; chromosome organization – 2; cell division – 2; transmembrane transport – 2; macromolecular complex assembly – 1.

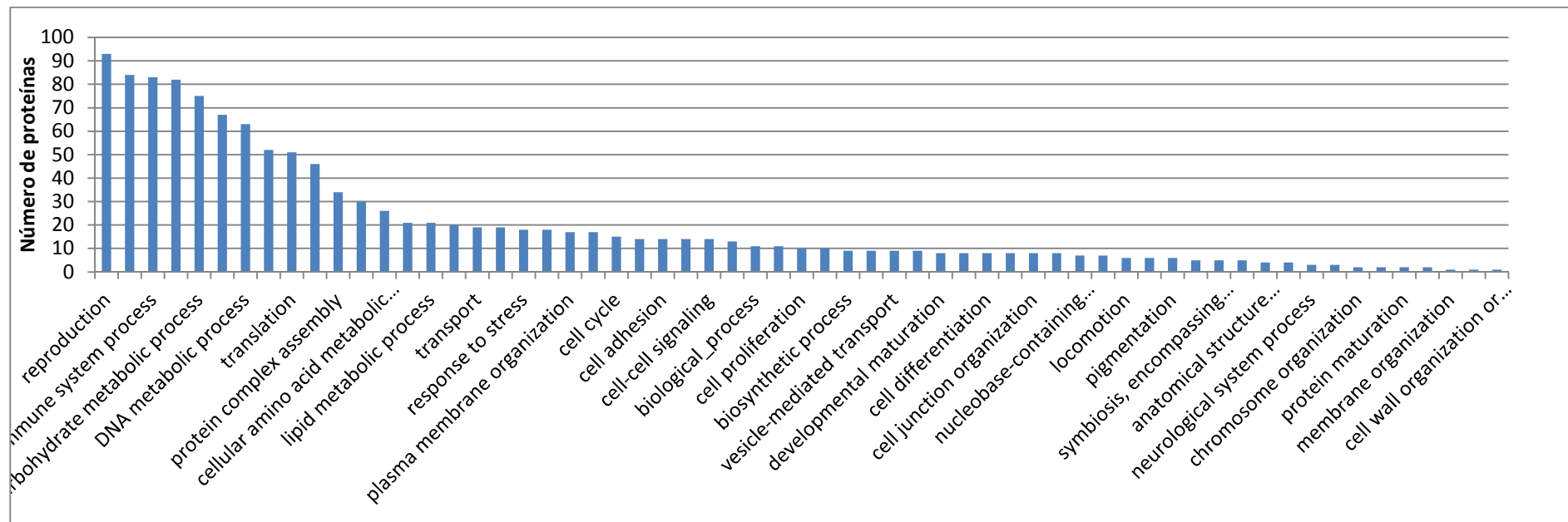


Figura 28 - Distribuição das proteínas humanas alteradas em DMT2 por processo biológico.

Em DMT2, contabilizaram-se 61 processos biológicos gerais, com a seguinte distribuição: reproduction – 13; cell morphogenesis – 6; immune system process – 75; circulatory system process – 8; carbohydrate metabolic process – 20; generation of precursor metabolites and energy – 8; DNA metabolic process – 15; mRNA processing - 2; translation – 4; protein folding – 2;

protein complex assembly – 14; cellular protein modification process – 46; cellular amino acid metabolic process – 19; protein targeting – 10; lipid metabolic process – 26; sulfur compound metabolic process – 9; transport – 83; nucleocytoplasmic transport – 6; response to stress – 93; mitochondrion organization – 7; plasma membrane organization – 3; cytoskeleton organization – 18; cell cycle – 14; mitosis – 2; cell adhesion – 18; signal transduction – 82; cell-cell signaling – 11; aging – 1; biological process – 17; cell death – 30; cell proliferation – 10; catabolic process – 51; biosynthetic process – 52; embryo development – 9; vesicle-mediated transport – 21; secondary metabolic process – 3; developmental maturation – 2; cellular component assembly – 17; cell differentiation – 34; extracellular matrix organization – 5; cell junction organization – 8; cellular nitrogen compound metabolic process – 63; nucleobase-containing compound metabolic process – 8; growth – 8; locomotion – 11; homeostatic process – 21; pigmentation – 1; small molecule metabolic process – 67; symbiosis, encompassing mutualism through parasitism – 5; anatomical structure formation involved in morphogenesis – 6; anatomical structure development – 84; cell motility – 19; neurological system process – 5; cofactor metabolic process – 14; chromosome organization – 7; cell division – 4; protein maturation – 8; transmembrane transport – 14; membrane organization – 9; macromolecular complex assembly – 9; cell wall organization or biogenesis – 1.

4.3 Seleção das proteínas humanas com interesse fisiopatológico

Após a elaboração da tabela funcional para as proteínas humanas, efetuou-se a sua seleção por meio da quantificação (superior a 3 ou inferior a -3), determinando-se aquelas que poderiam ter interesse para a discussão da sua intervenção, por via da interactómica inter-específica, nos mecanismos fisiopatológicos da Diabetes Mellitus. Para DMT1, foi selecionada 1 proteína, e para DMT2 foram selecionadas 16 proteínas (tabela 2).

Tabela 2 – Proteínas humanas com interesse fisiopatológico, apresentadas com o código UniProt e o nome.

DMT1	
Código UniProt	Nome da proteína
P01584	Interleukin-1 beta (IL-1 beta) (Catabolin)
DMT2	
P01009	Alpha-1-antitrypsin (Alpha-1 protease inhibitor) (Alpha-1-antiproteinase) (Serpina1) [Cleaved into: Short peptide from AAT (SPAAT)]
Q09666	Neuroblast differentiation-associated protein AHNAK (Desmoyokin)
O60218	Aldo-keto reductase family 1 member B10 (EC 1.1.1.-) (ARL-1) (Aldose reductase-like) (Aldose reductase-related protein) (ARP) (hARP) (Small intestine reductase) (SI reductase)
P04114	Apolipoprotein B-100 (Apo B-100) [Cleaved into: Apolipoprotein B-48 (Apo B-48)]
P61160	Actin-related protein 2 (Actin-like protein 2)
P10645	Chromogranin-A (CgA) (Pituitary secretory protein I) (SP-I) [Cleaved into: Vasostatin-1 (Vasostatin I); Vasostatin-2 (Vasostatin II); EA-92; ES-43;

	Pancreastatin; SS-18; WA-8; WE-14; LF-19; AL-11; GV-19; GR-44; ER-37]
P13671	Complement component C6
P15924	Desmoplakin (DP) (250/210 kDa paraneoplastic pemphigus antigen)
P02533	Keratin, type I cytoskeletal 14 (Cytokeratin-14) (CK-14) (Keratin-14) (K14)
P14618	Pyruvate kinase isozymes M1/M2 (EC 2.7.1.40) (Cytosolic thyroid hormone-binding protein) (CTHBP) (Opa-interacting protein 3) (OIP-3) (Pyruvate kinase 2/3) (Pyruvate kinase muscle isozyme) (Thyroid hormone-binding protein 1) (THBP1) (Tumor M2-PK) (p58)
Q99102	Mucin-4 (MUC-4) (Ascites sialoglycoprotein) (ASGP) (Pancreatic adenocarcinoma mucin) (Testis mucin) (Tracheobronchial mucin) [Cleaved into: Mucin-4 alpha chain (Ascites sialoglycoprotein 1) (ASGP-1); Mucin-4 beta chain (Ascites sialoglycoprotein 2) (ASGP-2)]
P05164	Myeloperoxidase (MPO) (EC 1.11.2.2) [Cleaved into: Myeloperoxidase; 89 kDa myeloperoxidase; 84 kDa myeloperoxidase; Myeloperoxidase light chain; Myeloperoxidase heavy chain]
P00558	Phosphoglycerate kinase 1 (EC 2.7.2.3) (Cell migration-inducing gene 10 protein) (Primer recognition protein 2) (PRP 2)
P06737	Glycogen phosphorylase, liver form (EC 2.4.1.1)
P67936	Tropomyosin alpha-4 chain (TM30p1) (Tropomyosin-4)
Q5TCI8	Prelamin-A/C

Os processos biológicos nos quais cada uma das proteínas selecionadas intervêm, são apresentados na tabela 3.

Tabela 3 – Proteínas humanas selecionadas, com apresentação dos processos biológicos em que intervêm.

Código UniProt	Processos Biológicos
P01584	<i>cell-cell signaling; fever generation; immune response; inflammatory response; leukocyte migration; monocyte aggregation; negative regulation of adiponectin secretion; negative regulation of cell proliferation; negative regulation of lipid catabolic process; negative regulation of lipid metabolic process; neutrophil chemotaxis; positive regulation of calcidiol 1-monooxygenase activity; positive regulation of fever generation; positive regulation of heterotypic cell-cell adhesion; positive regulation of JNK cascade; positive regulation of lipid catabolic process; positive regulation of T cell mediated immunity; positive regulation of T cell proliferation; regulation of insulin secretion</i>
P01009	<i>acute-phase response; blood coagulation; platelet activation</i>
Q09666	Nenhum dos processos biológicos selecionados
O60218	<i>farnesol catabolic process; retinoid metabolic process; steroid metabolic process</i>
P04114	<i>cholesterol homeostasis; leukocyte migration; cholesterol metabolic process; lipid catabolic process; lipid metabolic</i>

	<i>process; regulation of cholesterol biosynthetic process; retinoid metabolic process; steroid metabolic process; triglyceride catabolic process; triglyceride mobilization; blood coagulation</i>
P61160	<i>Fc-gamma receptor signaling pathway involved in phagocytosis; innate immune response</i>
P10645	<i>regulation of blood pressure</i>
P13671	<i>complement activation; complement activation, classic pathway; immune response; immune system process; innate immune response; positive regulation of antigen processing and presentation os peptide via MHC class II; regulation of complement activation; positive regulation of activation of membrane attack complex; positive regulation of complement activation</i>
P02533	Nenhum dos processos biológicos selecionados
P14618	<i>carbohydrate metabolic process; glucose metabolic process; glycolysis; cell-cell adhesion; negative regulation of cell adhesion; negative regulation of cell-substrate adhesion; regulation of cell adhesion; cell proliferation; inner cell mass cell proliferation; positive regulation of T cell proliferation cell-cell signaling</i>
Q99102	<i>O-glycan processing; cell adhesion</i>
P05164	<i>respiratory burst involved in defense response; defense response; defense response to fungus; hydrogen peroxide catabolic process; removal of superoxide radicals; response to oxidative stress; negative regulation of growth of symbiont</i>

	<i>in host</i>
P00558	<i>carbohydrate metabolic process; galactose catabolic process; glucose metabolic process; glycolysis; cell-cell adhesion; homophilic cell adhesion; leukocyte cell-cell adhesion; negative regulation of cell adhesion; negative regulation of cell-cell adhesion mediated by cadherin; negative regulation of cell-substrate adhesion; regulation of cell adhesion; cell proliferation; inner cell mass cell proliferation; positive regulation of T cell proliferation; cell-cell signaling; negative regulation of adiponectin secretion</i>
P06737	<i>carbohydrate metabolic process; glucose metabolic process; glycogen metabolic process; glycogen catabolic process; cell-cell adhesion; leukocyte cell-cell adhesion; negative regulation of cell adhesion; negative regulation of cell-substrate adhesion; regulation of cell adhesion; cell proliferation; inner cell mass cell proliferation; positive regulation of T cell proliferation; cell-cell signaling; glucose homeostasis</i>
P67936	Nenhum dos processos biológicos selecionados
Q5TCI8	Nenhum dos processos biológicos selecionados

4.4 Caracterização funcional das proteínas microbianas em interação com as humanas

Na caracterização funcional das proteínas microbianas em interação com as humanas selecionadas como interessantes para análise do ponto de vista da interactiva inter-específica na fisiopatologia da diabetes, obtiveram-se gráficos de barras com as distribuição quantitativa destas mesmas proteínas, de acordo com o processo biológico em que intervêm e a função molecular que apresentam. Os gráficos apresentados ilustram a distribuição das proteínas por processos biológico e função molecular, após a sua filtragem por componente celular, de acordo com o método descrito.

Para DMT1, apresenta-se o gráfico de barras para o processo biológico (figura 29) e para a função molecular (figura 30), após terem sido eliminadas da contagem para as funções moleculares de “molecular function” e “peptidase activity” as proteínas que apresentavam outras funções moleculares, por serem menos informativas. No total, as proteínas encontram-se distribuídas por 25 processos biológicos deferentes, assim como por 22 funções moleculares diferentes.

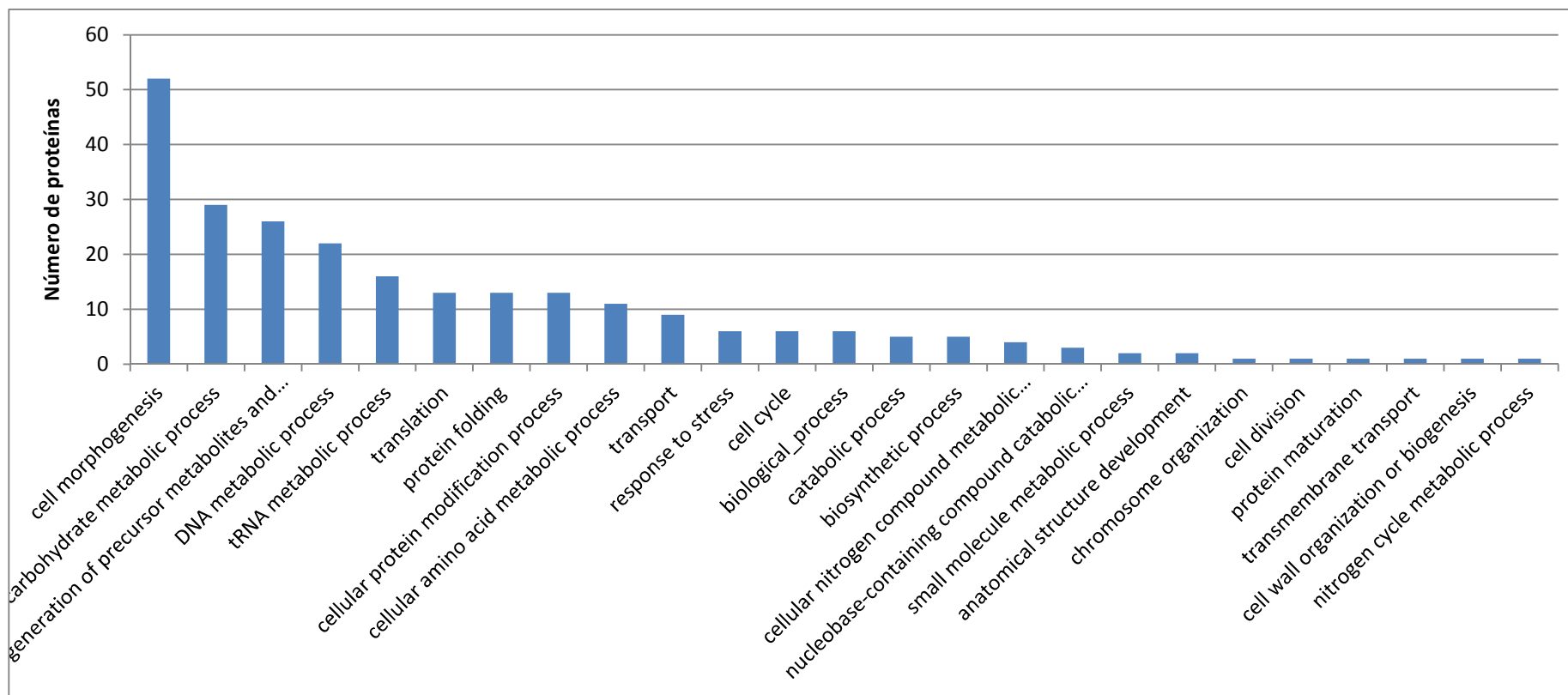


Figura 29 - Distribuição das proteínas microbianas em interação com as humanas selecionadas para DMT1, de acordo com o processo biológico.

Em DMT1, contabilizaram-se 25 processos biológicos gerais, com a seguinte distribuição: cell morphogenesis – 1; carbohydrate metabolic process – 13; generation of precursors metabolites and energy – 3; DNA metabolic process – 2; tRNA metabolic process – 13; translation – 13; protein folding – 5; cellular protein modification process – 11; cellular amino acid metabolic process – 29; transport – 5; response to stress – 6; cell cycle – 6; biological process – 52; catabolic process – 16; biosynthetic

process – 26; cellular nitrogen compound catabolic process – 4; small molecular metabolic process – 22; anatomical structure development – 1; chromosome organization – 1; cell division – 6; protein maturation – 2; transmembrane transport – 1; cell wall organization or biogenesis – 1; nitrogen cycle metabolic process – 1.

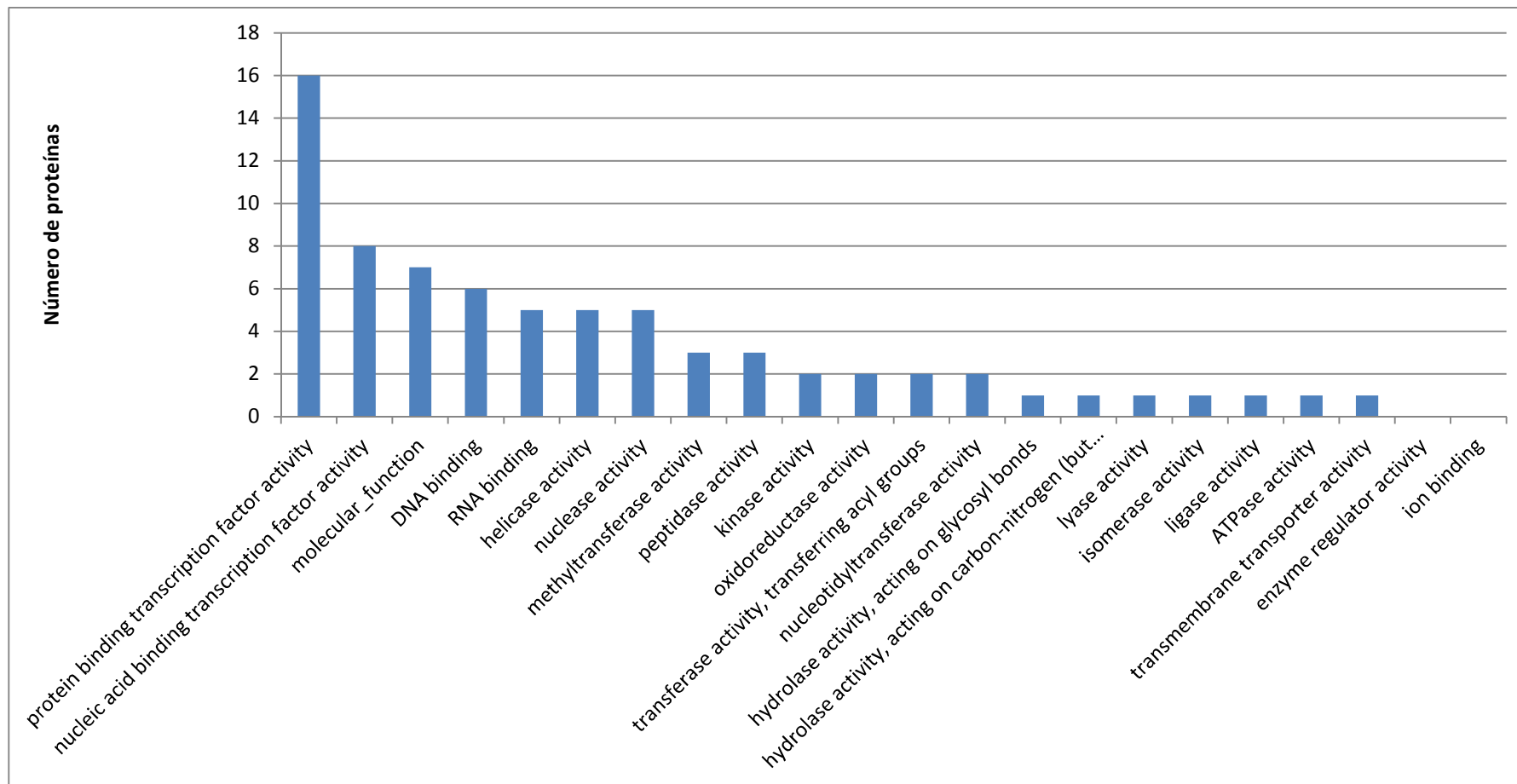


Figura 30 - Distribuição das proteínas microbianas em interação com as humanas selecionadas para DMT1, de acordo com a função molecular.

Em DMT1, contabilizaram-se 22 funções moleculares gerais, com a seguinte distribuição, após desambiguação no respeitante às funções de “molecular function” e “peptidase activity”: protein binding transcription factor activity – 2; nucleic acid

binding transcription factor activity – 2; molecular function – 1; DNA binding – 5; RNA binding – 3; helicase activity – 1; nuclease activity – 1; methyltransferase activity – 1; peptidase activity – 0; kinase activity – 2; oxidoreductase activity – 8; transferase activity, tranferrinf acul groups – 6; nucleotidyltransferase activity – 2; hydrolase activity, acting on glycosyl bonds – 1; hydrolase activity, acting on carbon-nitrogen (but not peptide) bonds – 7; lyase activity – 5; isomerase activity – 5; ligase activity – 16; ATPase activity – 3; transmembrane transporter activity – 1; enzyme regulator activity – 1; ion binding – 0.

Para DMT2, apresenta-se, também, o gráfico de barras para o processo biológico (figura 31) e para a função molecular (figura 32), após terem sido eliminadas da contagem para as funções moleculares de “ion binding”, “molecular function” e “peptidase activity” as proteínas que apresentavam outras funções moleculares, com recurso ao Agbase. No total, as proteínas encontram-se distribuídas por 37 processos biológicos deferentes, assim como por 30 funções moleculares diferentes.

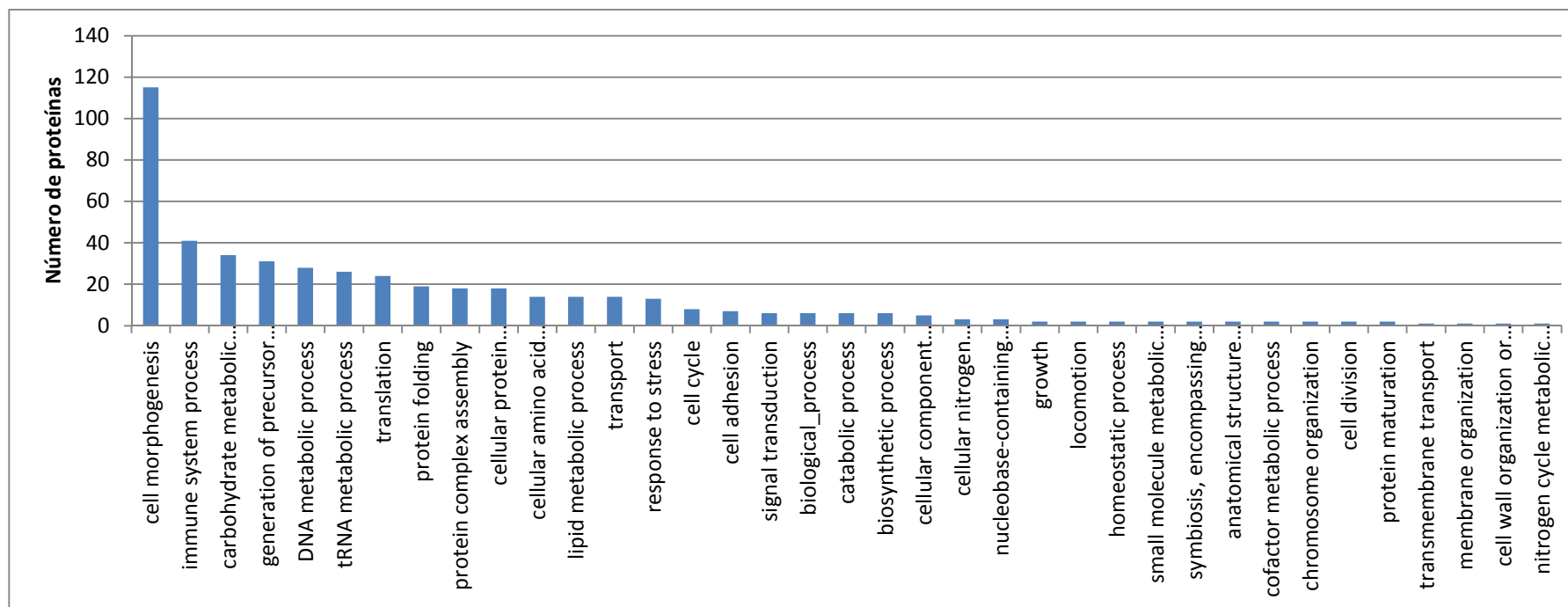


Figura 31 - Distribuição das proteínas microbianas em interação com as humanas selecionadas para DMT2, de acordo com o processo biológico.

Em DMT2, contabilizaram-se 37 processos biológicos gerais, com a seguinte distribuição: cell morphogenesis – 2; immune system process – 2; carbohydrate metabolic process – 19; generation of precursor metabolites and energy – 6; DNA metabolic process – 13; tRNA metabolic process – 14; translation – 18; protein folding – 7; protein complex assembly – 3; cellular protein modification process – 14; cellular amino acid metabolic process – 31; lipid metabolic process – 1; transport – 24; response do stress – 18; cell cycle – 6; cell adhesion – 6; signal transduction – 2; biological process – 115; catabolic process – 34; biosynthetic process – 41; cellular component assembly – 5; cellular nitrogen compound metabolic process – 26; nucleobase-containing compound catabolic process – 14; growth – 1; locomotion – 2; homeostatic process – 3; small molecule metabolic process – 28;

symbiosis, encompassing mutualism through parasitism - 2; anatomical structure development – 2; cofactor metabolic process – 2; chromosome organization – 1; cell division – 6; protein maturation – 2; transmembrane transport – 8; membrane organization – 2; cell wall organization or biogenesis – 2; nitrogen cycle metabolic process – 1.

No caso da DMT2, repete-se a observação que diz respeito à falta de informação na anotação das proteínas microbianas, para o processo biológico geral “biological process”, com uma contabilização de 115 proteínas mesmo depois da desambiguação

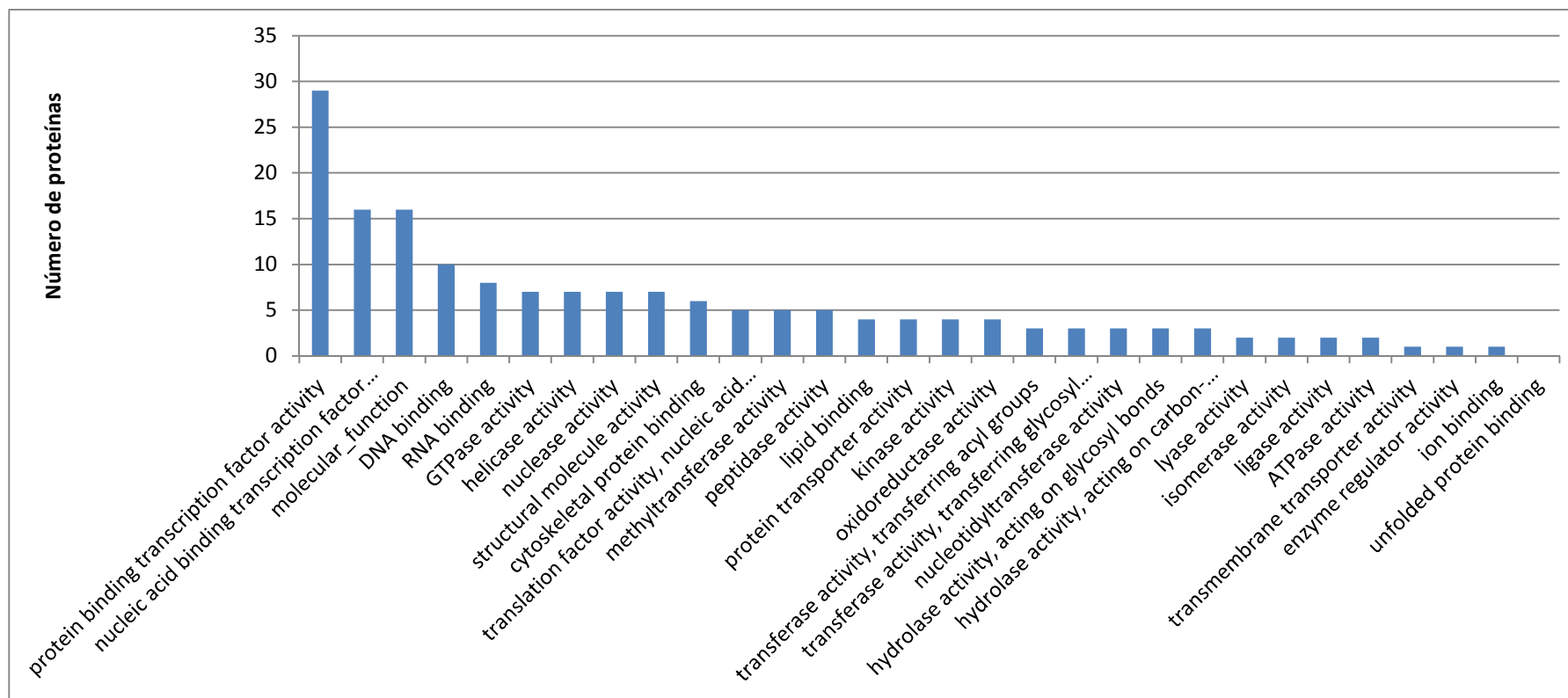


Figura 32 - Distribuição das proteínas microbianas em interação com as humanas selecionadas para DMT2, de acordo com a função molecular.

Em DMT2, contabilizaram-se 30 funções moleculares gerais, com a seguinte distribuição, após desambiguação no respeitante às funções de “ion binding”, “molecular function” e “peptidase activity”: protein binding transcription factor activity – 4; nucleic acid binding transcription factor activity – 5; molecular function – 29; DNA binding – 16; RNA binding – 6; GTPase activity – 4; helicase activity – 7; nuclease activity – 3; structural molecule activity – 2; cytoskeletal protein binding – 2; translation factor activity, nucleic acid binding – 4; methyltransferase activity – 3; peptidase activity – 1; lipid binding – 1; protein transporter activity –

2; kinase activity – 5; oxidoreductase activity – 4; transferase activity, transferring acyl groups – 2; transferase activity, transferring glycosyl groups – 3; nucleotidyltransferase activity – 3; hydrolase activity, acting on glycosyl bonds – 7; hydrolase activity, acting on carbon-nitrogen (but not peptide) bonds – 8; lyase activity – 5; isomerase activity – 10; ligase activity – 16; ATPase activity – 7; transmembrane transporter activity – 7; enzyme regulator activity – 1; ion binding – 0; unfolded protein binding – 3.

Também de referir que a função molecular “molecular function”, uma categoria genérica com uma contabilização de 29 proteínas, recebe o mesmo tipo de interpretação já feita para para outros casos, no que se refere à falta de informação na anotação das proteínas microbianas.

Após a aplicação dos critérios de seleção das proteínas microbianas, com base nos processos biológicos em que intervinham, obtiveram-se 6 proteínas interatuantes com a proteína humana selecionada para DMT1 e 33 proteínas interatuantes com as 16 proteínas humanas selecionadas para DMT2.

4.5 Interações

De entre as proteínas humanas e microbianas selecionadas, obtiveram-se, então, os pares de interações apresentados na tabela 4 para DMT1, e na tabela 5 para DMT2.

Tabela 4 – Pares de PPIs com o código UniProt e o nome de cada proteína.

DMT1			
Proteína Humana		Proteína Microbiana	
Código UniProt	Nome	Código UniProt	Nome
P01584	Interleukin-1 beta	C9R667	Formate acetyltransferase
P01584	Interleukin-1 beta	C7NCD2	Formate acetyltransferase (EC 2.3.1.54)
P01584	Interleukin-1 beta	P64222	Aminomethyltransferase (EC 2.1.2.10)
P01584	Interleukin-1 beta	Q56063	2-methylcitrate synthase (EC 2.3.3.5)
P01584	Interleukin-1 beta	Q7CQU1	Pyruvate formate lyase I, induced anaerobically (EC 2.3.1.54)
P01584	Interleukin-1 beta	I6L8Y7	Putative trehalose-6-phosphate hydrolase TreA

Tabela 5 – Pares de PPIs com o código UniProt e o nome de cada proteína.

DMT2			
Proteína Humana		Proteína Microbiana	
Código UniProt	Nome	Código UniProt	Nome
P61160	Actin-related protein 2	Q9F2Q3	Enolase 1 (EC 4.2.1.11)
O60218	Aldo-keto reductase family 1 member B10	Q03174	Fructan beta-fructosidase (EC

	(EC 1.1.1.-)		3.2.1.80)
O60218	Aldo-keto reductase family 1 member B10 (EC 1.1.1.-)	P49331	Glucosyltransferase-S (GTF-S) (EC 2.4.1.5)
O60218	Aldo-keto reductase family 1 member B10 (EC 1.1.1.-)	Q9F2Q3	Enolase 1 (EC 4.2.1.11)
P01009	Alpha-1-antitrypsin	Q03174	Fructan beta-fructosidase (EC 3.2.1.80)
P01009	Alpha-1-antitrypsin	P49331	Glucosyltransferase-S
P04114	Apolipoprotein B-100	Q03174	Fructan beta-fructosidase (EC 3.2.1.80)
P04114	Apolipoprotein B-100	P49331	Glucosyltransferase-S (GTF-S) (EC 2.4.1.5)
P04114	Apolipoprotein B-100 (Apo B-100)	P58099	C5a peptidase (EC 3.4.21.110)
P10645	Chromogranin-A	Q03174	Fructan beta-fructosidase (EC 3.2.1.80)
P10645	Chromogranin-A	Q97QP7	Immunoglobulin A1 protease (IgA1 protease) (EC 3.4.24.13)
P10645	Chromogranin-A	Q9F2Q3	Enolase 1 (EC 4.2.1.11)
P13671	Complement component C6	Q03174	Fructan beta-fructosidase (EC 3.2.1.80)
Q99102	Mucin-4	Q03174	Fructan beta-fructosidase (EC 3.2.1.80)
P05164	Myeloperoxidase (MPO) (EC 1.11.2.2)	Q03174	Fructan beta-fructosidase (EC 3.2.1.80)
P05164	Myeloperoxidase	P49331	Glucosyltransferase-S

	(MPO) (EC 1.11.2.2)		(GTF-S) (EC 2.4.1.5)
P05164	Myeloperoxidase (MPO) (EC 1.11.2.2)	P58099	C5a peptidase (EC 3.4.21.110)
Q09666	Neuroblast differentiation-associated protein AHNAK	Q03174	Fructan beta-fructosidase (EC 3.2.1.80)
Q09666	Neuroblast differentiation-associated protein AHNAK	P49331	Glucosyltransferase-S (GTF-S) (EC 2.4.1.5)
Q09666	Neuroblast differentiation-associated protein AHNAK	P58099	C5a peptidase (EC 3.4.21.110)
P00558	Phosphoglycerate kinase 1 (EC 2.7.2.3)	Q03174	Fructan beta-fructosidase (EC 3.2.1.80)
Q5TCI8	Prelamin-A/C	Q03174	Fructan beta-fructosidase (EC 3.2.1.80)
P67936	Tropomyosin alpha-4 chain	Q9F2Q3	Enolase 1 (EC 4.2.1.11)

Nas interações apresentadas, várias são as proteínas, nomeadamente de origem humana, que intervêm em processos biológicos do sistema imunitário, que constituem um dos grandes grupos de processos afetados em pacientes portadores de DM, tal como referido na introdução.

No que diz respeito à DMT1, e como se pode verificar, apenas uma proteína humana foi selecionada, de acordo com os critérios apresentados. A interleucina-1 beta (P01584) é uma proteína que intervém ao nível da resposta inflamatória, identificada como um pirógeno endógeno, sendo a sua produção aumentada em macrófagos ativados. Apresenta como funções a estimulação

da proliferação de timócitos, ao induzir a libertação de interleucina-2 (IL-2), a maturação e proliferação de linfócitos B, e a atividade do fator de crescimento dos fibroblastos. Estimula também a libertação de prostaglandinas e colagenase das células sinoviais. É também importante referir que é uma proteína secretada pelas células, encontrando-se disponível em localizações extracelulares, para interação com outras proteínas (50).

Com esta proteína humana interage a proteína microbiana aminometiltransferase (P64222). Esta é sintetizada por *Salmonella typhimurium*, uma bactéria patogénica gram-negativa, encontrada principalmente ao nível do lúmen intestinal. Uma das funções da aminometiltransferase, que é um componente do *glycine cleavage system termed T-protein*, passa por catalizar de forma reversível a degradação do grupo aminometil da glicina ligado ao cofator lipoato da proteína-H, resultando na produção de amónia e 5,10-metilenetetrahydrofolato, na presença de tetrahydrofolato. Assim sendo, participa no sistema de clivagem da glicina, catalizando a degradação deste aminoácido (51, 52).

A interleucina-1 beta apresenta glicina em domínios da sua estrutura que, por assumirem uma posição mais superficial, se encontram disponíveis para receberem modificações, na interação com outras proteínas. Sendo estes domínios funcionais para a proteína em causa, é possível que a aminometiltransferase, ao interagir com a interleucina-1 beta, provoque a clivagem dos aminoácidos glicina pertencentes aos domínios funcionais, comprometendo desta forma toda a atuação desta proteína.

No que diz respeito à DMT2, a proteína humana mieloperoxidase (P05164) trata-se de uma enzima da família das peroxidases que faz parte do sistema do sistema dos leucócitos polimorfonucleares (PMNs), sendo mais abundantemente expressa em granulócitos de neutrófilos. É uma proteína lisossomal armazenada ao nível de grânulos azurofílicos dos neutrófilos(53). É responsável pela atividade microbicida contra um amplo espectro de organismos, ao produzir ácido hipoclorídrico (HOCl), a partir de peróxido de hidrogénio (H₂O₂) e do anião cloro (Cl⁻), aquando o *burst* oxidativo dos neutrófilos. Além disso, oxida a tirosina em radical tirosil, usando o peróxido de hidrogénio como agente oxidante. Tanto o ácido hopoclorídrico como o radical

tirosil são citotóxicos, sendo utilizados pelos neutrófilos contra bactérias e outros agentes patogénicos (54).

Esta proteína interage com a proteína microbiana C5a peptidase (P58099). Esta trata-se de um fator de virulência de *S. pyogenes*, que cliva especificamente a quimiocina C5a na ligação '68-Lys-|-Asp-69', junto ao seu terminal C, destruindo a sua capacidade como quimiocina (55), sendo que, por via deste mecanismo, a ação desta proteína já se encontra descrita como impeditiva da resposta a infeções por parte do hospedeiro (56).

A proteína mieloperoxidase, como já foi referido, tem uma localização lisossomal, sendo que tal torna a probabilidade da interação ocorrer entre dois organismos bastante baixa. No entanto, existem bastantes relatos da capacidade da bactéria *S. pyogenes* em invadir as células epiteliais do hospedeiro humano (57). Assim sendo, existe a possibilidade da bactéria ser internalizada e neutralizar esta proteína humana de defesa.

Explanadas estas duas interações com potenciais consequências ao nível da resposta imunitária em pacientes diabéticos, importa referir que as restantes interações são apresentadas como hipóteses a considerar em estudos futuros.

5 Conclusão

A patologia diabética é uma das doenças sistémicas crónicas com maior prevalência nos países desenvolvidos. Não tendo sido possível, ainda, desenvolver uma cura para tal patologia, importa desenvolver métodos de diagnóstico precoce da mesma, permitindo atuar na prevenção das complicações a ela associadas.

No presente trabalho, realizou-se um tratamento bioinformático da informação de proteómica disponível, até ao momento, no OralCard, e apresentada pelo algoritmo Orallnt em termos de PPIs interespecíficas.

A metodologia descrita permitiu chegar a um total de 6 interações para DMT1 e a 24 interações para DMT2, entre proteínas com relevância no quadro da fisiopatologia de ambas as doenças.

De entre estas interações, destacam-se as interação, em DMT1, entre a proteína interleucina-1 beta humana e a aminometriltransferase da bactéria *Salmonella typhimurium*, e em DMT2 entre a proteína humana mieloperoxidase e a proteína C5a peroxidase da bactéria *S. pyogenes*.

É de salientar que o algoritmo Orallnt apresenta como limitação o facto de construir os pares de PPIs com base na informação importada da ferramenta OralCard, sendo que esta disponibiliza uma quantidade limitada de informação de proteómica, restringida aos artigos revistos. Desta forma, e uma vez que o próprio algoritmo tem apenas como base para a construção dos pares de interações a estrutura molecular das proteínas importadas e os seus domínios funcionais, os pares de interações carecem de uma fundamentação mais fisiológica na sua produção.

Assim sendo, tanto as duas interações detalhadas em termos funcionais, como as restantes apresentadas, são apresentadas como hipóteses para validação em estudos futuros, conducentes a uma compreensão da fisiopatologia da Diabetes Mellitus mais completa.

O resultado da confirmação destas interações poderá auxiliar no desenvolvimento de métodos terapêuticos *target-directed*, intervindo no sentido

da prevenção da ocorrência de interações que possam ter implicações negativas no desenvolvimento das complicações provocadas pela DM.

6. Bibliografía

1. Baynes J. D, M. H. . Bioquímica Médica: Manole; 2000. 260-6 p.
2. American Diabetes A. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes care.* 2013;36 Suppl 1:74.
3. Silbernagl S. LF. Fisiopatología - Texto e Atlas. 1st ed: Artmed; 2008. 286-92 p.
4. American Diabetes A. Standards of medical care in diabetes--2012. *Diabetes care.* 2012;35 Suppl 1:63.
5. Carranza F. A. NMG, Takei H. H. . Carranza's Clinical Periodontology: W. B. Saunders Company; 2002. 185-8 p.
6. Benhalima K, Wilmot E, Khunti K, Gray L, Lawrence I, Davies M. Type 2 diabetes in younger adults: clinical characteristics, diabetes-related complications and management of risk factors. *Primary care diabetes.* 2011;5(1):57-62.
7. Nowicka P, Santoro N, Liu H, Lartaud D, Shaw M, Goldberg R, et al. Utility of hemoglobin A(1c) for diagnosing prediabetes and diabetes in obese children and adolescents. *Diabetes care.* 2011;34(6):1306-11.
8. Madonna R, De Caterina R. Cellular and molecular mechanisms of vascular injury in diabetes—part I: pathways of vascular disease in diabetes. *Vascular pharmacology.* 2011;54(3):68-74.
9. Rasche A, Al-Hasani H, Herwig R. Meta-analysis approach identifies candidate genes and associated molecular networks for type-2 diabetes mellitus. *BMC genomics.* 2008;9(1):310.
10. MALBON C. Insulin signalling: putting the G-in protein-protein interactions. *Biochem J.* 2004;380:e11-e2.
11. Tuller T, Atar S, Ruppin E, Gurevich M, Achiron A. Common and specific signatures of gene expression and protein–protein interactions in autoimmune diseases. *Genes and immunity.* 2013;14(2):67-82.
12. Negrato C, Tarzia O. Buccal alterations in diabetes mellitus. *Diabetology & metabolic syndrome.* 2010;2:3.
13. Bajaj S, Prasad S, Gupta A, Singh V. Oral manifestations in type-2 diabetes and related complications. *Indian journal of endocrinology and metabolism.* 2012;16(5):777-9.
14. Soell M, Hassan M, Miliauskaite A, Haïkel Y, Selimovic D. The oral cavity of elderly patients in diabetes. *Diabetes & metabolism.* 2007;33 Suppl 1:8.
15. Vernillo A. Dental considerations for the treatment of patients with diabetes mellitus. *Journal of the American Dental Association (1939).* 2003;134 Spec No.
16. Sandberg G, Sundberg H, Fjellstrom C, Wikblad K. Type 2 diabetes and oral health: a comparison between diabetic and non-diabetic subjects. *Diabetes research and clinical practice.* 2000;50(1):27-34.
17. Grushka M, Epstein J, Gorsky M. Burning mouth syndrome. *American family physician.* 2002;65(4):615-20.
18. Bartholomew G, Rodu B, Bell D. Oral candidiasis in patients with diabetes mellitus: a thorough analysis. *Diabetes care.* 1987;10(5):607-12.

19. Tekeli A, Dolapci I, Emral R, Cesur S. Candida carriage and Candida dubliniensis in oropharyngeal samples of type-1 diabetes mellitus patients. *Mycoses*. 2004;47(7):315-8.
20. Jordá LM, Donat FJS, Moreno D, Mijares AH. Estudio clínico sobre la patología bucodentaria em el paciente diabético tipo I. *Med Oral*. 2002;7(4):298-302.
21. Miralles L, Silvestre F, Hernández-Mijares A, Bautista D, Llambes F, Grau D. Dental caries in type 1 diabetics: influence of systemic factors of the disease upon the development of dental caries. *Medicina oral, patología oral y cirugía bucal*. 2006;11(3):60.
22. Zarco M, Vess T, Ginsburg G. The oral microbiome in health and disease and the potential impact on personalized dental medicine. *Oral diseases*. 2012;18(2):109-20.
23. Vollaard E, Clasener H. Colonization resistance. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 1994;38(3):409-14.
24. Avila M, Ojcius D, Yilmaz O. The oral microbiota: living with a permanent guest. *DNA and cell biology*. 2009;28(8):405-11.
25. Wade W. The oral microbiome in health and disease. *Pharmacological research : the official journal of the Italian Pharmacological Society*. 2013;69(1):137-43.
26. Dewhirst F, Chen T, Izard J, Paster B, Tanner A, Yu W-H, et al. The human oral microbiome. *Journal of bacteriology*. 2010;192(19):5002-17.
27. van Baarlen P, Kleerebezem M, Wells J. Omics approaches to study host-microbiota interactions. *Current opinion in microbiology*. 2013;16(3):270-7.
28. Methé B, Lasa I. Microbiology in the 'omics era: from the study of single cells to communities and beyond. *Current opinion in microbiology*. 2013;16(5):602-4.
29. Kandpal R, Saviola B, Felton J. The era of 'omics unlimited. *BioTechniques*. 2009;46(5):351.
30. Singh O, Nagaraj N. Transcriptomics, proteomics and interactomics: unique approaches to track the insights of bioremediation. *Briefings in functional genomics & proteomics*. 2006;4(4):355-62.
31. Arnold R, Boonen K, Sun M, Kim P. Computational analysis of interactomes: current and future perspectives for bioinformatics approaches to model the host-pathogen interaction space. *Methods (San Diego, Calif)*. 2012;57(4):508-18.
32. Navratil V, de Chasse B, Combe C, Lotteau V. When the human viral infectome and disease networks collide: towards a systems biology platform for the aetiology of human diseases. *BMC systems biology*. 2011;5:13.
33. Casadevall A, Pirofski L-a. Host-Pathogen Interactions: Basic Concepts of Microbial Commensalism, Colonization, Infection, and Disease. *Infection and Immunity*. 2000;68.
34. Zhang W, Li F, Nie L. Integrating multiple 'omics' analysis for microbial biology: application and methodologies. *Microbiology (Reading, England)*. 2010;156(Pt 2):287-301.
35. Arrais J, Rosa N, Melo J, Coelho E, Amaral D, Correia M, et al. OralCard: a bioinformatic tool for the study of oral proteome. *Archives of oral biology*. 2013;58(7):762-72.
36. Nuno Rosa JA, Edgar Coelho, Maria Correia, Marlene Barros, José Oliveira. *Oralint -Interactome for the Human oral cavity*. 2013.

37. McCarthy F, Gresham C, Buza T, Chouvarine P, Pillai L, Kumar R, et al. AgBase: supporting functional modeling in agricultural organisms. *Nucleic acids research*. 2011;39(Database issue):506.
38. Consortium U. The universal protein resource (UniProt). *Nucleic acids research*. 2008;36(suppl 1):D190-D5.
39. Shannon P, Markiel A, Ozier O, Baliga NS, Wang JT, Ramage D, et al. Cytoscape: a software environment for integrated models of biomolecular interaction networks. *Genome research*. 2003;13(11):2498-504.
40. Casarin R, Barbagallo A, Meulman T, Santos V, Sallum E, Nociti F, et al. Subgingival biodiversity in subjects with uncontrolled type-2 diabetes and chronic periodontitis. *Journal of periodontal research*. 2013;48(1):30-6.
41. Fouad A, Barry J, Caimano M, Clawson M, Zhu Q, Carver R, et al. PCR-based identification of bacteria associated with endodontic infections. *Journal of clinical microbiology*. 2002;40(9):3223-31.
42. Heggendorn F, Gonçalves L, Dias E, Silva Junior A, Galvão M, Lutterbach M. Detection of sulphate-reducing bacteria in human saliva. *Acta odontologica Scandinavica*. 2013;71(6):1458-63.
43. Lalla E, Kaplan S, Chang S-mJ, Roth G, Celenti R, Hinckley K, et al. Periodontal infection profiles in type 1 diabetes. *Journal of clinical periodontology*. 2006;33(12):855-62.
44. Lotfi-Kamran M, Jafari A, Falah-Tafti A, Tavakoli E, Falahzadeh M. Candida Colonization on the Denture of Diabetic and Non-diabetic Patients. *Dental research journal*. 2009;6(1):23-7.
45. Ojima M, Takeda M, Yoshioka H, Nomura M, Tanaka N, Kato T, et al. Relationship of periodontal bacterium genotypic variations with periodontitis in type 2 diabetic patients. *Diabetes care*. 2005;28(2):433-4.
46. Robert A, Rass M, Al-Zoman K, Al-Sohail A, Alsuwyed A, Ciancio S, et al. Determinants of periodontopathogens in microbiological monitoring of diabetic patients with periodontitis. *Saudi medical journal*. 2010;31(9):1044-8.
47. Yuan K, Chang C, Hsu P, Sun H, Tseng C, Wang J. Detection of putative periodontal pathogens in non-insulin-dependent diabetes mellitus and non-diabetes mellitus by polymerase chain reaction. *Journal of periodontal research*. 2001;36(1):18-24.
48. Moreira P. Os Microrganismos Orais e o Oraloma da Diabetes Melitos Tipo 2: Universidade Católica Portuguesa; 2013.
49. Brás V. O Oraloma da Diabetes Melitos Tipo 1 vs Diabetes Melitos Tipo 2 - Um Estudo Comparativo: Universidade Católica Portuguesa; 2013.
50. Zsebo K, Wypych J, Yuschenkoff V, Lu H, Hunt P, Dukes P, et al. Effects of hematopoietin-1 and interleukin 1 activities on early hematopoietic cells of the bone marrow. *Blood*. 1988;71(4):962-8.
51. McClelland M, Sanderson KE, Spieth J, Clifton SW, Latreille P, Courtney L, et al. Complete genome sequence of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium LT2. *Nature*. 2001;413(6858):852-6.
52. Lee HH, Ahn HJ, Ha JY, Suh SW. Crystal Structure of T-protein of the Glycine Cleavage System COFACTOR BINDING, INSIGHTS INTO H-PROTEIN RECOGNITION, AND MOLECULAR BASIS FOR UNDERSTANDING NONKETOTIC HYPERGLYCEMIA. *Journal of Biological Chemistry*. 2004;279(48):50514-23.

53. Klebanoff SJ. Myeloperoxidase: friend and foe. *Journal of leukocyte biology*. 2005;77(5):598-625.
54. Heinecke JW, Li W, Francis GA, Goldstein JA. Tyrosyl radical generated by myeloperoxidase catalyzes the oxidative cross-linking of proteins. *Journal of Clinical Investigation*. 1993;91(6):2866.
55. Sumby P, Porcella SF, Madrigal AG, Barbian KD, Virtaneva K, Ricklefs SM, et al. Evolutionary origin and emergence of a highly successful clone of serotype M1 group A *Streptococcus* involved multiple horizontal gene transfer events. *Journal of Infectious Diseases*. 2005;192(5):771-82.
56. Ferretti JJ, McShan WM, Ajdic D, Savic DJ, Savic G, Lyon K, et al. Complete genome sequence of an M1 strain of *Streptococcus pyogenes*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2001;98(8):4658-63.
57. Sagar V, Bergmann R, Nerlich A, McMillan DJ, Nitsche-Schmitz DP, Fulde M, et al. Differences in virulence repertoire and cell invasive potential of Group A *Streptococcus* emm 1-2 in comparison to emm 1 genotype. *International Journal of Medical Microbiology*. 2014.

7 Anexos

Tabela 1. Tabela resultante da anotação manual dos microrganismos alterados em DM, a partir da bibliografia.

Este anexo encontra-se em formato digital (CD-R anexado).

NCBI Taxon ID	Organism Name	Domain	All Body Subsites	Health	Disease (OMIM ID or Diseases Database)	Disease (MeSHID)	Type of Diabetes	Regulation	Age group	Gender	Social Habits*	Exclusion Criteria	Methods of Sampling**	Methods of Analysis***	Type of Study	Citation (NCBI ID)	Obs
714	A. actinomycetemcomitans	Bacteria	periodontal pockets ≥ 5 mm	x	170650 and 125853	68003924 and 68055119	2	-1,25	31-68	—	Non smokers	Exclusion	DNA was ex	PCR with sp	Microbiology	21529777	
837	Porphyromonas gingivalis	Bacteria	periodontal pockets ≥ 5 mm	x	170650 and 125853	68003924 and 68055119	2	1,00	31-68	—	Non smokers	Exclusion	DNA was ex	PCR with sp	Microbiology	21529777	
28112	Tannerella forsythia	Bacteria	periodontal pockets ≥ 5 mm	x	170650 and 125853	68003924 and 68055119	2	-2,00	31-68	—	Non smokers	Exclusion	DNA was ex	PCR with sp	Microbiology	21529777	
5476	Candida albicans	Eukaryota	periodontal pockets ≥ 5 mm	x	170650 and 125853	68003924 and 68055119	2	2,25	31-68	—	Non smokers	Exclusion	DNA was ex	PCR with sp	Microbiology	21529777	
42374	Candida dubliniensis	Eukaryota	periodontal pockets ≥ 5 mm	x	170650 and 125853	68003924 and 68055119	2	2,75	31-68	—	Non smokers	Exclusion	DNA was ex	PCR with sp	Microbiology	21529777	
5478	Candida glabrata	Eukaryota	periodontal pockets ≥ 5 mm		170650 and 125853	68003924 and 68055119	2	0,00	31-68	—	Non smokers	Exclusion	DNA was ex	PCR with sp	Microbiology	21529777	
5482	Candida tropicalis	Eukaryota	periodontal pockets ≥ 5 mm		170650 and 125853	68003924 and 68055119	2	0,00	31-68	—	Non smokers	Exclusion	DNA was ex	PCR with sp	Microbiology	21529777	
714	A. actinomycetemcomitans	Bacteria	furcation sites (molars)	x	170650 and 125853	68003924 and 68055119	2	-1,25	31-68	—	Non smokers	Exclusion	DNA was ex	PCR with sp	Microbiology	21529777	
837	Porphyromonas gingivalis	Bacteria	furcation sites (molars)	x	170650 and 125853	68003924 and 68055119	2	1,25	31-68	—	Non smokers	Exclusion	DNA was ex	PCR with sp	Microbiology	21529777	
28112	Tannerella forsythia	Bacteria	furcation sites (molars)	x	170650 and 125853	68003924 and 68055119	2	-2,50	31-68	—	Non smokers	Exclusion	DNA was ex	PCR with sp	Microbiology	21529777	
5476	Candida albicans	Eukaryota	furcation sites (molars)	x	170650 and 125853	68003924 and 68055119	2	2,50	31-68	—	Non smokers	Exclusion	DNA was ex	PCR with sp	Microbiology	21529777	
42374	Candida dubliniensis	Eukaryota	furcation sites (molars)	x	170650 and 125853	68003924 and 68055119	2	4,95	31-68	—	Non smokers	Exclusion	DNA was ex	PCR with sp	Microbiology	21529777	
5478	Candida glabrata	Eukaryota	furcation sites (molars)		170650 and 125853	68003924 and 68055119	2	0	31-68	—	Non smokers	Exclusion	DNA was ex	PCR with sp	Microbiology	21529777	
5482	Candida tropicalis	Eukaryota	furcation sites (molars)		170650 and 125853	68003924 and 68055119	2	0	31-68	—	Non smokers	Exclusion	DNA was ex	PCR with sp	Microbiology	21529777	
5476	Candida Albicans	Eukaryota	periodontal pockets ≥ 5 mm	x	170650 and 125853	68003924 and 68055119	2		31-68	—		Exclusion	After clinic	PCR (Polym	Microbiology	21671830	
1309	Mutans streptococci >20 CFU/1.5 cm2	Bacteria	whole saliva		125853	68003924	2	1,29	53-56	MF	Smokers and Non-smokers	All partici	All subjects	Oral rinse t	Microbiology	17488443	
	Lactobacilli >10 CFU/1.5 cm2		whole saliva		125853	68003924	2	1,63	53-56	MF	Smokers and Non-smokers	All partici	All subjects	Oral rinse t	Microbiology	17488443	
	Yeasts <11 CFU/ml of oral rinse	Eukaryota	whole saliva		125853	68003924	2	1,19	53-56	MF	Smokers and Non-smokers	All partici	All subjects	Oral rinse t	Microbiology	17488443	
837	Porphyromonas gingivalis	Bacteria	supragingival plaque	x	125853	68003924	2	1,09	53-56	MF	Smokers and Non-smokers	All partici	A toothbru	Supragingiv	Microbiology	17488443	In supragi
28112	Tannerella forsythia	Bacteria	supragingival plaque	x	125853	68003924	2	-1,01	53-56	MF	Smokers and Non-smokers	All partici	A toothbru	Supragingiv	Microbiology	17488443	In supragi
714	Actinobacilus actinomycetemcomitans	Bacteria	supragingival plaque	x	125853	68003924	2	-1,02	53-56	MF	Smokers and Non-smokers	All partici	A toothbru	Supragingiv	Microbiology	17488443	In supragi
851	Fusobacterium nucleatum	Bacteria	supragingival plaque	x	125853	68003924	2	1,07	53-56	MF	Smokers and Non-smokers	All partici	A toothbru	Supragingiv	Microbiology	17488443	In supragi
158	Treponema denticola	Bacteria	supragingival plaque	x	125853	68003924	2	1,37	53-56	MF	Smokers and Non-smokers	All partici	A toothbru	Supragingiv	Microbiology	17488443	In supragi
203	Campylobacter rectus	Bacteria	supragingival plaque	x	125853	68003924	2	1,91	53-56	MF	Smokers and Non-smokers	All partici	A toothbru	Supragingiv	Microbiology	17488443	In supragi
135083	Seimonas noxia	Bacteria	supragingival plaque	x	125853	68003924	2	1,01	53-56	MF	Smokers and Non-smokers	All partici	A toothbru	Supragingiv	Microbiology	17488443	In supragi
29466	Veillonella parvula	Bacteria	supragingival plaque	x	125853	68003924	2	1,17	53-56	MF	Smokers and Non-smokers	All partici	A toothbru	Supragingiv	Microbiology	17488443	In supragi
1305	Streptococcus sanguinis	Bacteria	supragingival plaque	x	125853	68003924	2	1,13	53-56	MF	Smokers and Non-smokers	All partici	A toothbru	Supragingiv	Microbiology	17488443	In supragi
28131	Prevotella intermedia	Bacteria	supragingival plaque	x	125853	68003924	2	1,58	53-56	MF	Smokers and Non-smokers	All partici	A toothbru	Supragingiv	Microbiology	17488443	In supragi
28133	Prevotella nigrescens	Bacteria	supragingival plaque	x	125853	68003924	2	1,79	53-56	MF	Smokers and Non-smokers	All partici	A toothbru	Supragingiv	Microbiology	17488443	In supragi
539	Eikenella corrodens	Bacteria	supragingival plaque	x	125853	68003924	2	-1,16	53-56	MF	Smokers and Non-smokers	All partici	A toothbru	Supragingiv	Microbiology	17488443	In supragi
1338	Streptococcus intermedius	Bacteria	supragingival plaque	x	125853	68003924	2	1,23	53-56	MF	Smokers and Non-smokers	All partici	A toothbru	Supragingiv	Microbiology	17488443	In supragi
1303	Streptococcus oralis	Bacteria	supragingival plaque	x	125853	68003924	2	1,52	53-56	MF	Smokers and Non-smokers	All partici	A toothbru	Supragingiv	Microbiology	17488443	In supragi
1309	Streptococcus mutans	Bacteria	supragingival plaque	x	125853	68003924	2	1,16	53-56	MF	Smokers and Non-smokers	All partici	A toothbru	Supragingiv	Microbiology	17488443	In supragi
1655	Actinomyces naeslundii	Bacteria	supragingival plaque	x	125853	68003924	2	1,05	53-56	MF	Smokers and Non-smokers	All partici	A toothbru	Supragingiv	Microbiology	17488443	In supragi
1579	Lactobacillus acidophilus	Bacteria	supragingival plaque	x	125853	68003924	2	2,33	53-56	MF	Smokers and Non-smokers	All partici	A toothbru	Supragingiv	Microbiology	17488443	In supragi
837	Porphyromonas gingivalis	Bacteria	Subgingival plaque	x	125853	68003924	2	1,88	53-56	MF	Smokers and Non-smokers	All partici	A tooth site	Supragingiv	Microbiology	17488443	
28112	Tannerella forsythia	Bacteria	Subgingival plaque	x	125853	68003924	2	1,50	53-56	MF	Smokers and Non-smokers	All partici	A tooth site	Supragingiv	Microbiology	17488443	
714	Actinobacilus actinomycetemcomitans	Bacteria	Subgingival plaque	x	125853	68003924	2	1,07	53-56	MF	Smokers and Non-smokers	All partici	A tooth site	Supragingiv	Microbiology	17488443	
851	Fusobacterium nucleatum	Bacteria	Subgingival plaque	x	125853	68003924	2	1,42	53-56	MF	Smokers and Non-smokers	All partici	A tooth site	Supragingiv	Microbiology	17488443	
158	Treponema denticola	Bacteria	Subgingival plaque	x	125853	68003924	2	1,47	53-56	MF	Smokers and Non-smokers	All partici	A tooth site	Supragingiv	Microbiology	17488443	
203	Campylobacter rectus	Bacteria	Subgingival plaque	x	125853	68003924	2	1,28	53-56	MF	Smokers and Non-smokers	All partici	A tooth site	Supragingiv	Microbiology	17488443	
135083	Seimonas noxia	Bacteria	Subgingival plaque	x	125853	68003924	2	1,38	53-56	MF	Smokers and Non-smokers	All partici	A tooth site	Supragingiv	Microbiology	17488443	
29466	Veillonella parvula	Bacteria	Subgingival plaque	x	125853	68003924	2	1,79	53-56	MF	Smokers and Non-smokers	All partici	A tooth site	Supragingiv	Microbiology	17488443	
1305	Streptococcus sanguinis	Bacteria	Subgingival plaque	x	125853	68003924	2	-1,27	53-56	MF	Smokers and Non-smokers	All partici	A tooth site	Supragingiv	Microbiology	17488443	
28131	Prevotella intermedia	Bacteria	Subgingival plaque	x	125853	68003924	2	1,43	53-56	MF	Smokers and Non-smokers	All partici	A tooth site	Supragingiv	Microbiology	17488443	
28133	Prevotella nigrescens	Bacteria	Subgingival plaque	x	125853	68003924	2	1,29	53-56	MF	Smokers and Non-smokers	All partici	A tooth site	Supragingiv	Microbiology	17488443	
539	Eikenella corrodens	Bacteria	Subgingival plaque	x	125853	68003924	2	1,33	53-56	MF	Smokers and Non-smokers	All partici	A tooth site	Supragingiv	Microbiology	17488443	
1338	Streptococcus intermedius	Bacteria	Subgingival plaque	x	125853	68003924	2	-2,00	53-56	MF	Smokers and Non-smokers	All partici	A tooth site	Supragingiv	Microbiology	17488443	
1303	Streptococcus oralis	Bacteria	Subgingival plaque	x	125853	68003924	2	1,25	53-56	MF	Smokers and Non-smokers	All partici	A tooth site	Supragingiv	Microbiology	17488443	
1309	Streptococcus mutans	Bacteria	Subgingival plaque	x	125853	68003924	2	2,55	53-56	MF	Smokers and Non-smokers	All partici	A tooth site	Supragingiv	Microbiology	17488443	
1655	Actinomyces naeslundii	Bacteria	Subgingival plaque	x	125853	68003924	2	1,44	53-56	MF	Smokers and Non-smokers	All partici	A tooth site	Supragingiv	Microbiology	17488443	
1579	Lactobacillus acidophilus	Bacteria	Subgingival plaque	x	125853	68003924	2	7,00	53-56	MF	Smokers and Non-smokers	All partici	A tooth site	Supragingiv	Microbiology	17488443	
5475	Candida (carriage)	Eukaryota	whole saliva	x	125853	68003924	2	umentada		MF		Individual	Saliva sam	Culture (Th	Microbiology	16190127	re meter g
5476	Candida albicans	Eukaryota	whole saliva	x	125853	68003924	2	Clinical anc	45-64	MF	Smokers and Non-smokers	"Smokers" Participant	PCR	Microbiology	19435501	Forum cog	

837	Porphyromonas gingivalis		Subgingival plaque	x	170650 and 125853	68003924 and 68055119	2	11,31	30-60	MF	Non-smokers	Patients si	Patients we	PCR	Microbiology	21891897	
851	Fusobacterium nucleatum		Subgingival plaque	x	170650 and 125853	68003924 and 68055119	2	15,90	30-60	MF	Non-smokers	Patients si	Patients we	PCR	Microbiology	21891897	
28112	Tannerella forsythia		Subgingival plaque	x	170650 and 125853	68003924 and 68055119	2	3,29	30-60	MF	Non-smokers	Patients si	Patients we	PCR	Microbiology	21891897	
837	Porphyromonas gingivalis		Tongue sample	x	170650 and 125853	68003924 and 68055119	2	3,93	30-60	MF	Non-smokers	Patients si	Patients we	PCR	Microbiology	21891897	
851	Fusobacterium nucleatum		Tongue sample	x	170650 and 125853	68003924 and 68055119	2	-1,20	30-60	MF	Non-smokers	Patients si	Patients we	PCR	Microbiology	21891897	
28112	Tannerella forsythia		Tongue sample	x	170650 and 125853	68003924 and 68055119	2	8,53	30-60	MF	Non-smokers	Patients si	Patients we	PCR	Microbiology	21891897	
5475	Candida	Eukaryota	unstimulated salivary glucose	x	125853	68003924	2	1,35	40-60	—			Patients we	Saliva samp	Microbiology	20416536	
5475	Candida	Eukaryota	stimulated salivary glucose	x	125853	68003924	2	1,50	40-61	—			Patients we	Saliva samp	Microbiology	20416536	
5476	C. albicans	Eukaryota	stimulated saliva	x	125853	68003924	2	1,13	37-78	MF			For both g	Stimulated PCR	Microbiology	21183157	
5476	Candida stellatoidea	Eukaryota	stimulated saliva	x	125853	68003924	2	-2,03	37-78	MF			For both g	Stimulated PCR	Microbiology	21183157	aparece c
4952	Candida lipolytica	Eukaryota	stimulated saliva	x	125853	68003924	2	5,00	37-78	MF			For both g	Stimulated PCR	Microbiology	21183157	anamorfi
5478	Candida glabrata	Eukaryota	stimulated saliva	x	125853	68003924	2	-3,55	37-78	MF			For both g	Stimulated PCR	Microbiology	21183157	
4909	Candida krusei	Eukaryota	stimulated saliva	x	125853	68003924	2	0,00	37-78	MF			For both g	Stimulated PCR	Microbiology	21183157	
5480	Candida parapsilosis	Eukaryota	stimulated saliva	x	125853	68003924	2	6,00	37-78	MF			For both g	Stimulated PCR	Microbiology	21183157	
5482	Candida tropicalis	Eukaryota	stimulated saliva	x	125853	68003924	2	0,00	37-78	MF			For both g	Stimulated PCR	Microbiology	21183157	
4911	Candida kefyr	Eukaryota	stimulated saliva	x	125853	68003924	2	0,00	37-78	MF			For both g	Stimulated PCR	Microbiology	21183157	anamorfi
5475	Candida spp. (species that could not be	Eukaryota	stimulated saliva	x	125853	68003924	2	-2,30	37-78	MF			For both g	Stimulated PCR	Microbiology	21183157	
5476	Candida albicans oral carriage	Eukaryota	stimulated saliva	x	125853	68003924	2	1,52	54-74	MF			The contr	A modified All yeast is	Microbiology	17893179	
714	Aggregatibacter actinomycetemcomita	Bacteria	healthy subgingival pockets	x	125853	68003924	2	umentada	33-72	MF	Smokers and Non-smokers	Examinati	Individual	Four plaque	Microbiology	18380556	As was no
837	Porphyromonas gingivalis	Bacteria	healthy subgingival pockets	x	125853	68003924	2	umentada	33-72	MF	Smokers and Non-smokers	Examinati	Individual	Four plaque	Microbiology	18380556	As was no
205	Campylobacter spp.		healthy subgingival pockets	x	125853	68003924	2	diferença n	33-72	MF	Smokers and Non-smokers	Examinati	Individual	Four plaque	Microbiology	18380556	As was no
29466	Veillonella parvula	Bacteria	healthy subgingival pockets	x	125853	68003924	2	diferença n	33-72	MF	Smokers and Non-smokers	Examinati	Individual	Four plaque	Microbiology	18380556	As was no
29317	Actinomyces spp.		healthy subgingival pockets	x	125853	68003924	2	diminuida	33-72	MF	Smokers and Non-smokers	Examinati	Individual	Four plaque	Microbiology	18380556	As was no
28133	Prevotella nigrescens	Bacteria	healthy subgingival pockets	x	125853	68003924	2	inexistente	33-72	MF	Smokers and Non-smokers	Examinati	Individual	Four plaque	Microbiology	18380556	As was no
135083	Seimonas noxia	Bacteria	healthy subgingival pockets	x	125853	68003924	2	umentada	33-72	MF	Smokers and Non-smokers	Examinati	Individual	Four plaque	Microbiology	18380556	As was no
28131	Prevotella intermedia	Bacteria	healthy subgingival pockets	x	125853	68003924	2	diferença n	33-72	MF	Smokers and Non-smokers	Examinati	Individual	Four plaque	Microbiology	18380556	As was no
1306	Streptococcus spp.		healthy subgingival pockets	x	125853	68003924	2	diminuida	33-72	MF	Smokers and Non-smokers	Examinati	Individual	Four plaque	Microbiology	18380556	As was no
44737	Capnocytophaga spp.		healthy subgingival pockets	x	125853	68003924	2	diminuida	33-72	MF	Smokers and Non-smokers	Examinati	Individual	Four plaque	Microbiology	18380556	As was no
68766	Fusobacterium spp.		healthy subgingival pockets	x	125853	68003924	2	diminuida	33-72	MF	Smokers and Non-smokers	Examinati	Individual	Four plaque	Microbiology	18380556	As was no
158	Treponema denticola	Bacteria	healthy subgingival pockets	x	125853	68003924	2	s e valores b	33-72	MF	Smokers and Non-smokers	Examinati	Individual	Four plaque	Microbiology	18380556	As was no
28112	Tannerella forsythia	Bacteria	healthy subgingival pockets	x	125853	68003924	2	inexistente	33-72	MF	Smokers and Non-smokers	Examinati	Individual	Four plaque	Microbiology	18380556	As was no
142586	Eubacterium spp.		healthy subgingival pockets	x	125853	68003924	2	umentada	33-72	MF	Smokers and Non-smokers	Examinati	Individual	Four plaque	Microbiology	18380556	As was no
714	Aggregatibacter actinomycetemcomita	Bacteria	perio subgingival pockets	x	170650 and 125859	68003924 and 68055119	2	umentada	33-72	MF	Smokers and Non-smokers	Examinati	Individual	Four plaque	Microbiology	18380556	As was no
837	Porphyromonas gingivalis	Bacteria	perio subgingival pockets	x	170650 and 125859	68003924 and 68055119	2	umentada	33-72	MF	Smokers and Non-smokers	Examinati	Individual	Four plaque	Microbiology	18380556	As was no
205	Campylobacter spp.		perio subgingival pockets	x	170650 and 125859	68003924 and 68055119	2	umentada	33-72	MF	Smokers and Non-smokers	Examinati	Individual	Four plaque	Microbiology	18380556	As was no
29466	Veillonella parvula	Bacteria	perio subgingival pockets	x	170650 and 125859	68003924 and 68055119	2	diferença n	33-72	MF	Smokers and Non-smokers	Examinati	Individual	Four plaque	Microbiology	18380556	As was no
29317	Actinomyces spp.		perio subgingival pockets	x	170650 and 125859	68003924 and 68055119	2	diminuida	33-72	MF	Smokers and Non-smokers	Examinati	Individual	Four plaque	Microbiology	18380556	As was no
28133	Prevotella nigrescens	Bacteria	perio subgingival pockets	x	170650 and 125859	68003924 and 68055119	2	umentada	33-72	MF	Smokers and Non-smokers	Examinati	Individual	Four plaque	Microbiology	18380556	As was no
135083	Seimonas noxia	Bacteria	perio subgingival pockets	x	170650 and 125859	68003924 and 68055119	2	umentada	33-72	MF	Smokers and Non-smokers	Examinati	Individual	Four plaque	Microbiology	18380556	As was no
28131	Prevotella intermedia	Bacteria	perio subgingival pockets	x	170650 and 125859	68003924 and 68055119	2	umentada	33-72	MF	Smokers and Non-smokers	Examinati	Individual	Four plaque	Microbiology	18380556	As was no
1306	Streptococcus spp.		perio subgingival pockets	x	170650 and 125859	68003924 and 68055119	2	diminuida	33-72	MF	Smokers and Non-smokers	Examinati	Individual	Four plaque	Microbiology	18380556	As was no
44737	Capnocytophaga spp.		perio subgingival pockets	x	170650 and 125859	68003924 and 68055119	2	diminuida	33-72	MF	Smokers and Non-smokers	Examinati	Individual	Four plaque	Microbiology	18380556	As was no
68766	Fusobacterium spp.		perio subgingival pockets	x	170650 and 125859	68003924 and 68055119	2	diminuida	33-72	MF	Smokers and Non-smokers	Examinati	Individual	Four plaque	Microbiology	18380556	As was no
158	Treponema denticola	Bacteria	perio subgingival pockets	x	170650 and 125859	68003924 and 68055119	2	umentada	33-72	MF	Smokers and Non-smokers	Examinati	Individual	Four plaque	Microbiology	18380556	As was no
28112	Tannerella forsythia	Bacteria	perio subgingival pockets	x	170650 and 125859	68003924 and 68055119	2	umentada	33-72	MF	Smokers and Non-smokers	Examinati	Individual	Four plaque	Microbiology	18380556	As was no
142586	Eubacterium spp.		perio subgingival pockets	x	170650 and 125859	68003924 and 68055119	2	umentada	33-72	MF	Smokers and Non-smokers	Examinati	Individual	Four plaque	Microbiology	18380556	As was no
837	Porphyromonas gingivalis	Bacteria	Subgingival plaque	x	170650 and 125859	68003924 and 68055119	2	no artigo e:	41-80	MF		The criteri	Subgingival PCR	Microbiology	18582336	P. gingival	
714	Aggregatibacter actinomycetemcomita	Bacteria	Subgingival plaque	x	170650 and 125859	68003924 and 68055119	2	no artigo e:	41-80	MF		The criteri	Subgingival PCR	Microbiology	18582336		
28112	Tannerella forstensis	Bacteria	Subgingival plaque	x	170650 and 125859	68003924 and 68055119	2	no artigo e:	41-80	MF		The criteri	Subgingival PCR	Microbiology	18582336		
158	Treponema denticola	Bacteria	Subgingival plaque	x	170650 and 125859	68003924 and 68055119	2	no artigo e:	41-80	MF		The criteri	Subgingival PCR	Microbiology	18582336		
28131	Prevotella intermedia	Bacteria	Subgingival plaque	x	170650 and 125859	68003924 and 68055119	2	no artigo e:	41-80	MF		The criteri	Subgingival PCR	Microbiology	18582336		
5475	Candida	Eukaryota	Palate and mucosa	x	170650 and 125859	68003924 and 68055119	2	2	52-76	MF		The patien	Samples we	Culture	Microbiology	20638146	
42374	Candida dubliniensis	Eukaryota	saliva	x	170650 and 125859	68003924 and 68055119	2		35-73	MF	Non-smokers	Subjects w	Microbial si	Culture	Microbiology	21044102	Among su
5476	Candida albicans	Eukaryota	saliva	x	170650 and 125859	68003924 and 68055119	2		35-73	MF	Non-smokers	Subjects w	Microbial si	Culture	Microbiology	21044102	In this pil
5478	Candida glabrata	Eukaryota	saliva	x	170650 and 125859	68003924 and 68055119	2		35-73	MF	Non-smokers	Subjects w	Microbial si	Culture	Microbiology	21044102	
5480	Candida parapsilosis	Eukaryota	saliva	x	170650 and 125859	68003924 and 68055119	2		35-73	MF	Non-smokers	Subjects w	Microbial si	Culture	Microbiology	21044102	
42374	Candida dubliniensis	Eukaryota	periodontally healthy sites	x	170650 and 125859	68003924 and 68055119	2		35-73	MF	Non-smokers	Subjects w	Microbial si	Culture	Microbiology	21044102	

5476	Candida albicans	Eukaryota	periodontally healthy sites	x	170650 and 125859	68003924 and 68055119	2		35-73	MF	Non-smokers	Subjects w	Microbial s	Culture	Microbiology	21044102	
5478	Candida glabrata	Eukaryota	periodontally healthy sites	x	170650 and 125859	68003924 and 68055119	2		35-73	MF	Non-smokers	Subjects w	Microbial s	Culture	Microbiology	21044102	
5480	Candida parapsilosis	Eukaryota	periodontally healthy sites	x	170650 and 125859	68003924 and 68055119	2		35-73	MF	Non-smokers	Subjects w	Microbial s	Culture	Microbiology	21044102	
42374	Candida dubliniensis	Eukaryota	periodontally diseased sites	x	170650 and 125859	68003924 and 68055119	2		35-73	MF	Non-smokers	Subjects w	Microbial s	Culture	Microbiology	21044102	
5476	Candida albicans	Eukaryota	periodontally diseased sites	x	170650 and 125859	68003924 and 68055119	2		35-73	MF	Non-smokers	Subjects w	Microbial s	Culture	Microbiology	21044102	
5478	Candida glabrata	Eukaryota	periodontally diseased sites	x	170650 and 125859	68003924 and 68055119	2		35-73	MF	Non-smokers	Subjects w	Microbial s	Culture	Microbiology	21044102	
5480	Candida parapsilosis	Eukaryota	periodontally diseased sites	x	170650 and 125859	68003924 and 68055119	2		35-73	MF	Non-smokers	Subjects w	Microbial s	Culture	Microbiology	21044102	
714	A. actinomycetemcomitans	Bacteria	subgingival pockets	x	125853	68003924	2	-1,09387	49-70	MF		Each comp	Bacterial sa	PCR	Microbiology	16579698	
28131	Prevotella intermedia	Bacteria	subgingival pockets	x	125853	68003924	2	-1,09387	49-70	MF		Each comp	Bacterial sa	PCR	Microbiology	16579698	
5475	Candida	Eukaryota	whole saliva	x	125853	68003924	2	These resu	35-88	MF		The inclus	All the test	The numbe	Microbiology	19772183	
714	A. actinomycetemcomitans	Bacteria	subgingival plaque	x	260950 and 222100	68003922 and 68055113	1	diferença n	18-70	MF	Smokers and Non-smokers	Patients \	Subgingival	The sampl	Microbiology	17092237	
837	Porphyromonas gingivalis	Bacteria	subgingival plaque	x	260950 and 222100	68003922 and 68055113	1	diferença n	18-70	MF	Smokers and Non-smokers	Patients \	Subgingival	The sampl	Microbiology	17092237	
28112	Tannerella forsythia	Bacteria	subgingival plaque	x	260950 and 222100	68003922 and 68055113	1	diferença n	18-70	MF	Smokers and Non-smokers	Patients \	Subgingival	The sampl	Microbiology	17092237	
158	Treponema denticola	Bacteria	subgingival plaque	x	260950 and 222100	68003922 and 68055113	1	diferença n	18-70	MF	Smokers and Non-smokers	Patients \	Subgingival	The sampl	Microbiology	17092237	
851	Fusobacterium nucleatum	Bacteria	subgingival plaque	x	260950 and 222100	68003922 and 68055113	1	diferença n	18-70	MF	Smokers and Non-smokers	Patients \	Subgingival	The sampl	Microbiology	17092237	
28131	Prevotella intermedia	Bacteria	subgingival plaque	x	260950 and 222100	68003922 and 68055113	1	diferença n	18-70	MF	Smokers and Non-smokers	Patients \	Subgingival	The sampl	Microbiology	17092237	
203	Campylobacter rectus	Bacteria	subgingival plaque	x	260950 and 222100	68003922 and 68055113	1	diferença n	18-70	MF	Smokers and Non-smokers	Patients \	Subgingival	The sampl	Microbiology	17092237	
33033	Parvimonas micra	Bacteria	subgingival plaque	x	260950 and 222100	68003922 and 68055113	1	diferença n	18-70	MF	Smokers and Non-smokers	Patients \	Subgingival	The sampl	Microbiology	17092237	
1161902	Eubacterium nodatum	Bacteria	subgingival plaque	x	260950 and 222100	68003922 and 68055113	1	umentada	18-70	MF	Smokers and Non-smokers	Patients \	Subgingival	The sampl	Microbiology	17092237	
539	Eikenella corrodens	Bacteria	subgingival plaque	x	260950 and 222100	68003922 and 68055113	1	diferença n	18-70	MF	Smokers and Non-smokers	Patients \	Subgingival	The sampl	Microbiology	17092237	
29466	Veillonella parvula	Bacteria	subgingival plaque	x	260950 and 222100	68003922 and 68055113	1	diferença n	18-70	MF	Smokers and Non-smokers	Patients \	Subgingival	The sampl	Microbiology	17092237	
1655	Actinomyces naeslundii	Bacteria	subgingival plaque	x	260950 and 222100	68003922 and 68055113	1	diferença n	18-70	MF	Smokers and Non-smokers	Patients \	Subgingival	The sampl	Microbiology	17092237	
28112	Tannerella forsythia	Bacteria	subgingival plaque	x	260950 and 222100	68003922 and 68055113	1 and 2	avalia em s	21-80	MF		The exclus	After the cl	Bacterial an	Microbiology	20844819	
714	A. actinomycetemcomitans	Bacteria	subgingival plaque	x	260950 and 222100	68003922 and 68055113	1 and 2	avalia em s	21-80	MF		The exclus	After the cl	Bacterial an	Microbiology	20844819	
837	Porphyromonas gingivalis	Bacteria	subgingival plaque	x	260950 and 222100	68003922 and 68055113	1 and 2	avalia em s	21-80	MF		The exclus	After the cl	Bacterial an	Microbiology	20844819	
28131	Prevotella intermedia	Bacteria	subgingival plaque	x	260950 and 222100	68003922 and 68055113	1 and 2	avalia em s	21-80	MF		The exclus	After the cl	Bacterial an	Microbiology	20844819	
28131	Prevotella intermedia	Bacteria	root canals with necrotic pulp				1 and 2	não avalia		MF		All patient	The technic	Previously	Microbiology	12202557	
28133	Prevotella nigrescens	Bacteria	root canals with necrotic pulp				1 and 2	não avalia		MF		All patient	The technic	Previously	Microbiology	12202557	
28124	Porphyromonas endodontalis	Bacteria	root canals with necrotic pulp				1 and 2	não avalia		MF		All patient	The technic	Previously	Microbiology	12202557	
837	Porphyromonas gingivalis	Bacteria	root canals with necrotic pulp				1 and 2	não avalia		MF		All patient	The technic	Previously	Microbiology	12202557	
33033	Parvimonas micra	Bacteria	root canals with necrotic pulp				1 and 2	não avalia		MF		All patient	The technic	Previously	Microbiology	12202557	
1306	Streptococcus spp.	Bacteria	root canals with necrotic pulp				1 and 2	não avalia		MF		All patient	The technic	Previously	Microbiology	12202557	
851	Fusobacterium nucleatum	Bacteria	root canals with necrotic pulp				1 and 2	não avalia		MF		All patient	The technic	Previously	Microbiology	12202557	
28112	Tannerella forsythia	Bacteria	root canals with necrotic pulp				1 and 2	não avalia		MF		All patient	The technic	Previously	Microbiology	12202557	
35783	Enterococcus spp.	Bacteria	root canals with necrotic pulp				1 and 2	não avalia		MF		All patient	The technic	Previously	Microbiology	12202557	
158	Treponema denticola	Bacteria	root canals with necrotic pulp				1 and 2	não avalia		MF		All patient	The technic	Previously	Microbiology	12202557	
714	A. actinomycetemcomitans	Bacteria	subgingival plaque	x	125853 and 260950	68003924 and 68055113	2	1,1754386	45-70	MF		A total of :	Two plaque	Five microc	Microbiology	11246700	
837	Porphyromonas gingivalis	Bacteria	subgingival plaque	x	125853 and 260950	68003924 and 68055113	2	1,3875803	45-70	MF		A total of :	Two plaque	Five microc	Microbiology	11246700	
539	Eikenella corrodens	Bacteria	subgingival plaque	x	125853 and 260950	68003924 and 68055113	2	1,086758	45-70	MF		A total of :	Two plaque	Five microc	Microbiology	11246700	
158	Treponema denticola	Bacteria	subgingival plaque	x	125853 and 260950	68003924 and 68055113	2	2,0389105	45-70	MF		A total of :	Two plaque	Five microc	Microbiology	11246700	
5476	Candida albicans	Eukaryota	subgingival plaque	x	125853 and 260950	68003924 and 68055113	2	1,9447514	45-70	MF		A total of :	Two plaque	Five microc	Microbiology	11246700	
28124	Porphyromonas gingivalis	Bacteria	subgingival plaque		125853 and 260950	68003924 and 68055113	2	avalia em s	39-67	MF		We select	Bacterial sa	Bacterial sa	Microbiology	15677809	
714	A. actinomycetemcomitans	Bacteria	subgingival plaque		125853 and 260950	68003924 and 68055113	2	avalia em s	39-67	MF		We select	Bacterial sa	Bacterial sa	Microbiology	15677809	
28112	Tannerella forsythia	Bacteria	subgingival plaque		125853 and 260950	68003924 and 68055113	2	avalia em s	39-67	MF		We select	Bacterial sa	Bacterial sa	Microbiology	15677809	
158	Treponema denticola	Bacteria	subgingival plaque		125853 and 260950	68003924 and 68055113	2	avalia em s	39-67	MF		We select	Bacterial sa	Bacterial sa	Microbiology	15677809	
28131	Prevotella intermedia	Bacteria	subgingival plaque		125853 and 260950	68003924 and 68055113	2	avalia em s	39-67	MF		We select	Bacterial sa	Bacterial sa	Microbiology	15677809	
44742	Desulfovibrio fairfieldensis	Bacteria	saliva	x	222100 and 125853	68003924 and 68003922	1 and 2	ça não signi	8-83	MF	Smokers and Non-smokers	The study	Saliva sam	After 28 da	Microbiology	23638810	
876	Desulfovibrio desulfuricans	Bacteria	saliva	x	222100 and 125853	68003924 and 68003922	1 and 2	ça não signi	8-83	MF	Smokers and Non-smokers	The study	Saliva sam	After 28 da	Microbiology	23638810	
54291	Raoultella ornithinolytica	Bacteria	saliva	x	222100 and 125853	68003924 and 68003922	1 and 2	ça não signi	8-83	MF	Smokers and Non-smokers	The study	Saliva sam	After 28 da	Microbiology	23638810	
143361	Filifactor alocis	Bacteria	subgingival biofilm	x	125853 and 260950	68003924 and 68055113	2	-2,6	40-63	MF		Patients w	After a full-	Clinical par	Microbiology	22762355	
28124	Porphyromonas gingivalis	Bacteria	subgingival biofilm	x	125853 and 260950	68003924 and 68055113	2	-4,5	40-63	MF		Patients w	After a full-	Clinical par	Microbiology	22762355	
51123	Eubacterium saphenum	Bacteria	subgingival biofilm	x	125853 and 260950	68003924 and 68055113	2	0	40-63	MF		Patients w	After a full-	Clinical par	Microbiology	22762355	
28037	Streptococcus mitis	Bacteria	subgingival biofilm	x	125853 and 260950	68003924 and 68055113	2	0	40-63	MF		Patients w	After a full-	Clinical par	Microbiology	22762355	
	Synergistetes [G-3] sp. Oral Taxon 360	Bacteria	subgingival biofilm	x	125853 and 260950	68003924 and 68055113	2	0	40-63	MF		Patients w	After a full-	Clinical par	Microbiology	22762355	
	Peptostreptococcaceae [X1][G-4] sp. O	Bacteria	subgingival biofilm	x	125853 and 260950	68003924 and 68055113	2	-1,5	40-63	MF		Patients w	After a full-	Clinical par	Microbiology	22762355	
28124	Porphyromonas endodontalis	Bacteria	subgingival biofilm	x	125853 and 260950	68003924 and 68055113	2	1	40-63	MF		Patients w	After a full-	Clinical par	Microbiology	22762355	
851	Fusobacterium nucleatum	Bacteria	subgingival biofilm	x	125853 and 260950	68003924 and 68055113	2	2	40-63	MF		Patients w	After a full-	Clinical par	Microbiology	22762355	
29466	Veillonella parvula	Bacteria	subgingival biofilm	x	125853 and 260950	68003924 and 68055113	2	0	40-63	MF		Patients w	After a full-	Clinical par	Microbiology	22762355	
9778	Veillonella dispar	Bacteria	subgingival biofilm	x	125853 and 260950	68003924 and 68055113	2	0	40-63	MF		Patients w	After a full-	Clinical par	Microbiology	22762355	
539	Eikenella corrodens	Bacteria	subgingival biofilm	x	125853 and 260950	68003924 and 68055113	2	0	40-63	MF		Patients w	After a full-	Clinical par	Microbiology	22762355	
2047	Rothia dentocariosa	Bacteria	subgingival biofilm	x	125853 and 260950	68003924 and 68055113	2	7	40-63	MF		Patients w	After a full-	Clinical par	Microbiology	22762355	
28112	Tannerella forsythia	Bacteria	subgingival biofilm	x	125853 and 260950	68003924 and 68055113	2	-2,25	40-63	MF		Patients w	After a full-	Clinical par	Microbiology	22762355	
1017	Capnocytophaga gingivalis	Bacteria	subgingival biofilm	x	125853 and 260950	68003924 and 68055113	2	3	40-63	MF		Patients w	After a full-	Clinical par	Microbiology	22762355	
33033	Parvimonas micra	Bacteria	subgingival biofilm	x	125853 and 260950	68003924 and 68055113	2	1,5	40-63	MF		Patients w	After a full-	Clinical par	Microbiology	22762355	
5476	Candida albicans	Eukaryota	palatal impression surface of ma	x	222100 and 125853	68003924 and 68003922	1 and 2	1,1176471	62.8 ± 11.1	MF		All patient	Samples w	All isolated	Microbiology	21528026	
5482	Candida tropicalis	Eukaryota	palatal impression surface of ma	x	222100 and 125853	68003924 and 68003922	1 and 2	1,2857143	62.8 ± 11.1	MF		All patient	Samples w	All isolated	Microbiology	21528026	

28124	<i>Porphyromonas endodontalis</i>	Bacteria	subgingival biofilm	x	125853 and 260950	68003924 and 68055113	2	1	40-63	MF		Patients w	After a full-	Clinical par.	Microbiology	22762355
851	<i>Fusobacterium nucleatum</i>	Bacteria	subgingival biofilm	x	125853 and 260950	68003924 and 68055113	2	2	40-63	MF		Patients w	After a full-	Clinical par.	Microbiology	22762355
29466	<i>Veillonella parvula</i>	Bacteria	subgingival biofilm	x	125853 and 260950	68003924 and 68055113	2	0	40-63	MF		Patients w	After a full-	Clinical par.	Microbiology	22762355
39778	<i>Veillonella dispar</i>	Bacteria	subgingival biofilm	x	125853 and 260950	68003924 and 68055113	2	0	40-63	MF		Patients w	After a full-	Clinical par.	Microbiology	22762355
539	<i>Eikenella corrodens</i>	Bacteria	subgingival biofilm	x	125853 and 260950	68003924 and 68055113	2	0	40-63	MF		Patients w	After a full-	Clinical par.	Microbiology	22762355
2047	<i>Rothia dentocariosa</i>	Bacteria	subgingival biofilm	x	125853 and 260950	68003924 and 68055113	2	7	40-63	MF		Patients w	After a full-	Clinical par.	Microbiology	22762355
28112	<i>Tannerella forsythia</i>	Bacteria	subgingival biofilm	x	125853 and 260950	68003924 and 68055113	2	-2,25	40-63	MF		Patients w	After a full-	Clinical par.	Microbiology	22762355
1017	<i>Capnocytophaga gingivalis</i>	Bacteria	subgingival biofilm	x	125853 and 260950	68003924 and 68055113	2	3	40-63	MF		Patients w	After a full-	Clinical par.	Microbiology	22762355
33033	<i>Parvimonas micra</i>	Bacteria	subgingival biofilm	x	125853 and 260950	68003924 and 68055113	2	1,5	40-63	MF		Patients w	After a full-	Clinical par.	Microbiology	22762355
5476	<i>Candida albicans</i>	Eukaryota	palatal impression surface of ma	x	222100 and 125853	68003924 and 68003922	1 and 2	1,1176471	62.8 ± 11.1	MF		All patient	Samples w	All isolated	Microbiology	21528026
5482	<i>Candida tropicalis</i>	Eukaryota	palatal impression surface of ma	x	222100 and 125853	68003924 and 68003922	1 and 2	1,2857143	62.8 ± 11.1	MF		All patient	Samples w	All isolated	Microbiology	21528026
5478	<i>Candida glabrata</i>	Eukaryota	palatal impression surface of ma	x	222100 and 125853	68003924 and 68003922	1 and 2	1,3333333	62.8 ± 11.1	MF		All patient	Samples w	All isolated	Microbiology	21528026
4909	<i>Candida krusei</i>	Eukaryota	palatal impression surface of ma	x	222100 and 125853	68003924 and 68003922	1 and 2	1,6666667	62.8 ± 11.1	MF		All patient	Samples w	All isolated	Microbiology	21528026
4929	<i>Candida guilliermondii</i>	Eukaryota	palatal impression surface of ma	x	222100 and 125853	68003924 and 68003922	1 and 2	1	62.8 ± 11.1	MF		All patient	Samples w	All isolated	Microbiology	21528026

Tabela 2. Tabela funcional das proteínas humanas alteradas em DMT1 e DMT2.

Este ficheiro encontra-se em formato digital (CD-R anexado).

Tabela 3. Tabela de interações final, em DMT1.

Este ficheiro encontra-se em formato digital (CD-R em anexo).

P1				P2			
UniProt ID	Name	Organism	Regulation	Function	UniProt ID	Name	Organism
P01584	Interleukin-1 beta (IL-1 beta)	Homo sap	5,00		C9R667	Formate acetyltransferase	Aggregatibacter acti
P01584	Interleukin-1 beta (IL-1 beta)	Homo sap	5,00		C7NCD2	Formate acetyltransferase (Leptotrichia buccalis
P01584	Interleukin-1 beta (IL-1 beta)	Homo sap	5,00		P64222	Aminomethyltransferase (E	Salmonella typhimu aminome
P01584	Interleukin-1 beta (IL-1 beta)	Homo sap	5,00		Q56063	2-methylcitrate synthase (E	Salmonella typhimu propanoa
P01584	Interleukin-1 beta (IL-1 beta)	Homo sap	5,00		Q7CQU1	Pyruvate formate lyase I, in	Salmonella typhimu carbohydr
P01584	Interleukin-1 beta (IL-1 beta)	Homo sap	5,00		I6L8Y7	Putative trehalose-6-phosp	Streptococcus muta

Tabela 4. Tabela de interações final, em DMT2.

Este ficheiro encontra-se em formato digital (CD-R em anexo).

PH				PB			
UniProt	Name	Organism	Regulation	Function	UniProt	Name	Organism
P61160	Actin-rela	Homo sap	3,40		Q9F2Q3	Enolase 1 (EC 4.2.1.11) (2-phospho-D-glycerate	Streptom
O60218	Aldo-ketc	Homo sap	-3,30		Q03174	Fructan beta-fructosidase (EC 3.2.1.80) (Exo-bet	Streptoco
O60218	Aldo-ketc	Homo sap	-3,30		P49331	Glucosyltransferase-S (GTF-S) (EC 2.4.1.5) (Dextr	Streptoco
O60218	Aldo-ketc	Homo sap	-3,30		Q9F2Q3	Enolase 1 (EC 4.2.1.11) (2-phospho-D-glycerate	Streptom
P01009	Alpha-1-a	Homo sap	3,20		Q03174	Fructan beta-fructosidase (EC 3.2.1.80) (Exo-bet	Streptoco
P01009	Alpha-1-a	Homo sap	3,20		P49331	Glucosyltransferase-S (GTF-S) (EC 2.4.1.5) (Dextr	Streptoco
P04114	Apolipop	Homo sap	-4,10		Q03174	Fructan beta-fructosidase (EC 3.2.1.80) (Exo-bet	Streptoco
P04114	Apolipop	Homo sap	-4,10		P49331	Glucosyltransferase-S (GTF-S) (EC 2.4.1.5) (Dextr	Streptoco
P04114	Apolipop	Homo sap	-4,10		P58099	C5a peptidase (EC 3.4.21.110) (SCP)	Streptoco
P10645	Chromogr	Homo sap	9,50		Q03174	Fructan beta-fructosidase (EC 3.2.1.80) (Exo-bet	Streptoco
P10645	Chromogr	Homo sap	9,50		Q97QP7	Immunoglobulin A1 protease (IgA1 protease) (E	Streptoco
P10645	Chromogr	Homo sap	9,50		Q9F2Q3	Enolase 1 (EC 4.2.1.11) (2-phospho-D-glycerate	Streptom
P13671	Complem	Homo sap	4,80		Q03174	Fructan beta-fructosidase (EC 3.2.1.80) (Exo-bet	Streptoco
Q99102	Mucin-4 (Homo sap	13,17		Q03174	Fructan beta-fructosidase (EC 3.2.1.80) (Exo-bet	Streptoco
P05164	Myeloper	Homo sap	3,86		Q03174	Fructan beta-fructosidase (EC 3.2.1.80) (Exo-bet	Streptoco
P05164	Myeloper	Homo sap	3,86		P49331	Glucosyltransferase-S (GTF-S) (EC 2.4.1.5) (Dextr	Streptoco
P05164	Myeloper	Homo sap	3,86		P58099	C5a peptidase (EC 3.4.21.110) (SCP)	Streptoco
Q09666	Neurobla	Homo sap	3,10		Q03174	Fructan beta-fructosidase (EC 3.2.1.80) (Exo-bet	Streptoco
Q09666	Neurobla	Homo sap	3,10		P49331	Glucosyltransferase-S (GTF-S) (EC 2.4.1.5) (Dextr	Streptoco
Q09666	Neurobla	Homo sap	3,10		P58099	C5a peptidase (EC 3.4.21.110) (SCP)	Streptoco
P00558	Phosphog	Homo sap	-3,20		Q03174	Fructan beta-fructosidase (EC 3.2.1.80) (Exo-bet	Streptoco
Q5TCI8	Prelamin-	Homo sap	-3,30		Q03174	Fructan beta-fructosidase (EC 3.2.1.80) (Exo-bet	Streptoco
P67936	Tropomyo	Homo sap	-3,80		Q9F2Q3	Enolase 1 (EC 4.2.1.11) (2-phospho-D-glycerate	Streptom

NCBI Taxon ID	Organism Name	Domain	All Body Subsites
714	A. actinomycetemcomitans	Bacteria	periodontal pockets \geq 5 mm
837	Porphyromonas gingivalis	Bacteria	periodontal pockets \geq 5 mm
28112	Tannerella forsythia	Bacteria	periodontal pockets \geq 5 mm
5476	Candida albicans	Eukaryota	periodontal pockets \geq 5 mm
42374	Candida dubliniensis	Eukaryota	periodontal pockets \geq 5 mm
5478	Candida glabrata	Eukaryota	periodontal pockets \geq 5 mm
5482	Candida tropicalis	Eukaryota	periodontal pockets \geq 5 mm
714	A. actinomycetemcomitans	Bacteria	furcation sites (molars)
837	Porphyromonas gingivalis	Bacteria	furcation sites (molars)
28112	Tannerella forsythia	Bacteria	furcation sites (molars)
5476	Candida albicans	Eukaryota	furcation sites (molars)
42374	Candida dubliniensis	Eukaryota	furcation sites (molars)
5478	Candida glabrata	Eukaryota	furcation sites (molars)
5482	Candida tropicalis	Eukaryota	furcation sites (molars)
5476	Candida Albicans	Eukaryota	periodontal pockets \geq 5 mm
1309	Mutans streptococci >20 CFU/1.5 cm ²	Bacteria	whole saliva
	Lactobacilli >10 CFU/1.5 cm ²		whole saliva
	Yeasts \neq 1 CFU/ml of oral rinse	Eukaryota	whole saliva
837	Porphyromonas gingivalis	Bacteria	supragingival plaque
28112	Tannerella forsythia	Bacteria	supragingival plaque
714	Actinobacillus actinomycetemcomitans	Bacteria	supragingival plaque
851	Fusobacterium nucleatum	Bacteria	supragingival plaque
158	Treponema denticola	Bacteria	supragingival plaque
203	Campylobacter rectus	Bacteria	supragingival plaque
135083	Selemonas noxia	Bacteria	supragingival plaque
29466	Veillonella parvula	Bacteria	supragingival plaque
1305	Streptococcus sanguinis	Bacteria	supragingival plaque
28131	Prevotella intermedia	Bacteria	supragingival plaque
28133	Prevotella nigrescens	Bacteria	supragingival plaque
539	Eikenella corrodens	Bacteria	supragingival plaque
1338	Streptococcus intermedius	Bacteria	supragingival plaque
1303	Streptococcus oralis	Bacteria	supragingival plaque
1309	Streptococcus mutans	Bacteria	supragingival plaque
1655	Actinomyces naeslundii	Bacteria	supragingival plaque
1579	Lactobacillus acidophilus	Bacteria	supragingival plaque
837	Porphyromonas gingivalis	Bacteria	Subgingival plaque
28112	Tannerella forsythia	Bacteria	Subgingival plaque
714	Actinobacillus actinomycetemcomitans	Bacteria	Subgingival plaque
851	Fusobacterium nucleatum	Bacteria	Subgingival plaque
158	Treponema denticola	Bacteria	Subgingival plaque
203	Campylobacter rectus	Bacteria	Subgingival plaque
135083	Selemonas noxia	Bacteria	Subgingival plaque
29466	Veillonella parvula	Bacteria	Subgingival plaque

1305	<i>Streptococcus sanguinis</i>	Bacteria	Subgingival plaque
28131	<i>Prevotella intermedia</i>	Bacteria	Subgingival plaque
28133	<i>Prevotella nigrescens</i>	Bacteria	Subgingival plaque
539	<i>Eikenella corrodens</i>	Bacteria	Subgingival plaque
1338	<i>Streptococcus intermedius</i>	Bacteria	Subgingival plaque
1303	<i>Streptococcus oralis</i>	Bacteria	Subgingival plaque
1309	<i>Streptococcus mutans</i>	Bacteria	Subgingival plaque
1655	<i>Actinomyces naeslundii</i>	Bacteria	Subgingival plaque
1579	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	Bacteria	Subgingival plaque
5475	<i>Candida</i> (carriage)	Eukaryota	whole saliva
5476	<i>Candida albicans</i>	Eukaryota	whole saliva
837	<i>Porphyromonas gingivalis</i>		Subgingival plaque
851	<i>Fusobacterium nucleatum</i>		Subgingival plaque
28112	<i>Tannerella forsythia</i>		Subgingival plaque
837	<i>Porphyromonas gingivalis</i>		Tongue sample
851	<i>Fusobacterium nucleatum</i>		Tongue sample
28112	<i>Tannerella forsythia</i>		Tongue sample
5475	<i>Candida</i>	Eukaryota	unstimulated salivary glucose
5475	<i>Candida</i>	Eukaryota	stimulated salivary glucose
5476	<i>C. albicans</i>	Eukaryota	stimulated saliva
5476	<i>Candida stellatoidea</i>	Eukaryota	stimulated saliva
4952	<i>Candida lipolytica</i>	Eukaryota	stimulated saliva
5478	<i>Candida glabrata</i>	Eukaryota	stimulated saliva
4909	<i>Candida krusei</i>	Eukaryota	stimulated saliva
5480	<i>Candida parapsilosis</i>	Eukaryota	stimulated saliva
5482	<i>Candida tropicalis</i>	Eukaryota	stimulated saliva
4911	<i>Candida kefyr</i>	Eukaryota	stimulated saliva
5475	<i>Candida</i> spp. (species that could not be diff	Eukaryota	stimulated saliva
5476	<i>Candida albicans</i> oral carriage	Eukaryota	stimulated saliva
714	<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	Bacteria	healthy subgingival pockets
837	<i>Porphyromonas gingivalis</i>	Bacteria	healthy subgingival pockets
205	<i>Campylobacter</i> spp.		healthy subgingival pockets
29466	<i>Veillonella parvula</i>	Bacteria	healthy subgingival pockets
29317	<i>Actinomyces</i> spp.		healthy subgingival pockets
28133	<i>Prevotella nigrescens</i>	Bacteria	healthy subgingival pockets
135083	<i>Seimonas noxia</i>	Bacteria	healthy subgingival pockets
28131	<i>Prevotella intermedia</i>	Bacteria	healthy subgingival pockets
1306	<i>Streptococcus</i> spp.		healthy subgingival pockets
44737	<i>Capnocytophaga</i> spp.		healthy subgingival pockets
68766	<i>Fusobacterium</i> spp.		healthy subgingival pockets
158	<i>Treponema denticola</i>	Bacteria	healthy subgingival pockets
28112	<i>Tannerella forsythia</i>	Bacteria	healthy subgingival pockets
142586	<i>Eubacterium</i> spp.		healthy subgingival pockets
714	<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	Bacteria	perio subgingival pockets
837	<i>Porphyromonas gingivalis</i>	Bacteria	perio subgingival pockets
205	<i>Campylobacter</i> spp.		perio subgingival pockets

29466	<i>Veillonella parvula</i>	Bacteria	perio subgingival pockets
29317	<i>Actinomyces</i> spp.		perio subgingival pockets
28133	<i>Prevotella nigrescens</i>	Bacteria	perio subgingival pockets
135083	<i>Seimonas noxia</i>	Bacteria	perio subgingival pockets
28131	<i>Prevotella intermedia</i>	Bacteria	perio subgingival pockets
1306	<i>Streptococcus</i> spp.		perio subgingival pockets
44737	<i>Capnocytophaga</i> spp.		perio subgingival pockets
68766	<i>Fusobacterium</i> spp.		perio subgingival pockets
158	<i>Treponema denticola</i>	Bacteria	perio subgingival pockets
28112	<i>Tannerella forsythia</i>	Bacteria	perio subgingival pockets
142586	<i>Eubacterium</i> spp.		perio subgingival pockets
837	<i>Porphyromonas gingivalis</i>	Bacteria	Subgingival plaque
714	<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	Bacteria	Subgingival plaque
28112	<i>Tannerella forsthensis</i>	Bacteria	Subgingival plaque
158	<i>Treponema denticola</i>	Bacteria	Subgingival plaque
28131	<i>Prevotella intermedia</i>	Bacteria	Subgingival plaque
5475	<i>Candida</i>	Eukaryota	Palate and mucosa
42374	<i>Candida dubliniensis</i>	Eukaryota	saliva
5476	<i>Candida albicans</i>	Eukaryota	saliva
5478	<i>Candida glabrata</i>	Eukaryota	saliva
5480	<i>Candida parapsilosis</i>	Eukaryota	saliva
42374	<i>Candida dubliniensis</i>	Eukaryota	periodontally healthy sites
5476	<i>Candida albicans</i>	Eukaryota	periodontally healthy sites
5478	<i>Candida glabrata</i>	Eukaryota	periodontally healthy sites
5480	<i>Candida parapsilosis</i>	Eukaryota	periodontally healthy sites
42374	<i>Candida dubliniensis</i>	Eukaryota	periodontally diseased sites
5476	<i>Candida albicans</i>	Eukaryota	periodontally diseased sites
5478	<i>Candida glabrata</i>	Eukaryota	periodontally diseased sites
5480	<i>Candida parapsilosis</i>	Eukaryota	periodontally diseased sites
714	<i>A. actinomycetemcomitans</i>	Bacteria	subgingival pockets
28131	<i>Prevotella intermedia</i>	Bacteria	subgingival pockets
5475	<i>Candida</i>	Eukaryota	whole saliva
714	<i>A. actinomycetemcomitans</i>	Bacteria	subgingival plaque
837	<i>Porphyromonas gingivalis</i>	Bacteria	subgingival plaque
28112	<i>Tannerella forsythia</i>	Bacteria	subgingival plaque
158	<i>Treponema denticola</i>	Bacteria	subgingival plaque
851	<i>Fusobacterium nucleatum</i>	Bacteria	subgingival plaque
28131	<i>Prevotella intermedia</i>	Bacteria	subgingival plaque
203	<i>Campylobacter rectus</i>	Bacteria	subgingival plaque
33033	<i>Parvimonas micra</i>	Bacteria	subgingival plaque
1161902	<i>Eubacterium nodatum</i>	Bacteria	subgingival plaque
539	<i>Eikenella corrodens</i>	Bacteria	subgingival plaque
29466	<i>Veillonella parvula</i>	Bacteria	subgingival plaque
1655	<i>Actinomyces naeslundii</i>	Bacteria	subgingival plaque
28112	<i>Tannerella forsythia</i>	Bacteria	subgingival plaque

714	<i>A. actinomycetemcomitans</i>	Bacteria	subgingival plaque
837	<i>Porphyromonas gingivalis</i>	Bacteria	subgingival plaque
28131	<i>Prevotella intermedia</i>	Bacteria	subgingival plaque
28131	<i>Prevotella intermedia</i>	Bacteria	root canals with necrotic pulp
28133	<i>Prevotella nigrescens</i>	Bacteria	root canals with necrotic pulp
28124	<i>Porphyromonas endodontalis</i>	Bacteria	root canals with necrotic pulp
837	<i>Porphyromonas gingivalis</i>	Bacteria	root canals with necrotic pulp
33033	<i>Parvimonas micra</i>	Bacteria	root canals with necrotic pulp
1306	<i>Streptococcus</i> spp.	Bacteria	root canals with necrotic pulp
851	<i>Fusobacterium nucleatum</i>	Bacteria	root canals with necrotic pulp
28112	<i>Tannerella forsythia</i>	Bacteria	root canals with necrotic pulp
35783	<i>Enterococcus</i> spp.	Bacteria	root canals with necrotic pulp
158	<i>Treponema denticola</i>	Bacteria	root canals with necrotic pulp
714	<i>A. actinomycetemcomitans</i>	Bacteria	subgingival plaque
837	<i>Porphyromonas gingivalis</i>	Bacteria	subgingival plaque
539	<i>Eikenella corrodens</i>	Bacteria	subgingival plaque
158	<i>Treponema denticola</i>	Bacteria	subgingival plaque
5476	<i>Candida albicans</i>	Eukaryota	subgingival plaque
28124	<i>Porphyromonas gingivalis</i>	Bacteria	subgingival plaque
714	<i>A. actinomycetemcomitans</i>	Bacteria	subgingival plaque
28112	<i>Tannerella forsythia</i>	Bacteria	subgingival plaque
158	<i>Treponema denticola</i>	Bacteria	subgingival plaque
28131	<i>Prevotella intermedia</i>	Bacteria	subgingival plaque
44742	<i>Desulfovibrio fairfieldensis</i>	Bacteria	saliva
876	<i>Desulfovibrio desulfuricans</i>	Bacteria	saliva
54291	<i>Raoultella ornithinolytica</i>	Bacteria	saliva
143361	<i>Filifactor alocis</i>	Bacteria	subgingival biofilm
28124	<i>Porphyromonas gingivalis</i>	Bacteria	subgingival biofilm
51123	<i>Eubacterium saphenum</i>	Bacteria	subgingival biofilm
28037	<i>Streptococcus mitis</i>	Bacteria	subgingival biofilm
	<i>Synergistetes [G-3] sp. Oral Taxon 360 Clo</i>	Bacteria	subgingival biofilm
	<i>Peptostreptococcaceae [XI][G-4] sp. Oral T</i>	Bacteria	subgingival biofilm
28124	<i>Porphyromonas endodontalis</i>	Bacteria	subgingival biofilm
851	<i>Fusobacterium nucleatum</i>	Bacteria	subgingival biofilm
29466	<i>Veillonella parvula</i>	Bacteria	subgingival biofilm
39778	<i>Veillonella dispar</i>	Bacteria	subgingival biofilm
539	<i>Eikenella corrodens</i>	Bacteria	subgingival biofilm
2047	<i>Rothia dentocariosa</i>	Bacteria	subgingival biofilm
28112	<i>Tannerella forsythia</i>	Bacteria	subgingival biofilm
1017	<i>Capnocytophaga gingivalis</i>	Bacteria	subgingival biofilm
33033	<i>Parvimonas micra</i>	Bacteria	subgingival biofilm
5476	<i>Candida albicans</i>	Eukaryota	palatal impression surface of maxilla
5482	<i>Candida tropicalis</i>	Eukaryota	palatal impression surface of maxilla
5478	<i>Candida glabrata</i>	Eukaryota	palatal impression surface of maxilla
4909	<i>Candida krusei</i>	Eukaryota	palatal impression surface of maxilla

4929

Candida guilliermondii

Eukaryota palatal impression surface of maxilla

Health	Disease (OMIM ID or Diseases Database)	Disease (MeSH ID)	Type of Diabetes	Regulation	Age group	
x	170650 and 125853	68003924 and 68055119	2	-1.25	31-68	
x	170650 and 125853	68003924 and 68055119	2	1.00	31-68	
x	170650 and 125853	68003924 and 68055119	2	-2.00	31-68	
x	170650 and 125853	68003924 and 68055119	2	2.25	31-68	
x	170650 and 125853	68003924 and 68055119	2	2.75	31-68	
	170650 and 125853	68003924 and 68055119	2	0.00	31-68	
	170650 and 125853	68003924 and 68055119	2	0.00	31-68	
x	170650 and 125853	68003924 and 68055119	2	-1.25	31-68	
x	170650 and 125853	68003924 and 68055119	2	1.25	31-68	
x	170650 and 125853	68003924 and 68055119	2	-2.50	31-68	
x	170650 and 125853	68003924 and 68055119	2	2.50	31-68	
x	170650 and 125853	68003924 and 68055119	2	4.95	31-68	
	170650 and 125853	68003924 and 68055119	2	0	31-68	
	170650 and 125853	68003924 and 68055119	2	0	31-68	
x	170650 and 125853	68003924 and 68055119	2		31-68	
		125853	68003924	2	1.29	53-56
		125853	68003924	2	1.63	53-56
		125853	68003924	2	1.19	53-56
x		125853	68003924	2	1.09	53-56
x		125853	68003924	2	-1.01	53-56
x		125853	68003924	2	-1.02	53-56
x		125853	68003924	2	1.07	53-56
x		125853	68003924	2	1.37	53-56
x		125853	68003924	2	1.91	53-56
x		125853	68003924	2	1.01	53-56
x		125853	68003924	2	1.17	53-56
x		125853	68003924	2	1.13	53-56
x		125853	68003924	2	1.58	53-56
x		125853	68003924	2	1.79	53-56
x		125853	68003924	2	-1.16	53-56
x		125853	68003924	2	1.23	53-56
x		125853	68003924	2	1.52	53-56
x		125853	68003924	2	1.16	53-56
x		125853	68003924	2	1.05	53-56
x		125853	68003924	2	2.33	53-56
x		125853	68003924	2	1.88	53-56
x		125853	68003924	2	1.50	53-56
x		125853	68003924	2	1.07	53-56
x		125853	68003924	2	1.42	53-56
x		125853	68003924	2	1.47	53-56
x		125853	68003924	2	1.28	53-56
x		125853	68003924	2	1.38	53-56
x		125853	68003924	2	1.79	53-56

x		125853	68003924	2	-1.27	53-56
x		125853	68003924	2	1.43	53-56
x		125853	68003924	2	1.29	53-56
x		125853	68003924	2	1.33	53-56
x		125853	68003924	2	-2.00	53-56
x		125853	68003924	2	1.25	53-56
x		125853	68003924	2	2.55	53-56
x		125853	68003924	2	1.44	53-56
x		125853	68003924	2	7.00	53-56
x		125853	68003924	2	augmentada	—
x		125853	68003924	2	Clinical and	45-64
x	170650 and 125853		68003924 and 68055119	2	11.31	30-60
x	170650 and 125853		68003924 and 68055119	2	15.90	30-60
x	170650 and 125853		68003924 and 68055119	2	3.29	30-60
x	170650 and 125853		68003924 and 68055119	2	3.93	30-60
x	170650 and 125853		68003924 and 68055119	2	-1.20	30-60
x	170650 and 125853		68003924 and 68055119	2	8.53	30-60
x		125853	68003924	2	1.35	40-60
x		125853	68003924	2	1.50	40-61
x		125853	68003924	2	1.13	37-78
x		125853	68003924	2	-2.03	37-78
x		125853	68003924	2	5.00	37-78
x		125853	68003924	2	-3.55	37-78
x		125853	68003924	2	0.00	37-78
x		125853	68003924	2	6.00	37-78
x		125853	68003924	2	0.00	37-78
x		125853	68003924	2	0.00	37-78
x		125853	68003924	2	-2.30	37-78
x		125853	68003924	2	1.52	54-74
x		125853	68003924	2	augmentada	33-72
x		125853	68003924	2	augmentada	33-72
x		125853	68003924	2	diferença mi	33-72
x		125853	68003924	2	diferença mi	33-72
x		125853	68003924	2	diminuida	33-72
x		125853	68003924	2	inexistente €	33-72
x		125853	68003924	2	augmentada	33-72
x		125853	68003924	2	diferença mi	33-72
x		125853	68003924	2	diminuida	33-72
x		125853	68003924	2	diminuida	33-72
x		125853	68003924	2	diminuida	33-72
x		125853	68003924	2	s e valores b	33-72
x		125853	68003924	2	inexistente €	33-72
x		125853	68003924	2	augmentada	33-72
x	170650 and 125859		68003924 and 68055119	2	augmentada	33-72
x	170650 and 125859		68003924 and 68055119	2	augmentada	33-72
x	170650 and 125859		68003924 and 68055119	2	augmentada	33-72

	260950 and 222100	68003922 and 68055113	1 and 2	avalia em sa	21-80
	260950 and 222100	68003922 and 68055113	1 and 2	avalia em sa	21-80
	260950 and 222100	68003922 and 68055113	1 and 2	avalia em sa	21-80
	necrose pulpar/periodontite a	D003790D003790D003790	1 and 2	não avalia ei	
			1 and 2	não avalia ei	
			1 and 2	não avalia ei	
			1 and 2	não avalia ei	
			1 and 2	não avalia ei	
			1 and 2	não avalia ei	
			1 and 2	não avalia ei	
			1 and 2	não avalia ei	
			1 and 2	não avalia ei	
			1 and 2	não avalia ei	
x	125853 and 260950	68003924 and 68055113	2	1.1754386	45-70
x	125853 and 260950	68003924 and 68055113	2	1.3875803	45-70
x	125853 and 260950	68003924 and 68055113	2	1.086758	45-70
x	125853 and 260950	68003924 and 68055113	2	2.0389105	45-70
x	125853 and 260950	68003924 and 68055113	2	1.9447514	45-70
	125853 and 260950	68003924 and 68055113	2	avalia em sa	39-67
	125853 and 260950	68003924 and 68055113	2	avalia em sa	39-67
	125853 and 260950	68003924 and 68055113	2	avalia em sa	39-67
	125853 and 260950	68003924 and 68055113	2	avalia em sa	39-67
	125853 and 260950	68003924 and 68055113	2	avalia em sa	39-67
x	222100 and 125853	68003924 and 68003922	1 and 2	ıça não signif	8-83
x	222100 and 125853	68003924 and 68003922	1 and 2	ıça não signif	8-83
x	222100 and 125853	68003924 and 68003922	1 and 2	ıça não signif	8-83
x	125853 and 260950	68003924 and 68055113	2	-2.6	40-63
x	125853 and 260950	68003924 and 68055113	2	-4.5	40-63
x	125853 and 260950	68003924 and 68055113	2	0	40-63
x	125853 and 260950	68003924 and 68055113	2	0	40-63
x	125853 and 260950	68003924 and 68055113	2	0	40-63
x	125853 and 260950	68003924 and 68055113	2	-1.5	40-63
x	125853 and 260950	68003924 and 68055113	2	1	40-63
x	125853 and 260950	68003924 and 68055113	2	2	40-63
x	125853 and 260950	68003924 and 68055113	2	0	40-63
x	125853 and 260950	68003924 and 68055113	2	0	40-63
x	125853 and 260950	68003924 and 68055113	2	0	40-63
x	125853 and 260950	68003924 and 68055113	2	7	40-63
x	125853 and 260950	68003924 and 68055113	2	-2.25	40-63
x	125853 and 260950	68003924 and 68055113	2	3	40-63
x	125853 and 260950	68003924 and 68055113	2	1.5	40-63
x	222100 and 125853	68003924 and 68003922	1 and 2	1.1176471	62.8 ± 11.2
x	222100 and 125853	68003924 and 68003922	1 and 2	1.2857143	62.8 ± 11.2
x	222100 and 125853	68003924 and 68003922	1 and 2	1.3333333	62.8 ± 11.2
x	222100 and 125853	68003924 and 68003922	1 and 2	1.6666667	62.8 ± 11.2

x 222100 and 125853 68003924 and 68003922 1 and 2 1 62.8 ± 11.2

MF	Smokers and Non-smokers	Examination Individual pe Four plaque	Microbiology	18380556
MF	Smokers and Non-smokers	Examination Individual pe Four plaque	Microbiology	18380556
MF	Smokers and Non-smokers	Examination Individual pe Four plaque	Microbiology	18380556
MF	Smokers and Non-smokers	Examination Individual pe Four plaque	Microbiology	18380556
MF	Smokers and Non-smokers	Examination Individual pe Four plaque	Microbiology	18380556
MF	Smokers and Non-smokers	Examination Individual pe Four plaque	Microbiology	18380556
MF	Smokers and Non-smokers	Examination Individual pe Four plaque	Microbiology	18380556
MF	Smokers and Non-smokers	Examination Individual pe Four plaque	Microbiology	18380556
MF	Smokers and Non-smokers	Examination Individual pe Four plaque	Microbiology	18380556
MF		The criteria Subgingival ç PCR	Microbiology	18582336
MF		The criteria Subgingival ç PCR	Microbiology	18582336
MF		The criteria Subgingival ç PCR	Microbiology	18582336
MF		The criteria Subgingival ç PCR	Microbiology	18582336
MF		The criteria Subgingival ç PCR	Microbiology	18582336
MF		The patient Samples wer Culture	Microbiology	20638146
MF	Non-smokers	Subjects we Microbial sar Culture	Microbiology	21044102
MF	Non-smokers	Subjects we Microbial sar Culture	Microbiology	21044102
MF	Non-smokers	Subjects we Microbial sar Culture	Microbiology	21044102
MF	Non-smokers	Subjects we Microbial sar Culture	Microbiology	21044102
MF	Non-smokers	Subjects we Microbial sar Culture	Microbiology	21044102
MF	Non-smokers	Subjects we Microbial sar Culture	Microbiology	21044102
MF	Non-smokers	Subjects we Microbial sar Culture	Microbiology	21044102
MF	Non-smokers	Subjects we Microbial sar Culture	Microbiology	21044102
MF	Non-smokers	Subjects we Microbial sar Culture	Microbiology	21044102
MF	Non-smokers	Subjects we Microbial sar Culture	Microbiology	21044102
MF	Non-smokers	Subjects we Microbial sar Culture	Microbiology	21044102
MF		Each compl Bacterial san PCR	Microbiology	16579698
MF		Each compl Bacterial san PCR	Microbiology	16579698
MF		The inclusic All the tests ÷ The number	Microbiology	19772183
MF	Smokers and Non-smokers	Patients w Subgingival ç The samples	Microbiology	17092237
MF	Smokers and Non-smokers	Patients w Subgingival ç The samples	Microbiology	17092237
MF	Smokers and Non-smokers	Patients w Subgingival ç The samples	Microbiology	17092237
MF	Smokers and Non-smokers	Patients w Subgingival ç The samples	Microbiology	17092237
MF	Smokers and Non-smokers	Patients w Subgingival ç The samples	Microbiology	17092237
MF	Smokers and Non-smokers	Patients w Subgingival ç The samples	Microbiology	17092237
MF	Smokers and Non-smokers	Patients w Subgingival ç The samples	Microbiology	17092237
MF	Smokers and Non-smokers	Patients w Subgingival ç The samples	Microbiology	17092237
MF	Smokers and Non-smokers	Patients w Subgingival ç The samples	Microbiology	17092237
MF	Smokers and Non-smokers	Patients w Subgingival ç The samples	Microbiology	17092237
MF	Smokers and Non-smokers	Patients w Subgingival ç The samples	Microbiology	17092237
MF		The exclusic After the clin Bacterial ana	Microbiology	20844819

MF		The exclusi	After the clin	Bacterial ana	Microbiology	20844819
MF		The exclusi	After the clin	Bacterial ana	Microbiology	20844819
MF		The exclusi	After the clin	Bacterial ana	Microbiology	20844819
MF		All patient-	The techniq	Previously p	Microbiology	12202557
MF		All patient-	The techniq	Previously p	Microbiology	12202557
MF		All patient-	The techniq	Previously p	Microbiology	12202557
MF		All patient-	The techniq	Previously p	Microbiology	12202557
MF		All patient-	The techniq	Previously p	Microbiology	12202557
MF		All patient-	The techniq	Previously p	Microbiology	12202557
MF		All patient-	The techniq	Previously p	Microbiology	12202557
MF		All patient-	The techniq	Previously p	Microbiology	12202557
MF		All patient-	The techniq	Previously p	Microbiology	12202557
MF		All patient-	The techniq	Previously p	Microbiology	12202557
MF		All patient-	The techniq	Previously p	Microbiology	12202557
MF		All patient-	The techniq	Previously p	Microbiology	12202557
MF		A total of 1	Two plaque	Five microor	Microbiology	11246700
MF		A total of 1	Two plaque	Five microor	Microbiology	11246700
MF		A total of 1	Two plaque	Five microor	Microbiology	11246700
MF		A total of 1	Two plaque	Five microor	Microbiology	11246700
MF		A total of 1	Two plaque	Five microor	Microbiology	11246700
MF		A total of 1	Two plaque	Five microor	Microbiology	11246700
MF		We selecte	Bacterial san	Bacterial san	Microbiology	15677809
MF		We selecte	Bacterial san	Bacterial san	Microbiology	15677809
MF		We selecte	Bacterial san	Bacterial san	Microbiology	15677809
MF		We selecte	Bacterial san	Bacterial san	Microbiology	15677809
MF		We selecte	Bacterial san	Bacterial san	Microbiology	15677809
MF	Smokers and Non-smokers	The study v	Saliva sampl	After 28 day	Microbiology	23638810
MF	Smokers and Non-smokers	The study v	Saliva sampl	After 28 day	Microbiology	23638810
MF	Smokers and Non-smokers	The study v	Saliva sampl	After 28 day	Microbiology	23638810
MF		Patients we	After a full-r	Clinical para	Microbiology	22762355
MF		Patients we	After a full-r	Clinical para	Microbiology	22762355
MF		Patients we	After a full-r	Clinical para	Microbiology	22762355
MF		Patients we	After a full-r	Clinical para	Microbiology	22762355
MF		Patients we	After a full-r	Clinical para	Microbiology	22762355
MF		Patients we	After a full-r	Clinical para	Microbiology	22762355
MF		Patients we	After a full-r	Clinical para	Microbiology	22762355
MF		Patients we	After a full-r	Clinical para	Microbiology	22762355
MF		Patients we	After a full-r	Clinical para	Microbiology	22762355
MF		Patients we	After a full-r	Clinical para	Microbiology	22762355
MF		Patients we	After a full-r	Clinical para	Microbiology	22762355
MF		Patients we	After a full-r	Clinical para	Microbiology	22762355
MF		Patients we	After a full-r	Clinical para	Microbiology	22762355
MF		Patients we	After a full-r	Clinical para	Microbiology	22762355
MF		Patients we	After a full-r	Clinical para	Microbiology	22762355
MF		All patients	Samples wer	All isolated y	Microbiology	21528026
MF		All patients	Samples wer	All isolated y	Microbiology	21528026
MF		All patients	Samples wer	All isolated y	Microbiology	21528026
MF		All patients	Samples wer	All isolated y	Microbiology	21528026

MF

All patients Samples wer All isolated y Microbiology

21528026

As was not
As was not
As was not
As was not
As was not
As was not
As was not
As was not
As was not
As was not
As was not
P. gingivalis

Among sub
In this pilot

DMT1								
UniprotKB	P16278	P09228	P01133	P06865	P07686	P01584	P13861	
Protein name	Beta-galactosidase	Cystatin-SA (Cystatin)	Pro-epidermal growth factor receptor	Beta-hexosaminidase A	Beta-hexosaminidase B	Interleukin-1 beta	cAMP-dependent protein kinase	
Protein Q	-0.27	0.00	-0.30	1.80	1.44	5.00	1.40	
Sample	Whole Salix	0 x	x	x	x	x	x	
	Mucosa	0	0	0	0	0	0	
	SM/SL	0	0	0	0	0	0	
	Biomarker	0	0	0	0	0	0	
GO_name	GO_name2							
carbohydrate	carbohydrate				+			
	cellular carbohydrate							
	gluconeogenesis							
	galactose							
	glucose metabolism							
	glycerol biosynthesis							
	glycogen biosynthesis							
	glycogen catabolism							
	glycogen metabolism							
	glycolysis							
	mannan catabolism							
	O-glycan processing							
	oligosaccharide				+			
	pentose biosynthesis							
	pentose-phosphate							
	pentose-phosphate							
	polysaccharide							
	positive regulation		+					
	protein N-glycosylation							
	trehalose							
cell adhesion	calcium-ion							
	cell adhesion							
	cell-cell adhesion							
	cell-matrix adhesion							
	focal adhesion							
	homophilic cell-cell adhesion							
	leukocyte adhesion							
	leukocyte adhesion							
	monocyte adhesion					+		
	negative regulation							
	negative regulation							
	negative regulation							
	negative regulation							
	negative regulation							
	negative regulation							
	platelet aggregation							
	positive regulation							
	positive regulation					+		
	regulation							

regulation
substrate

cell proliferation
endothelial
epithelial
inner cell
keratinocyte
negative regulation
positive regulation
positive regulation
positive regulation
positive regulation
positive regulation
regulation

cell-cell signaling
dopamine
histamine
negative regulation
positive regulation
regulation
regulation
regulation
synaptic transmission
synaptic transmission
synaptic transmission

circulatory system
angiotensin
blood circulation
bundle of
positive regulation
regulation
regulation
regulation
ventricular

extracellular matrix
collagen fibril
extracellular matrix
extracellular matrix
extracellular matrix
negative regulation

homeostasis
bone resorption
cell redox
cellular calcium
cellular iron
cellular respiration

+

+

+

+

+

+

+

+

+



cholesterol
cytosolic c
erythrocyt
fatty acid l
fever gene
glucose ho
iron ion hc
lymphocyt
muscle cel
negative r
phospholiq
photorece
positive re
positive re
regulation
sequesteri
telomere r
triglycerid

immune sy activation

antigen pr
antigen pr
antigen pr
antigen pr
antigen pr
antigen pr
cellular ex
cellular res
chronic inf
compleme
compleme
compleme
defense re
erythrocyt
Fc-epsilon
Fc-gamma
germinal c
granuloma
hemopoie:
histamine
humoral ir
immune re
immune sy
induction
innate inm
leukocyte
leukocyte
leukocyte
lymphocyt
mononucle

+

+

+

+

+

+

+



toll-like re
toll-like re
toll-like re
toll-like re
TRIF-depe
V(D)J reco

lipid metal arachidoni
bile acid m
cellular lip
cholester
cholester
fatty acid i
farnesol ca
gangliosid
glucocortic
glycosphin+
leukotrien
leukotrien
lipid catab
lipid metal
long-chain
negative r
negative r
phosphati
phosphati
phospholiq
phospholiq
positive re
positive re
positive re
positive re
regulation
retinoid m
retinol me
sphingolip+
steroid me
triglycerid
triglycerid

+ +

+ +

+

+

+

+

+

+ +

membranε Golgi to pl
membranε
negative r
positive re
protein im
protein ta
protein ta
synaptic v
vesicle fus



response t activation
activation
acute-phas
autophagi
blood coag
blood coag
cellular hy
cellular res
cellular res
cellular res
cellular res
cellular res
cellular res
chronic inf
defense re
defense re
defense re
defense re
defense re
defense re
defense re
DNA dama
DNA doub
DNA repai
double-str
double-str
double-str
endoplasr
fever gene
fibrinolysi
granuloma
histamine
hydrogen |
induction |
inflammat
innate inm
intrinsic a
intrinsic a
JNK cascac
leukocyte
multicellul
MyD88-de
MyD88-inc
natural kill
negative r
negative r
negative r
negative r
nucleotide

+

+

+

+

+

+



pattern re
peripheral
platelet ac
platelet ag
positive re
positive re
positive re
positive re
positive re
positive re
positive re
positive re
positive re
positive re
postreplic
regulation
regulation
regulation
regulation
regulation
regulation
regulation
regulation
regulation
regulation
regulation
removal of
respiratory
response t
response t
response t
response t
response t
response t
response t
response t
response t
response t
response t
tissue rege
toll-like re
toll-like re
toll-like re
toll-like re
toll-like re
toll-like re
toll-like re
toll-like re
toll-like re
toll-like re
toll-like re
TRIF-depe
wound hea

+

+

+



sulfur com chondroitin	+	+
chondroitin	+	+
glutathion		
glutathion		
keratan su		
keratan su +	+	+
keratan su +	+	+
L-methionin		
sulfur amio		

symbiosis, establishm
 growth of
 hemolysis
 negative re
 negative re
 viral proce



P31323			P01375						
P31323	P01375	O00300	Q59HE3	Q53EM5	Q4W4Y1	Q53F48	P62258	P61981	
cAMP-depend	Tumor necrosi	Tumor necrosi	Calpastatin iso	Transketolase	Dopamine recd	Heterogeneou	14-3-3 protein	14-3-3 protein	
1.40	-0.40	-1.60	0.00	0.00	0.00	0.00	-2.30	0.00	
x	x	x	x	x	x	x	x	x	
	0 x	x		0	0	0	0	0	
	0	0	0	0	0	0	0	0	
	0	0	0	0	0	0	0	0	

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+
+
+
+

+

+
+
+

+
+
+
+
+

+
+

+
+

+

+

+



+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+



+

+



+

+

+





+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

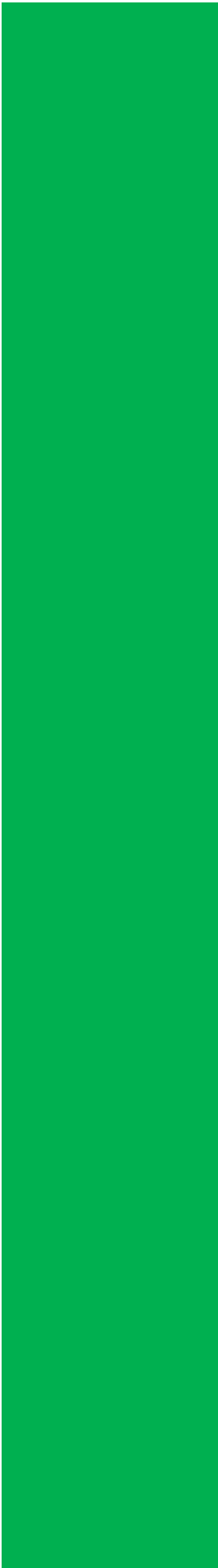




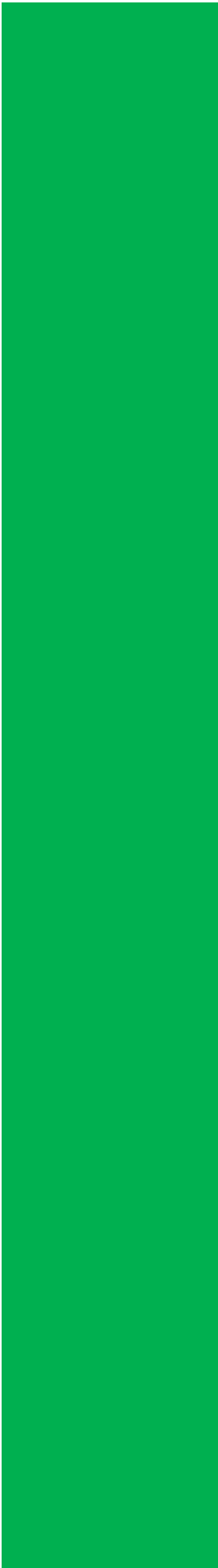
+
+

Q09666	O60218	P30838	P02768	P02760	P19021	P01008	Q10567	P02647
Neuroblast diff	Aldo-keto red	Aldehyde dehy	Serum albumin	Protein AMBP	Peptidyl-glycin	Antithrombin-	AP-1 complex	Apolipoprotein
3.10	-3.30	-2.20	1.99	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
x	x	x	x	x	x	x	x	x
0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0

+



+

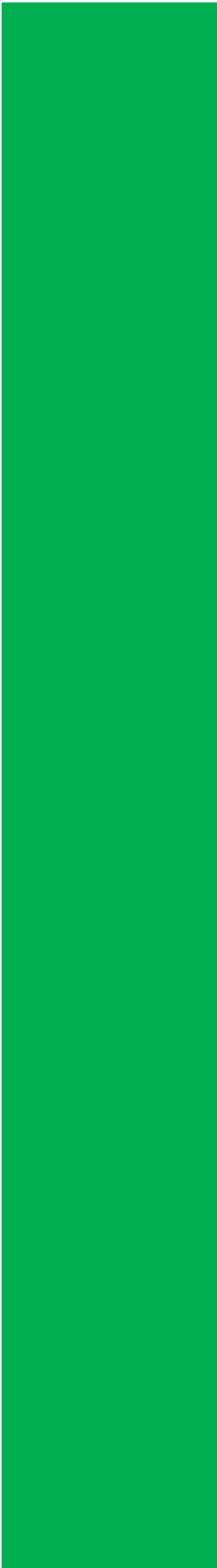


+

+

+

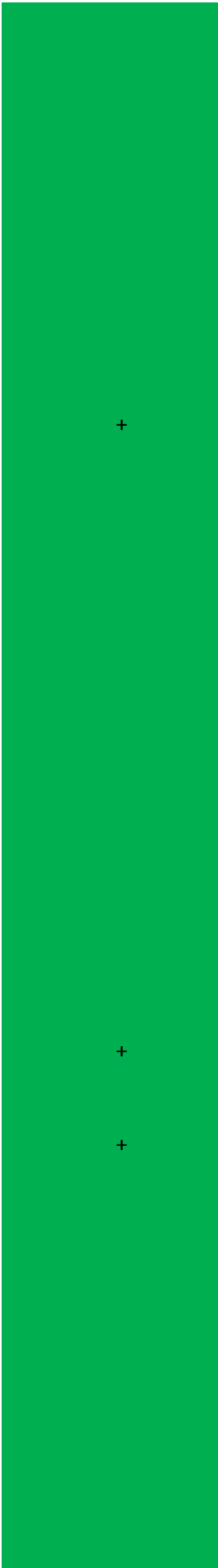
+



+

+

+



+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

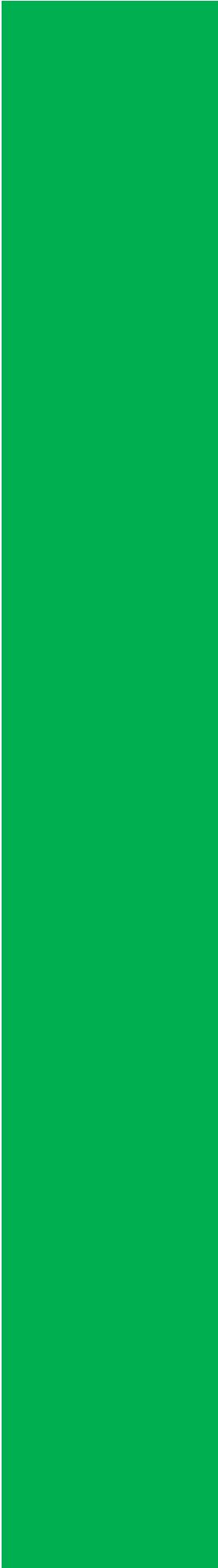
+

+

+

+

+



+

+

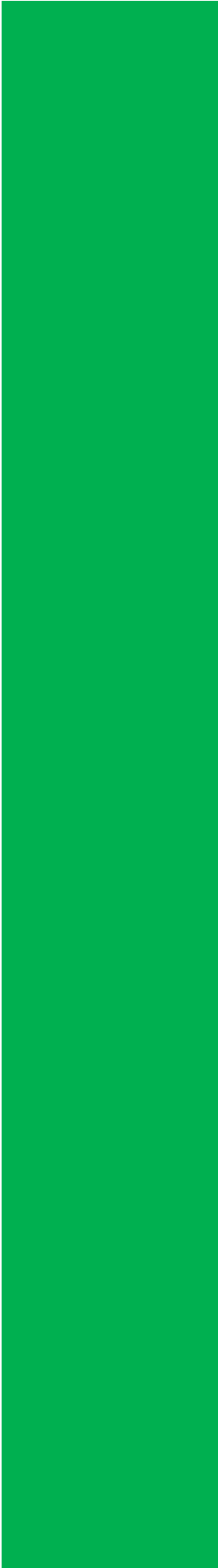
+

+

+

+

+



+

+

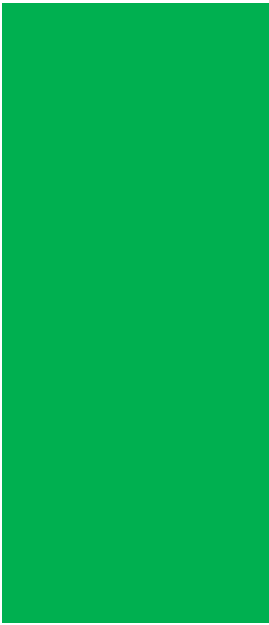
+

+

+

+

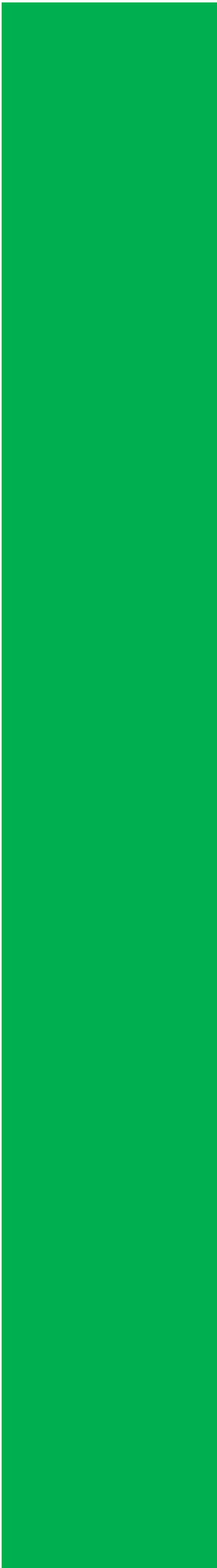
+



+

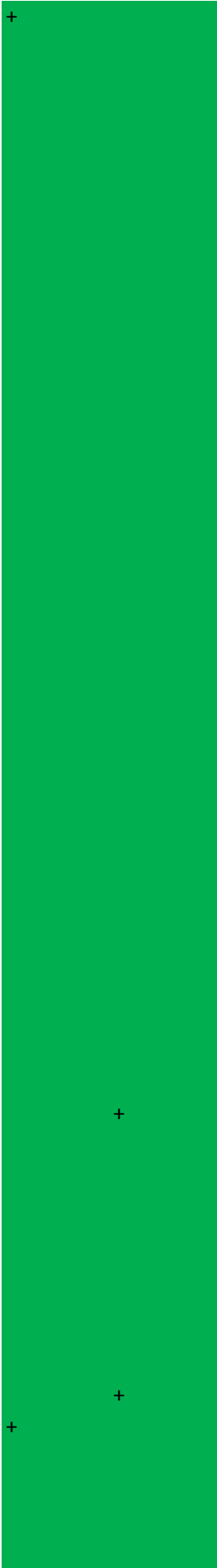
+

+



+

+



+

+

+

+

+

+

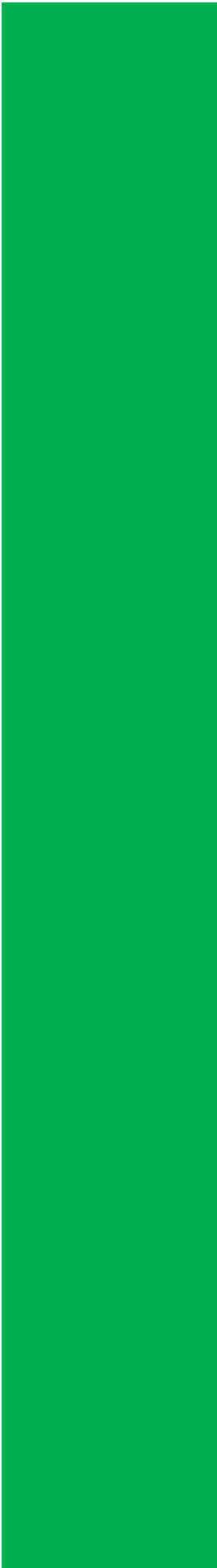
+

+

+

+

+



+

+

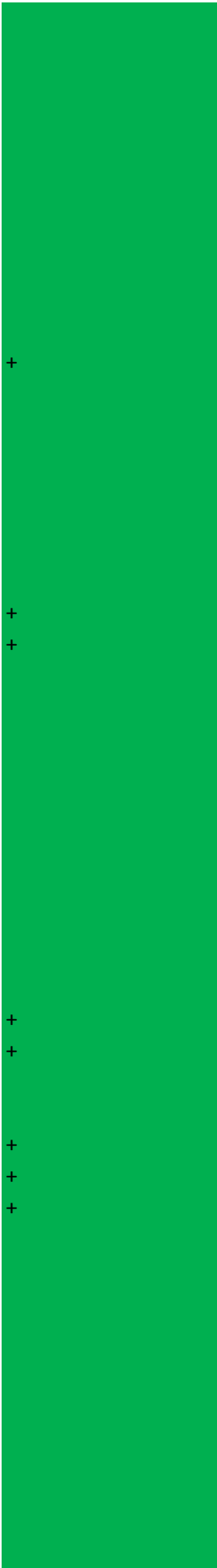
+

+

+

+

+



+

+

+

+

+

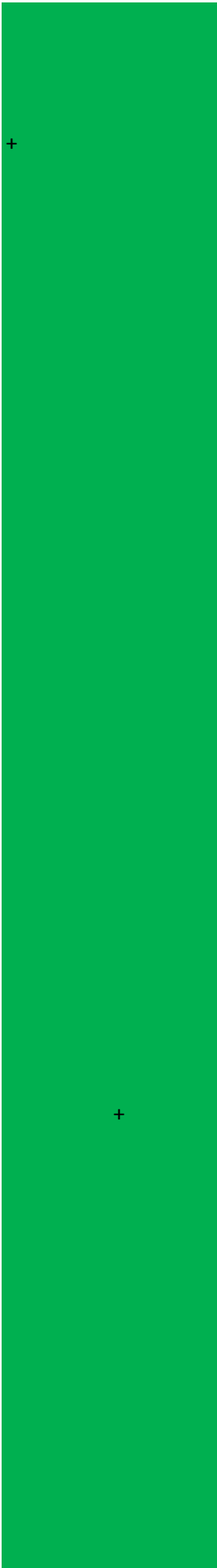
+

+

+

+

+



+

+

+

+

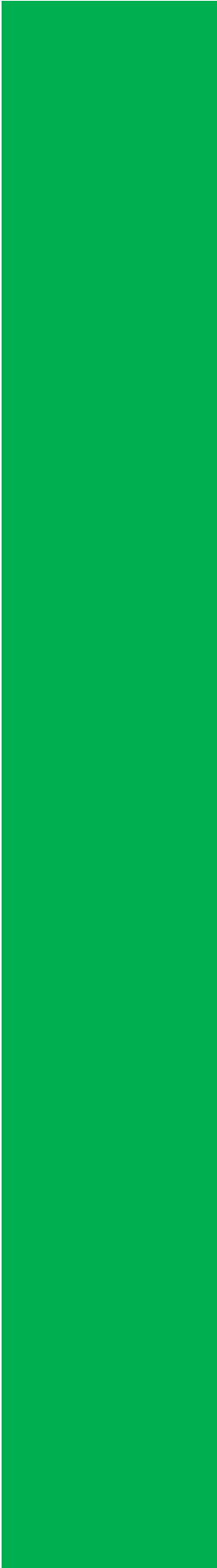
+

+

+

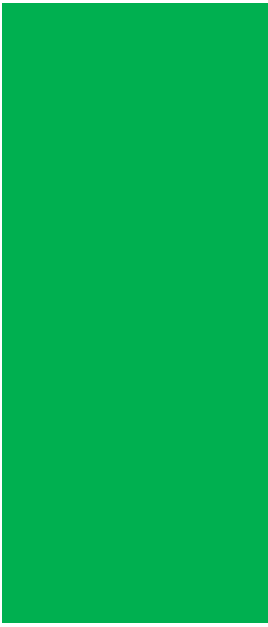
+

+



+

+



+

+

+

+

+

+

+

+ + + +

+ +

+

P08571	P00751	P08603	Q13231	O75390	Q14CN2	Q00610	O00299	P10645
Monocyte diff	Complement f	Complement f	Chitotriosidase	Citrate synthas	Calcium-activa	Clathrin heavy	Chloride intrac	Chromogranin
0.00	0.00	0.00	-2.20	0.00	0.00	0.00	0.00	9.50
x	x	x	x	x	x	x	x	x
0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0
			+	+				
				+				
			+					
				+				
			+	+				
			+	+				
			+	+				

+

+

+

+

+

+

+

+

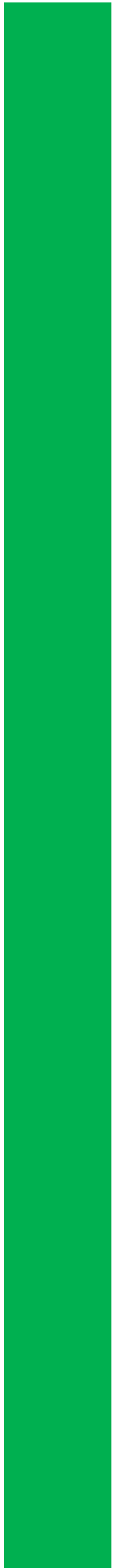
+

+

+

+

+



+

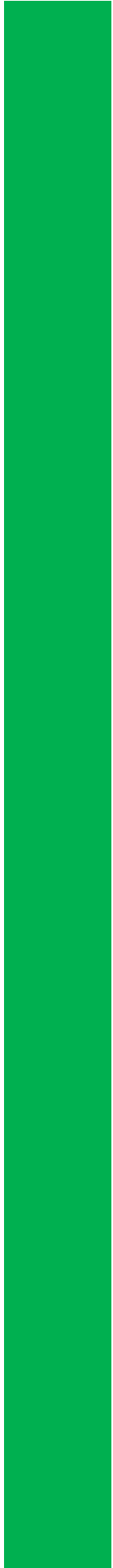
+ +
+ +

+ + + +
+ + +

+
+

+ +

+
+
+

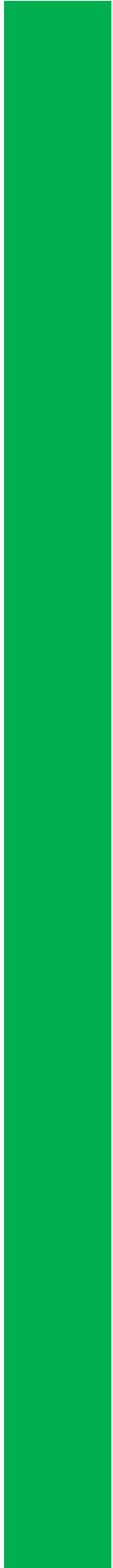


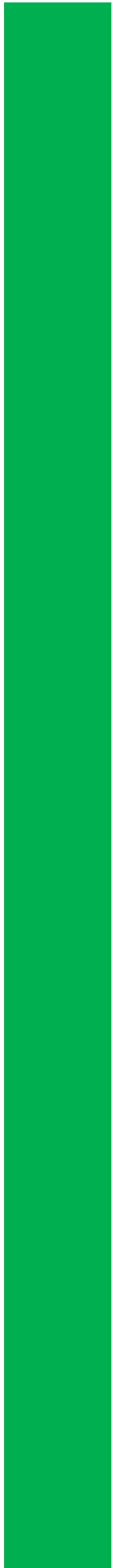
+
+
+
+



+
+ + +

+
+





+ +

+

+

+

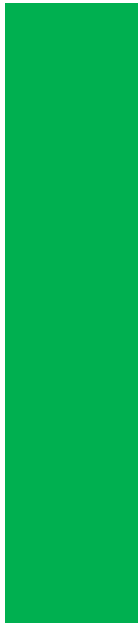
+

+

+

+

+



P06681	P0C0L4	P01031	P12109	P13671	P02748	P15924	Q9UGM3	P27487
Complement C	Complement C	Complement C	Collagen alpha	Complement c	Complement c	Desmoplakin (Deleted in mal	Dipeptidyl pep
0.00	0.00	0.00	0.00	4.80	0.00	-5.90	0.00	0.00

x	x	x	x	x	x	x	x	x
0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0

+

+

+

+
+



+
+
+



+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

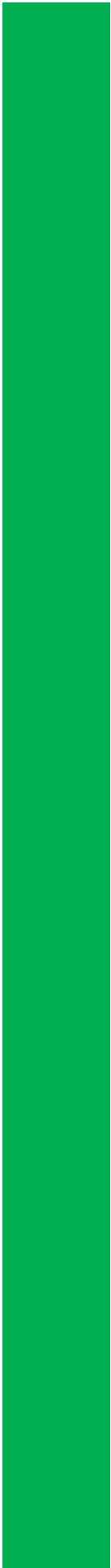
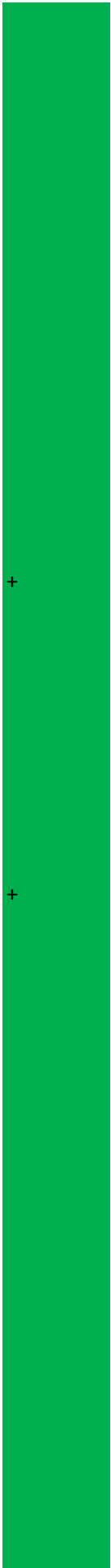
+

+

+

+

+



+

+

+

+

+

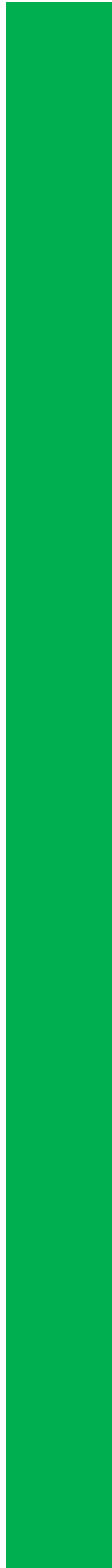
+

+

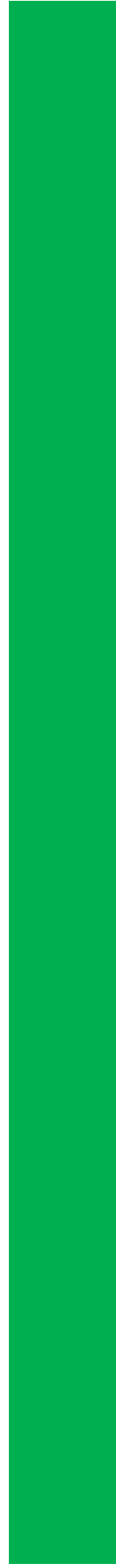
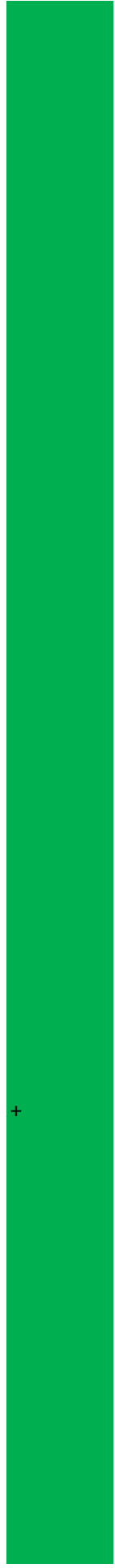
+

+

+



+
+ +
+ +
+
+



+ +
+ +
+ +
+ +

+

+

+

+

+

+

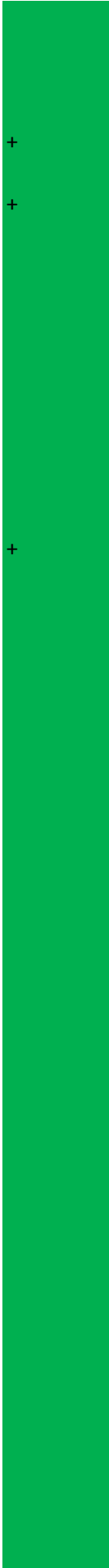
+

+

+

+

+





+



+

Q02487	P32926	Q16610	P12724	Q15075	P13639	P01133	P21128	P14625
Desmocollin-2	Desmoglein-3	Extracellular m	Eosinophil cati	Early endosom	Elongation fac	Pro-epidermal	Poly(U)-specifi	Endoplasmin (\$
0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.21	0.00	0.00
x	x	x	x	x	x	x	x	x
	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0

+

+

+

+
+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+
+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

Q9NZ08	Q9BS26	P23141	Q92817	P15311	P16930	P02751	O75369	P04406
Endoplasmic r	Endoplasmic r	Liver carboxyle	Envoplakin (21	Ezrin (Cytovillin	Fumarylacetoa	Fibronectin (FN	Filamin-B (FLN	Glyceraldehyd
0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

x	x	x	x	x	x	x	x	x
	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

DMT2

P11413	P50395	P46976	P48637	P00390	Q92896	O75367	P07686	P31943
Glucose-6-pho	Rab GDP disso	Glycogenin-1 (Glutathione sy	Glutathione re	Golgi apparatus	Core histone m	Beta-hexosami	Heterogeneou
0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

x	x	x	x	x	x	x	x	x
	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0

+ + +

+ + + +

+ + + +

+ + +

+ + +

+ + +

+ + +

+ + +

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

P61978	P04196	P07900	P08238	P34932	P30740	P07476	P46940	Q9NQ38
Heterogeneous	Histidine-rich	Heat shock pro	Heat shock pro	Heat shock 70	Leukocyte elas	Involucrin	Ras GTPase-ac	Serine proteas
0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	2.00	0.00	0.00	0.00
x	x	x	x	x	x	x	x	x
	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0

+

+

+

+

+

+ +

+ +

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

P05107	Q14624	P02533	P14618	P09960	P20700	Q03252	P51884	O95274
Integrin beta-2	Inter-alpha-trypsin inhibitor 1	Keratin, type I class II	Pyruvate kinase isoenzyme M2	Leukotriene A4 synthase	Lamin-B1	Lamin-B2	Lumican (Keratan sulfate-binding protein)	Ly6/PLAUR domain-containing protein
0.00	2.60	-5.77	3.50	0.00	0.00	0.00	0.00	-2.30

x	x	x	x	x	x	x	x	x
0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

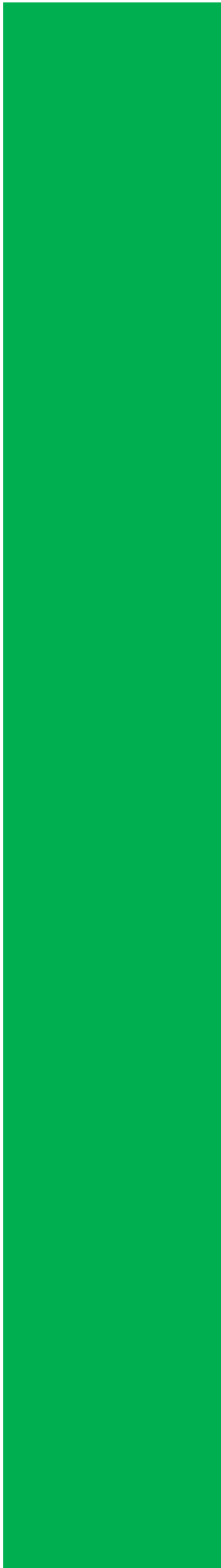
+

+

+

+

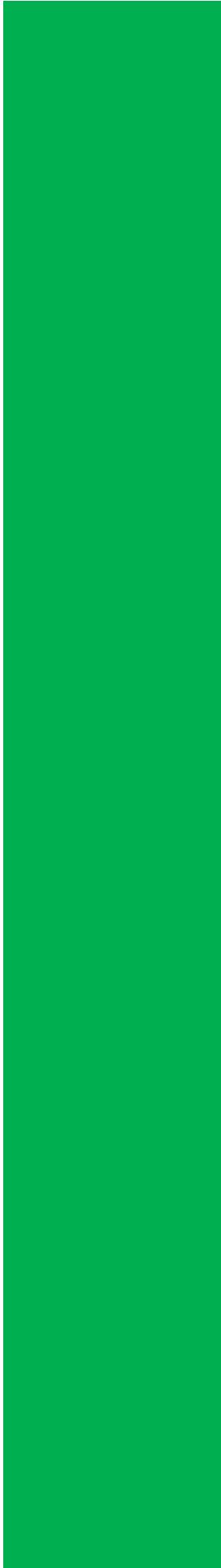
+
+



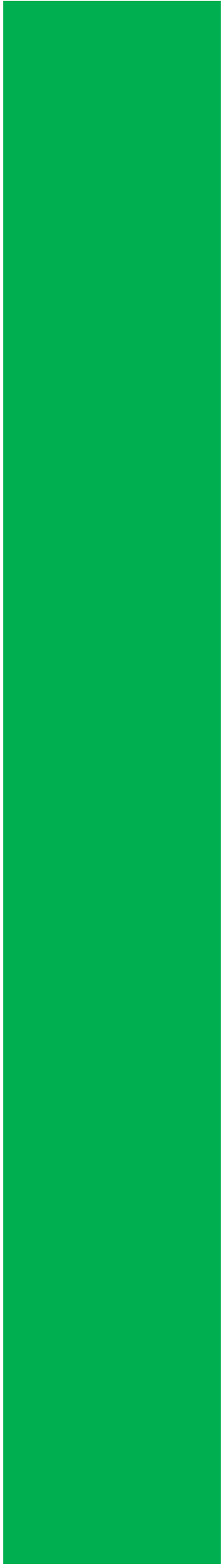
+

+

+



+



+

+

+

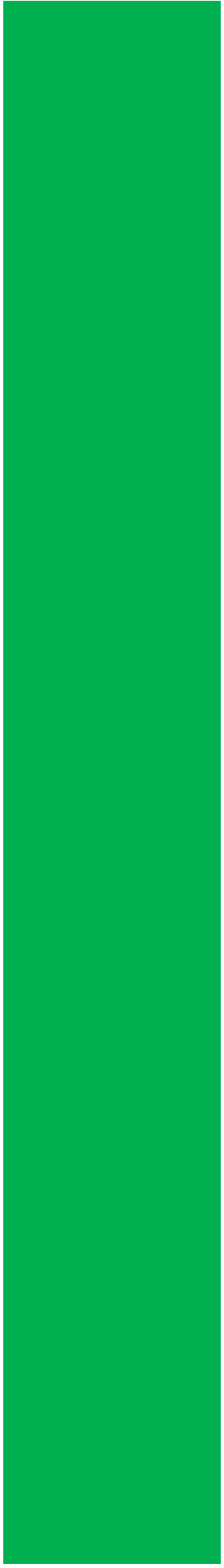
+

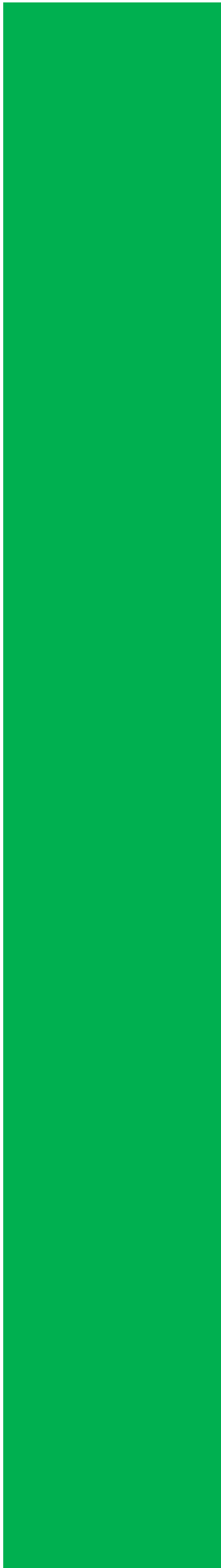
+

+

+

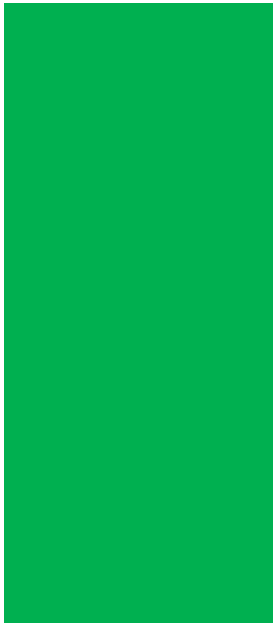
+





+

+



+
+
+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

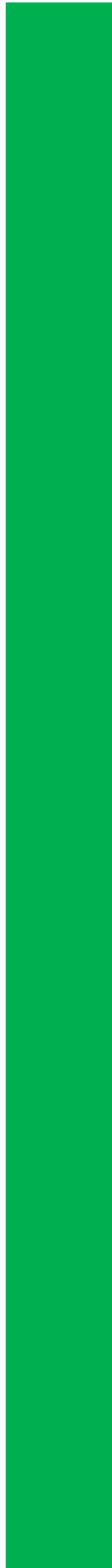


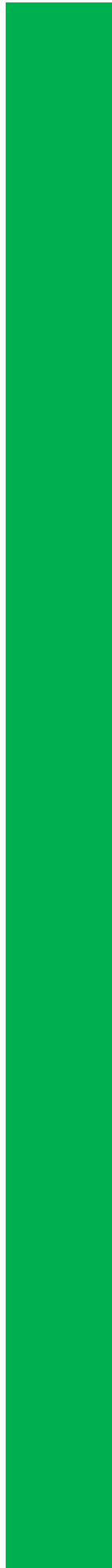
+

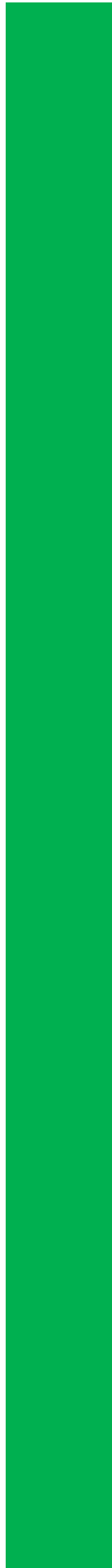


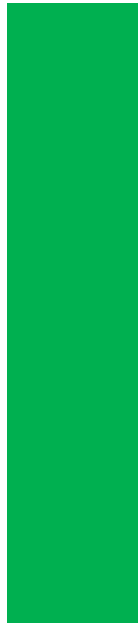
+

+









Q99497	P42785	P07237	P30101	Q15084	O00764	O60437	P22079	P05164
Protein DJ-1 (E	Lysosomal Pro	Protein disulfid	Protein disulfid	Protein disulfid	Pyridoxal kinas	Periplakin (190	Lactoperoxidas	Myeloperoxida
0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	2.28	3.86
x	x	x	x	x	x	x	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0

+

+

+

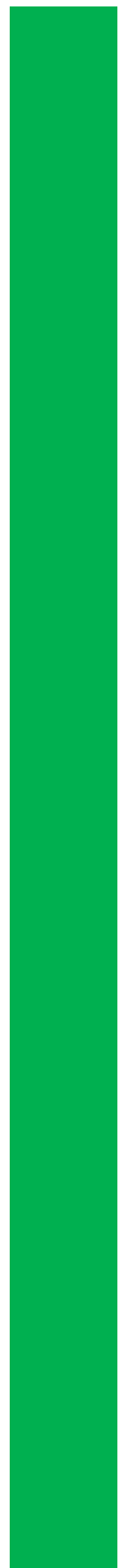
+

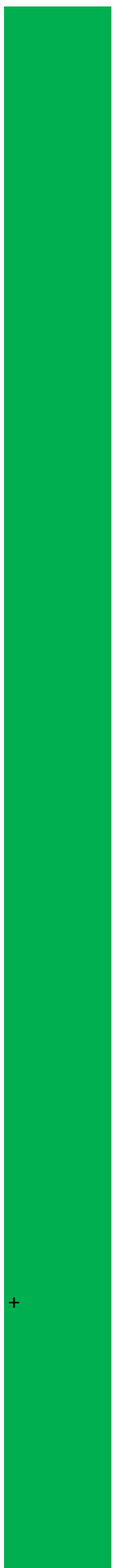
+

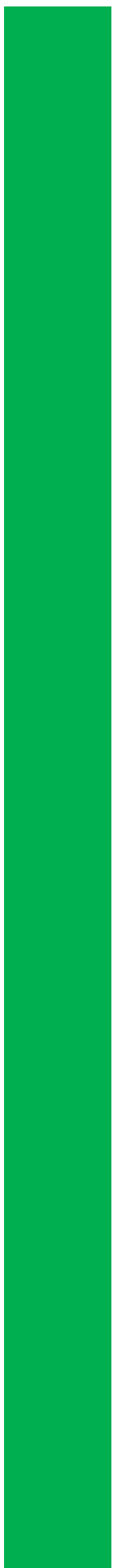
+



+
+
+







+

+

+

+

+

+

+

+

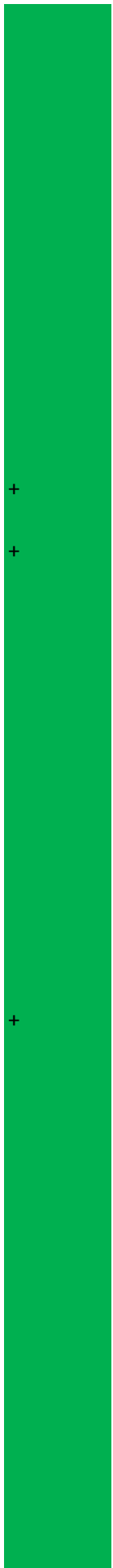
+

+

+

+

+



+

+

+

+

+

+

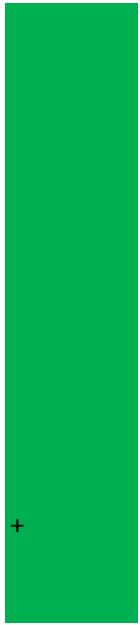
+

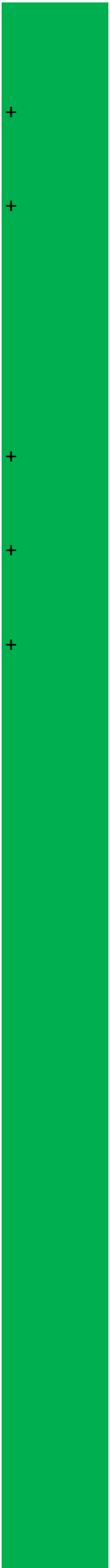
+

+

+

+





+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

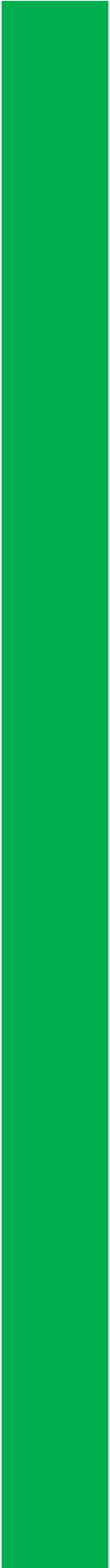
+

+

+

+

+



+

+

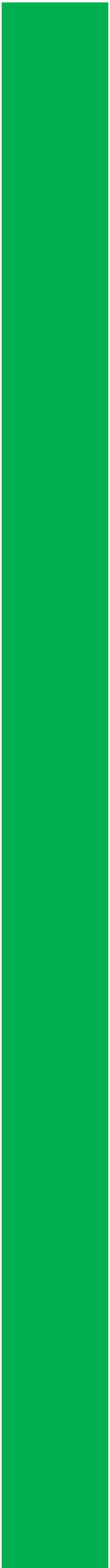
+

+

+

+

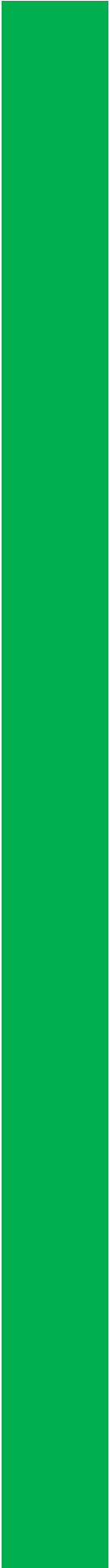
+



+

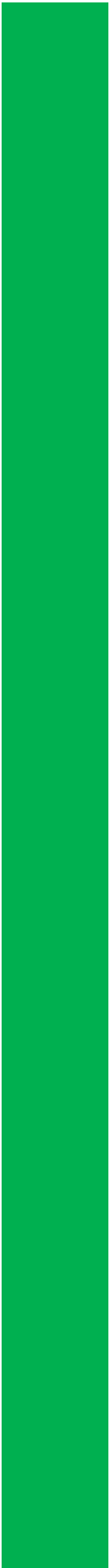
+

+



+

+



+

+

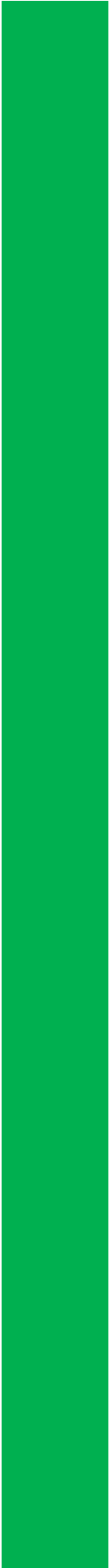
+

+

+

+

+

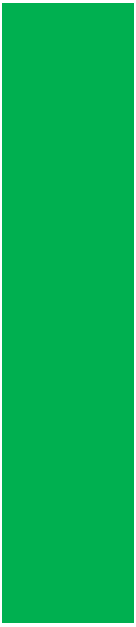


+

+

+

+



+

P27918	P25787	P25788	O14818	P55786	Q06323	P06737	P13489	O00560
0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	3.30	0.00	0.00

Properdin (Cor	Proteasome su	Proteasome su	Proteasome su	Puromycin-ser	Proteasome ad	Glycogen phos	Ribonuclease i	Syntenin-1 (M
x	x	x	x	x	x	x	x	x
0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0

+

+

+

+

+

+

+

+

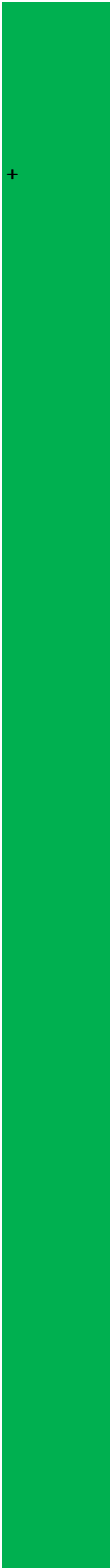
+

+

+

+

+



+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+





+

+

+

+

+

+

+

+



+

+



+

+

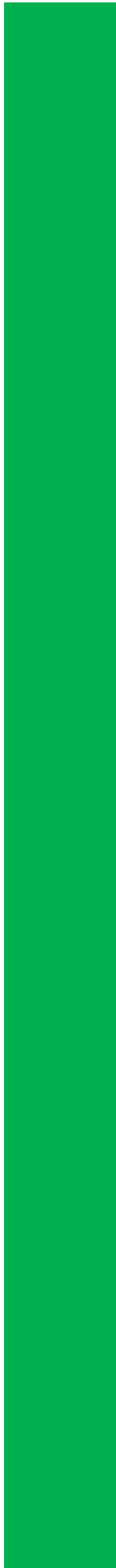
+

+



P29508	O43278	P02549	Q01082	Q13813	Q08188	P00734	Q9Y490	P67936
Serpin B3 (Pro	Kunitz-type pr	Spectrin alpha	Spectrin beta c	Spectrin alpha	Protein-glutan	Prothrombin (f	Talin-1Talin-1	Tropomyosin a
0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	-3.80
x	x	x	x	x	x	x	x	x
0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0

+



+

+

+

+

+

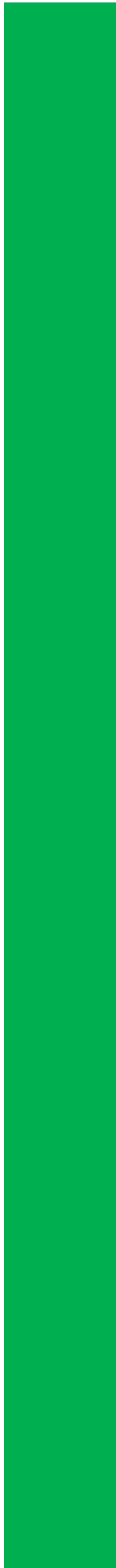
+

+

+



+



+

+

+

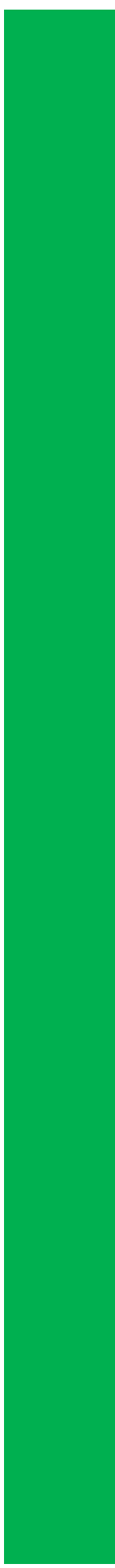


+
+

+
+

+
+

+
+



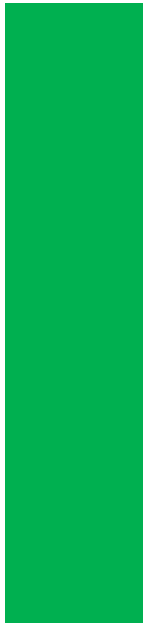
+ +

+

+

+





O14773	O00300	P02787	P08582	P02766	P61088	Q70J99	Q86UX7	P50552
Tripeptidyl-pe	Tumor necrosi	Serotransferrin	Melanotransfe	Transthyretin	Ubiquitin-conj	Protein unc-13	Fermitin family	Vasodilator-sti
0.00	#DIV/0!	-1.64	0.00	2.40	0.00	0.00	0.00	0.00

x	x	x	x	x	x	x	x	x
	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0

+

+

+
+
+
+
+

+ +

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+
+
+
+

+

+
+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

+

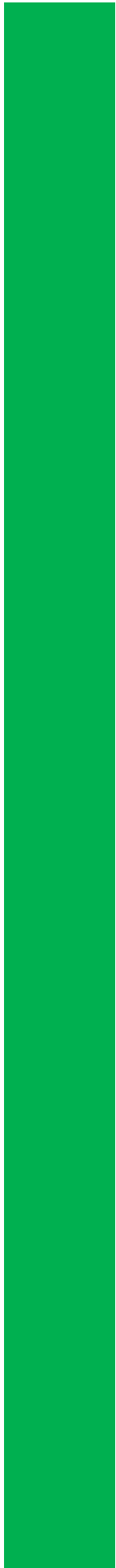
+

+

+

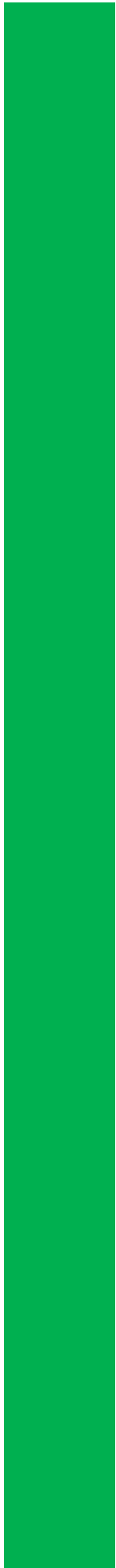
Q99536	P12956	Q5TCI8	Q5TD07
Synaptic vesicle	X-ray repair cross-complement	Prelamin-A/C	Ribosyl dihydroxyacetone phosphate
0.00	0.00	-3.30	0.00

x	x	x	x
	0	0	0
	0	0	0
	0	0	0



+

+



+



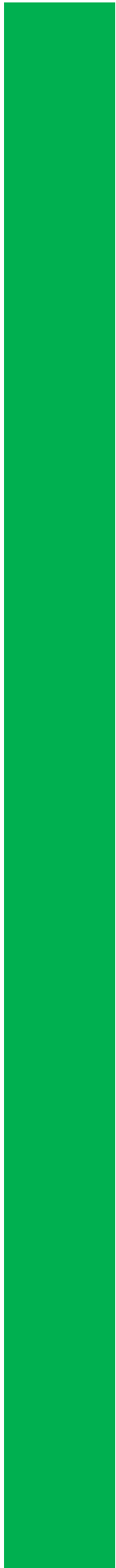
+

+
+

+
+
+

+





+

+



P1

UniProt ID	Name	Organism	Regulation	Function	UniProt ID
P01584	Interleukin-1 beta (IL-1 beta)	(C; Homo sapi	5.00		C9R667
P01584	Interleukin-1 beta (IL-1 beta)	(C; Homo sapi	5.00		C7NCD2
P01584	Interleukin-1 beta (IL-1 beta)	(C; Homo sapi	5.00		P64222
P01584	Interleukin-1 beta (IL-1 beta)	(C; Homo sapi	5.00		Q56063
P01584	Interleukin-1 beta (IL-1 beta)	(C; Homo sapi	5.00		Q7CQU1
P01584	Interleukin-1 beta (IL-1 beta)	(C; Homo sapi	5.00		I6L8Y7

P2

Name	Organism
Formate acetyltransferase	Aggregatibacter actin
Formate acetyltransferase (EC	Leptotrichia buccalis (:
Aminomethyltransferase (EC 2	Salmonella typhimuric aminomethyltransferase activity; cytoplasm; gly
2-methylcitrate synthase (EC 2	Salmonella typhimuric propanoate degradation
Pyruvate formate lyase I, induc	Salmonella typhimuric carbohydrate metabolic process, lyase
Putative trehalose-6-phosphat	Streptococcus mutans

urcine catabolic process; transaminase activity

PH

UniProt	Name	Organism	Regulation	Function	UniProt
P61160	Actin-relat	Homo sapi	3.40		Q9F2Q3
O60218	Aldo-keto	Homo sapi	-3.30		Q03174
O60218	Aldo-keto	Homo sapi	-3.30		P49331
O60218	Aldo-keto	Homo sapi	-3.30		Q9F2Q3
P01009	Alpha-1-an	Homo sapi	3.20		Q03174
P01009	Alpha-1-an	Homo sapi	3.20		P49331
P04114	Apolipoprc	Homo sapi	-4.10		Q03174
P04114	Apolipoprc	Homo sapi	-4.10		P49331
P04114	Apolipoprc	Homo sapi	-4.10		P58099
P10645	Chromogrc	Homo sapi	9.50		Q03174
P10645	Chromogrc	Homo sapi	9.50		Q97QP7
P10645	Chromogrc	Homo sapi	9.50		Q9F2Q3
P13671	Compleme	Homo sapi	4.80		Q03174
Q99102	Mucin-4 (N	Homo sapi	13.17		Q03174
P05164	Myeloper	Homo sapi	3.86		Q03174
P05164	Myeloper	Homo sapi	3.86		P49331
P05164	Myeloper	Homo sapi	3.86		P58099
Q09666	Neuroblast	Homo sapi	3.10		Q03174
Q09666	Neuroblast	Homo sapi	3.10		P49331
Q09666	Neuroblast	Homo sapi	3.10		P58099
P00558	Phosphogl	Homo sapi	-3.20		Q03174
Q5TC18	Prelamin-A	Homo sapi	-3.30		Q03174
P67936	Tropomyo!	Homo sapi	-3.80		Q9F2Q3

PB

Name	Organism
Enolase 1 (EC 4.2.1.11) (2-phospho-D-glycerate hydr	Streptomy
Fructan beta-fructosidase (EC 3.2.1.80) (Exo-beta-D-f	Streptococ
Glucosyltransferase-S (GTF-S) (EC 2.4.1.5) (Dextransu	Streptococ
Enolase 1 (EC 4.2.1.11) (2-phospho-D-glycerate hydr	Streptomy
Fructan beta-fructosidase (EC 3.2.1.80) (Exo-beta-D-f	Streptococ
Glucosyltransferase-S (GTF-S) (EC 2.4.1.5) (Dextransu	Streptococ
Fructan beta-fructosidase (EC 3.2.1.80) (Exo-beta-D-f	Streptococ
Glucosyltransferase-S (GTF-S) (EC 2.4.1.5) (Dextransu	Streptococ
C5a peptidase (EC 3.4.21.110) (SCP)	Streptococ
Fructan beta-fructosidase (EC 3.2.1.80) (Exo-beta-D-f	Streptococ
Immunoglobulin A1 protease (IgA1 protease) (EC 3.4	Streptococ
Enolase 1 (EC 4.2.1.11) (2-phospho-D-glycerate hydr	Streptomy
Fructan beta-fructosidase (EC 3.2.1.80) (Exo-beta-D-f	Streptococ
Fructan beta-fructosidase (EC 3.2.1.80) (Exo-beta-D-f	Streptococ
Fructan beta-fructosidase (EC 3.2.1.80) (Exo-beta-D-f	Streptococ
Glucosyltransferase-S (GTF-S) (EC 2.4.1.5) (Dextransu	Streptococ
C5a peptidase (EC 3.4.21.110) (SCP)	Streptococ
Fructan beta-fructosidase (EC 3.2.1.80) (Exo-beta-D-f	Streptococ
Glucosyltransferase-S (GTF-S) (EC 2.4.1.5) (Dextransu	Streptococ
C5a peptidase (EC 3.4.21.110) (SCP)	Streptococ
Fructan beta-fructosidase (EC 3.2.1.80) (Exo-beta-D-f	Streptococ
Fructan beta-fructosidase (EC 3.2.1.80) (Exo-beta-D-f	Streptococ
Enolase 1 (EC 4.2.1.11) (2-phospho-D-glycerate hydr	Streptomy