



UNIVERSIDADE
CATÓLICA | INSTITUTO DE
PORTUGUESA | CIÊNCIAS DA SAÚDE

INTERACTOMA DA CAVIDADE ORAL EM CÁRIE DENTÁRIA

Dissertação apresentada à Universidade Católica Portuguesa

Para obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

Por:

Miguel José Paulino dos Santos

Viseu, 2014



UNIVERSIDADE
CATÓLICA | INSTITUTO DE
PORTUGUESA | CIÊNCIAS DA SAÚDE

INTERACTOMA DA CAVIDADE ORAL EM CÁRIE DENTÁRIA

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

Por:

Miguel José Paulino dos Santos

Sob orientação do Professor Doutor Nuno Rosa

Co-Orientador: Professora Doutora Marlene Barros

Viseu, 2014

“The man who cannot believe in himself cannot believe in anything else. The basis of all integrity and character is whatever faith we have in our own integrity.”

Roy L. Smith

Agradecimentos

Ao meu orientador, Professor Doutor Nuno Rosa,
Pela sua paciência e capacidade de ensinar e coordenar trabalhos.

À Professora Doutora Maria José Correia,
Pela sua disponibilidade, simpatia e motivação ao longo deste caminho.

À Professora Doutora Marlene Barros,
Pela franqueza, organização e empenho, tentando sempre colocar tudo e todos num bom caminho.

Ao meu Pai e à minha Mãe,
Por todos os sacrifícios feitos e pela força que me transmitiram ao longo desta etapa.

Aos meus avós,
Por todos os investimentos feitos em mim, para me tornar a pessoa que sou hoje.

Às minhas tias,
Por me terem tratado como o filho que nunca tiveram.

Aos meus amigos,
Por me terem feito sorrir em momentos de desespero e meterem motivado a seguir sempre com os meus sonhos.

Aos meus colegas de casa,
Por me terem feito sentir acolhido e por toda a força ao longo do curso.

Ao meu cão,
Por me ter acompanhado a vida toda como um fiel amigo.

À música,
Por me ter ajudado a manter a sanidade mental e a tranquilidade.

Nota prévia

Durante este trabalho é possível de verificar a existência de termos na língua Inglesa. A tradução desses termos não foi feita propositamente, com o intuito de manter o seu significado original. Deste modo, evitam-se perdas de significado ou ambiguidades aquando a classificação das proteínas de acordo com o seu sistema ontológico.

Índice

NOTA PRÉVIA	IX
1. INTRODUÇÃO E ENQUADRAMENTO TEÓRICO.....	1
1.1. DEFINIÇÃO DE CÁRIE DENTÁRIA	1
1.2. CARACTERÍSTICAS DO ESMALTE	3
1.3. PREVALÊNCIA	4
1.4. MICROBIOLOGIA DA CÁRIE DENTÁRIA.....	4
1.5. SALIVA COMO MEIO DE DIAGNÓSTICO	6
1.6. PROTEÍNAS SALIVARES	6
1.7. ASPETOS MOLECULARES	7
1.8. FERRAMENTAS BIOINFORMÁTICAS	8
2. OBJETIVOS.....	11
3. MATERIAIS E MÉTODOS	13
3.1. ATUALIZAÇÃO DO PROTEOMA ORAL DE CÁRIES DENTÁRIAS.....	13
3.2. INTERACTOMA ORAL EM CÁRIES DENTÁRIAS	15
3.2.1. <i>Determinação do Interactoma Oral de Cáries Dentária.....</i>	<i>15</i>
3.2.2. <i>Visualização do Interactoma</i>	<i>16</i>
3.2.3. <i>Caracterização Funcional do Interactoma em Cáries Dentárias</i>	<i>17</i>
3.2.3.1. <i>Associação a Ontologias Génicas.....</i>	<i>17</i>
3.2.3.2. <i>Construção das Tabelas Funcionais</i>	<i>20</i>
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	25
4.1. ATUALIZAÇÃO DO PROTEOMA ORAL DE CÁRIES DENTÁRIAS.....	25
4.2. INTERACTOMA ORAL EM CÁRIES DENTÁRIAS	27
4.2.1. DETERMINAÇÃO DO INTERACTOMA ORAL DE CÁRIES DENTÁRIAS.....	27
4.2.2. VISUALIZAÇÃO DO INTERACTOMA	31
4.2.3. CARATERIZAÇÃO FUNCIONAL DO INTERACTOMA EM CÁRIES DENTÁRIA	32
4.2.3.1 ASSOCIAÇÃO A ONTOLOGIAS GÉNICAS	32
5.2.3.1 CONSTRUÇÃO DAS TABELAS FUNCIONAIS	38
6.2.3.1 ANÁLISE FUNCIONAL DAS INTERACÇÕES PREVISTAS	41
5. CONCLUSÃO	47
6. BIBLIOGRAFIA	49
7. ANEXOS	57

Índice de figuras

FIGURA 1: ILUSTRAÇÃO SIMPLIFICADA DE QUAIS OS FACTORES QUE SÃO NECESSÁRIOS PARA A FORMAÇÃO DE UMA LESÃO CÁRIOSAS.....	5
FIGURA 2: PORÇÃO DA TABELA DO ORAL CARD PARA CÁRIES DENTÁRIAS APÓS O PREENCHIMENTO DA MESMA.	14
FIGURA 3: EXEMPLO DE COMO SE CONVERTE O CÓDIGO GI DE UMA PROTEÍNA PARA O CÓDIGO UNIPROTKB AC. RECORRENDO À FERRAMENTA DE <i>MAPPING</i> DO UNIPROT.	14
FIGURA 4: EXEMPLO DE COMO SE CHEGOU AO NOME/ORGANISMO DAS PROTEÍNAS QUE NÃO SE ENCONTRAVAM EXPLICITAS NOS ARTIGOS ANALISADOS.	15
FIGURA 5: EXEMPLO DA INFORMAÇÃO ORGANIZADA NAS TRÊS TABELAS ELABORADAS QUE POSTERIORMENTE SERÃO UTILIZADAS PARA A VISUALIZAÇÃO DO INTERACTOMA (ESTAS TABELAS SERÃO EXPOSTAS EM PORMENOR POSTERIORMENTE COM OS RESULTADOS).....	16
FIGURA 6: FERRAMENTA A SELECIONAR INICIALMENTE NO AgBASE	17
FIGURA 7: APÓS SELECIONAR A FERRAMENTA GORETRIEVER É NECESSÁRIO ESCOLHER O TIPO DE CÓDIGO DA PROTEÍNAS QUE VAMOS IMPORTAR NO AgBASE PARA CHEGAR AOS RESULTADOS PRETENDIDOS.	18
FIGURA 8: FERRAMENTA A SELECIONAR APÓS RECEBERMOS OS RESULTADOS PROVENIENTES DO GORETRIEVER	18
FIGURA 9: OPÇÃO A SELECIONAR NO GOSLIMVIEWER.....	19
FIGURA 10: FERRAMENTAS DO EXCEL SELECIONADAS PARA A ELABORAÇÃO DOS GRÁFICOS APRESENTADOS NOS RESULTADOS EM 4.2.3.1.	19
FIGURA 11: FERRAMENTAS DO EXCEL SELECIONADAS PARA A ELABORAÇÃO DA TABELA DINÂMICA.	20
FIGURA 12: JANELA DO EXCEL NA QUAL SE PODE SELECIONAR A TABELA PRETENDIDA PARA A CRIAÇÃO DA TABELA DINÂMICA (NESTE CASO FOI SELECIONADA A TABELA IMPORTADA DO AgBASE).....	21

FIGURA 13: EXCERTO DA TABELA CONSTRUÍDA EM QUE SE ENCONTRAM DISCRIMINADOS TODOS OS PROCESSOS BIOLÓGICOS ESPECÍFICOS IDENTIFICADOS, O NÚMERO DE PROTEÍNAS ENVOLVIDAS EM CADA UM DOS PROCESSOS E OS CÓDIGOS DESSAS MESMAS PROTEÍNAS À FRENTE.	21
FIGURA 14: EXEMPLO DE FÓRMULA UTILIZADA PARA IDENTIFICAR SE UMA PROTEÍNA SE ENCONTRA OU NÃO PRESENTE EM DETERMINADO PROCESSO BIOLÓGICO.	22
FIGURA 15: EXCERTO DA TABELA FUNCIONAL CONSTRUÍDA EM QUE SE ENCONTRAM DISCRIMINADOS TODOS OS PROCESSOS BIOLÓGICOS ESPECÍFICOS E TODAS AS PROTEÍNAS IDENTIFICADAS, PARA AS QUAIS FOI APLICADA A FÓRMULA APRESENTADA NA FIGURA 14.	22
FIGURA 16: PORÇÃO DA TABELA DO ORAL CARD PARA CÁRIES DENTÁRIAS APÓS O PREENCHIMENTO DA MESMA QUE SE ENCONTRA ANEXADA EM CD-R (TABELA A).	25
FIGURA 17: REPRESENTAÇÃO DA REDE DE INTERAÇÕES IDENTIFICADA, UTILIZANDO O SOFTWARE CYTOSCAPE. ENCONTRAM-SE REPRESENTADAS A ROXO AS PROTEÍNAS MICROBIANAS, A AZUL AS PROTEÍNAS HUMANAS QUE INTERAGEM COM <i>STRPTOCOCCUS MUTANS</i> , A VERDE AS PROTEÍNAS HUMANAS QUE INTERAGEM COM <i>STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE</i> E A VERMELHO AS PROTEÍNAS HUMANAS QUE INTERAGEM COM AMBAS AS PROTEÍNAS (<i>STREPTOCOCCUS MUTANS</i> E <i>STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE</i>).	31

Índice de tabelas

TABELA 1: TODOS OS PARES DE INTERACÇÃO IDENTIFICADOS COM ORALINT. 27	27
TABELA 2: TODAS AS PROTEÍNAS (HUMANAS E MICROBIANAS) PRESENTES NOS PARES DE INTERACÇÃO.	28
TABELA 3 - TODAS AS PROTEÍNAS (HUMANAS E MICROBIANAS) PRESENTES NOS PARES DE INTERACÇÃO COM OS RESPECTIVOS NOMES E ORGANISMOS AO QUAL CORRESPONDEM	30
TABELA 4 - TABELA COM TODOS OS PROCESSOS BIOLÓGICOS ESPECÍFICOS E O NUMERO DE PROTEÍNAS HUMANAS INTERVENIENTES NOS MESMOS.	33
TABELA 5: TABELA COM TODOS OS PROCESSOS BIOLÓGICOS ESPECÍFICOS E O NUMERO DE PROTEÍNAS MICROBIANAS INTERVENIENTES NOS MESMOS.	34
TABELA 6: TABELA COM TODOS OS PROCESSOS BIOLÓGICOS ESPECÍFICOS E PROTEÍNAS MICROBIANAS DISCRIMINADOS NOS QUAIS ESTÁ IDENTIFICADO COM “+” AS CORRESPONDÊNCIAS ENTRE AMBOS.....	38
TABELA 7 - TABELA COM TODOS OS PROCESSOS BIOLÓGICOS ESPECÍFICOS E PROTEÍNAS HUMANAS DISCRIMINADOS NOS QUAIS ESTÁ IDENTIFICADO COM “+” AS CORRESPONDÊNCIAS ENTRE AMBOS.....	40
TABELA 8 - TABELA COM PROTEÍNAS HUMANAS IMPORTADA PARA O EXCEL APÓS A UTILIZAÇÃO DA FERRAMENTA GO SLIMVIEWER DO AGBASE.....	69
TABELA 9 - TABELA COM PROTEÍNAS MICROBIANAS IMPORTADA PARA O EXCEL APÓS A UTILIZAÇÃO DA FERRAMENTA GO SLIMVIEWER DO AGBASE.....	ERRO!
MARCADOR NÃO DEFINIDO.	
TABELA 10 - TABELA DINÂMICA COM TODOS OS PROCESSOS BIOLÓGICOS ESPECÍFICOS E AS RESPECTIVAS PROTEÍNAS HUMANAS RESPONSÁVEIS PELOS MESMOS	76
TABELA 11 - TABELA DINÂMICA COM TODOS OS PROCESSOS BIOLÓGICOS ESPECÍFICOS E AS RESPECTIVAS PROTEÍNAS MICROBIANAS RESPONSÁVEIS PELOS MESMOS.	77

Índice de Gráficos

GRÁFICO 1: GRÁFICO COM TODOS OS PROCESSOS BIOLÓGICOS DAS
PROTEÍNAS MICROBIANAS E O NÚMERO DE PROTEÍNAS ENVOLVIDAS EM CADA UM
DELES.35

GRÁFICO 2 - GRÁFICO COM TODOS OS PROCESSOS BIOLÓGICOS DAS
PROTEÍNAS HUMANAS E O NÚMERO DE PROTEÍNAS ENVOLVIDAS EM CADA UM DELES.
.....36

Lista de abreviaturas

GO	Gene ontology
MesH	Medical subjects headings
UniProtKBAC	Universal Protein Knowledgebase Accession Code
JAC	Junção amelo-cementária
bPrP	Basic Proline-Rich Protein
aPrP	Acidic proline-rich protein
HSA	Human serum albumin
gPRP	Glycine-proline-rich
SigA	RNA polymerase major sigma factor SigA
IgG	Immunoglobulin G
PPI	Interações proteína-proteína
DNA	Ácido desoxirribonucleico

Resumo

Objetivo: 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 cárie dentária.

Enquadramento: A cavidade oral é um ecossistema complexo refletindo as interações moleculares estabelecidas entre proteínas do hospedeiro e proteínas produzidas pelo microbiota que o coloniza, tanto em estados de saúde como em diversas patologias.

É amplamente reconhecido o papel fulcral que o microbiota oral desempenha na etiologia da cárie dentária. Contudo, não se conhecem ainda a maioria dos intervenientes moleculares que medeiam esta ação. Para 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 interatuantes, ou seja, o interactoma hospedeiro-microbiota em cárie dentária. Assim, o grupo de Biomedicina Computacional da UCP juntamente com o grupo de Bioinformática da UA e do Centro de Informática e Sistemas da Universidade de Coimbra desenvolveu a primeira ferramenta dedicada à cavidade oral, o Oralint que utiliza a informação molecular reunida no OralCard para gerar estes interactomas.

Metodologia: Identificar os microrganismos alterados na cárie dentária e fazer o levantamento das proteínas produzidas por eles. Atualizar a informação relativa às proteínas humanas alteradas na cárie dentária. As proteínas identificadas serão incluídas no OralCard e submetidas ao Oralint de modo a estabelecer o interactoma hospedeiro-microbiota na cárie dentária. Os resultados obtidos serão interpretados e discutidos à luz da fisiopatologia da cárie dentária.

Expectativas: Atualizar o OralCard relativamente a proteínas humanas e microbianas relacionadas com cárie dentária. Estabelecer pela primeira vez o interactoma hospedeiro-microbiota oral na cárie dentária e, assim, contribuir para o esclarecimento dos mecanismos moleculares alterados no hospedeiro como consequência da ação dos microrganismos que colonizam a cavidade oral.

Palavras-chave: proteínas da cavidade oral, OralOme, interações proteína-proteína, interatômica, cárie dentária.

Abstract

Objective: Determine and interpret the pathophysiological point of view, the set of interactions between microbial and host proteins in the oral cavity, in the context of dental caries.

Framework: The oral cavity is a complex ecosystem that reflects the molecular interactions established between host proteins and proteins produced by microorganisms which colonize this system. This is true not only in health but also in several diseases.

The pivotal role that oral microbiota plays in the etiology of dental caries is widely recognized. However, many of the molecular players that mediate this action are still unknown. In order to clarify this role, we must not only identify the molecules involved but also the molecular mechanisms in which they participate.

The bioinformatic tools play an important role in this task by providing the means for establish the pairs of interacting proteins, or the host- microbial interactome in tooth decay. In this sense, the group of Computational Biomedicine PCU in partnership with the Bioinformatics group of the AU and the Center for Informatics and Systems of University of Coimbra developed the first tool of its kind dedicated to the oral cavity , the Oralint using molecular information gathered in OralCard to generate these interactomas .

Methodology: Identify organisms changed in tooth decay and mapping of the protein produced by them. Update the information on the altered proteins in human dental caries. The identified proteins are included in OralCard and submitted to Oralint to establish the microbiota - host interactome in tooth decay. The results will be interpreted and discussed in the light of the pathophysiology of dental caries.

Expectations: Update the OralCard with information relating to human and microbial proteins related to dental caries. First establish the interactome oral host- microbiota in tooth decay and thus contribute to the elucidation of the molecular mechanisms altered in the host as a result of the action of microorganisms that colonize the oral cavity.

Keywords: proteins of the oral cavity, OralOme, protein-protein interactions, inter-atomic, dental caries.

1. Introdução e enquadramento teórico

1.1. Definição de Cárie Dentária

A Cárie dentária é, ainda hoje uma das doenças mais comuns que afeta pessoas em todo o mundo, tem uma natureza multifatorial que abrange o acúmulo de biofilme, a exposição a açúcares e flúor e os fatores biológicos e sociais (1).

Cárie é atualmente, a doença mais comum da nossa civilização, afetando cerca de 95% da população, abrangendo todas as faixas etárias. É uma doença muito difícil de erradicar por completo devido a ser uma interação complexa de fatores biológicos, hábitos alimentares, *status social*, entre outros (2).

Embora raramente, esta patologia, pode levar a estados médicos dramáticos. A cárie dentária pode ser uma das causas de muitas desordens no corpo humano, como por exemplo, distúrbios no sistema gastrointestinal, que a longo prazo podem causar alterações irreversíveis na mucosa do estômago e intestinos (3).

A invasão da cárie dentária para a polpa abre a porta para a invasão bacteriana do corpo do indivíduo, podendo causar várias doenças, tais como a osteomielite, osteíte, vários tipos de abscessos, fleimão e septicemia (4, 5).

Segundo a morfologia dentária, o local mais comum para o início das lesões de cárie dentária são nas profundezas dos sulcos, foças e fissuras do esmalte. Isto é esperado porque estes lugares são impossíveis de alcançar com uma escova de dentes e as bactérias conseguem manter-se nesse local. Quando ocorre desmineralização do esmalte dos dentes, o médico dentista pode utilizar um instrumento afiado, tal como uma sonda exploradora, e sentir a tração típica deste tipo de lesão no local da cavidade. Como o esmalte continua a tornar-se menos mineralizado e é incapaz de impedir uma invasão de bactérias, a dentina acaba por ficar, igualmente, afetada. Quando a dentina, que suporta, habitualmente, o esmalte, é destruída por uma condição fisiológica ou pela decadência, o esmalte é incapaz compensar a sua fragilidade e quebra (6).

Açúcares provenientes de doces, refrigerantes e até mesmo frutas podem desempenhar um papel significativo na cárie dentária. A boca contém um grande número e variedade de bactérias, e quando a sacarose, o mais comum dos açúcares, entra em contacto com os tecidos da cavidade oral, algumas bactérias intraorais interagem com ela formando ácido láctico, o que diminui o pH da boca. Em seguida, os cristais de hidroxapatite do esmalte desmineralizam, permitindo uma maior invasão bacteriana no dente. A bactéria mais importante envolvida com cárie dentária é a *Streptococcus mutans*, mas o número e o tipo de bactérias varia com o avanço da destruição dentária (7).

Contrariamente à crença comum, não é a quantidade de açúcar ingerida, mas sim a frequência de ingestão de açúcar que é o fator mais importante na formação de cárie dentária. Quando o pH na boca diminui a partir da ingestão de açúcares, o esmalte desmineralizado é vulnerável durante cerca de 30 minutos. Comer uma maior quantidade de açúcar durante essa sessão não aumenta o tempo de desmineralização. Do mesmo modo que, comer uma menor quantidade de açúcar numa sessão não diminui o tempo de desmineralização. Sendo assim, se se consumir uma grande quantidade de açúcar numa hora durante o dia é menos prejudicial do que uma quantidade muito pequena, ingerida em muitos intervalos durante o dia todo (8).

Outros processos que não envolvem bactérias e destroem o esmalte incluem: atrição (por exemplo, bruxismo), abrasão (envolvendo elementos externos, tais como escovas), a erosão (que envolve processos químicos, tais como alimentos ácidos) e abfração (envolvendo forças de compressão e tração) (9).

1.2. Características do Esmalte

O Esmalte dentário é o tecido mais resistente e também o mais mineralizado do corpo. É o componente dos dentes que é normalmente visto (em situações normais) e é suportado pela dentina. Aproximadamente 96% do esmalte é composto por minerais, o restante é composto de água e materiais orgânicos (10).

A coloração usual do esmalte dentário varia entre o amarelo claro ao branco acinzentado. Nas extremidades dentárias, onde não há dentina subjacente ao esmalte, a cor às vezes pode ser levemente azulada. O esmalte é um tecido translúcido onde a cor da dentina reparadora e/ou qualquer material abaixo do esmalte dentário afeta significativamente a sua aparência. A espessura varia ao longo da superfície dentária e frequentemente é mais espessa nas cúspides e mais fina na junção amelo-cementária.

O mineral integrante da estrutura do esmalte é a hidroxiapatite (forma cristalizada do fosfato de cálcio). Ao contrário da dentina e do tecido ósseo, o esmalte não contém colagénio na sua composição. As proteínas que integram a estrutura do tecido são: a enamelinina e a amelogenina (11).

A unidade básica do esmalte é chamada *prisma*, medindo de 4 µm a 8µm de diâmetro, um prisma de esmalte é um pequeno agrupamento compacto de hidroxiapatite, constituído por cristais com um arranjo complexo. O padrão da sua formação é mediado através dos ameloblastos (células que iniciam a formação do esmalte) e dos processos de Tomes (prolongação do ameloblasto que secreta esmalte) (10).

Em dentes permanentes, os prismas de esmalte próximos da junção amelo-cementária (JAC) inclinam-se levemente em direção à raiz do dente. Entender a orientação destes prismas é muito importante para a ontologia, principalmente quando se vai fazer um reparo ou restauração, pois o esmalte que não tenha dentina subjacente torna-se muito mais vulnerável à formação de fraturas (12).

1.3. Prevalência

Quando as taxas de cárie dentária são analisadas por sexo, as mulheres apresentam normalmente, taxas de prevalência mais elevadas em relação aos homens. Tal facto é transversal a várias culturas e gerações. A prevalência de cárie superior nas mulheres é muitas vezes explicada por um de três fatores: erupção mais acelerada dos dentes nas crianças do sexo feminino, logo, maior tempo de exposição dos dentes ao meio oral cariogénico; lanches frequentes; e a gravidez (13).

A composição bioquímica da saliva e a taxa de fluxo salivar são modificados de várias maneiras, nomeadamente por flutuações hormonais durante eventos como a puberdade, menstruação e gravidez, tornando o ambiente oral significativamente mais cariogénico para as mulheres do que para os homens. Estes resultados sugerem que as flutuações hormonais podem ter um efeito dramático sobre a saúde oral das mulheres, e constituem um importante fator causal para explicar as diferenças entre sexos no que diz respeito aos índices de cárie (14).

A prevalência de cárie dentária não tratada em estudos recentes encontra-se na ordem de 48,2% e encontra-se ainda mais aumentada em indivíduos de raça negra e jovens de famílias de baixo rendimento (15).

1.4. Microbiologia da Cárie Dentária

A boca é colonizada por entre 200 e 300 espécies bacterianas, mas apenas um número limitado destas espécies participa na formação da cárie dentária.

A cárie dentária forma-se devido à solubilização irreversível do mineral dos dentes após o contacto destes com o ácido produzido por certas bactérias que aderem à superfície dos mesmos, sendo conhecidas como a placa bacteriana. A cárie dentária resulta de uma mudança dentro da comunidade do biofilme específico existente na superfície do dente (16).

A bactéria *Streptococcus mutans* é a produtora de ácido mais comum em cárie, contudo não se encontra sempre presente (17).

Compreender o funcionamento destas espécies individualmente e como um complexo é um assunto de extrema importância para o desenvolvimento de novas intervenções para esta patologia oral (18).

Como já foi referido anteriormente, em estudos de microbiologia a espécie encontrada predominantemente, foi efetivamente a *Streptococcus mutans*, no entanto também existem outras espécies, como *S. salivarius*, *S. sobrinus* e *S. parasanguinis* que se apresentaram com valores elevados nesta patologia contribuindo, desta forma, para a formação de cáries. Outros estudos também indicam que os *lactobacilos* se encontram associados, no entanto, pensa-se estarem mais ligados à progressão da lesão (19).

A superfície do dente, normalmente perde parte da sua constituição mineral a partir da ação do ácido formado por bactérias da placa, após a ingestão de alimentos que contenham hidratos de carbono fermentáveis (20). Este mineral é normalmente repostado pela saliva entre as refeições. No entanto, quando os alimentos fermentáveis são consumidos com frequência, o baixo pH da placa torna-se sustentado, ocorrendo um défice mineral do dente. Esta quebra do nível de pH influencia os organismos, como *S. mutans* e *lactobacilos*, a secretar ácido durante muito tempo depois do alimento ter sido ingerido, formando assim, a cárie (21, 22).

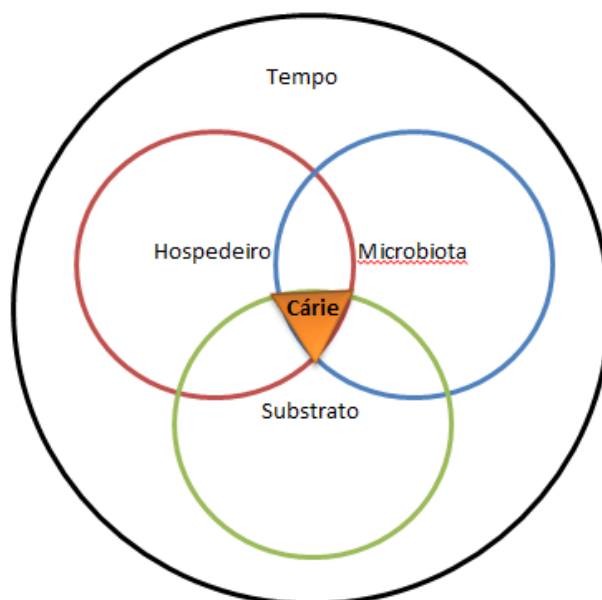


Figura 1: Ilustração simplificada de quais os factores que são necessários para a formação de uma lesão cáriesa.

1.5. Saliva como meio de diagnóstico

A saliva tem-se tornado, cada vez mais, um meio de diagnóstico fiável e passível de ser utilizado para fins de diagnóstico como para trabalhos de investigação.

A utilização deste meio de diagnóstico não-invasivo oferece não só facilidade e rapidez na sua recolha, como também permite identificar várias proteínas que podem ter especial importância para o diagnóstico final (23).

Com este tipo de diagnóstico o risco de contaminação através da colheita é mínimo, o que demonstra especial eficácia em crianças não-colaborantes, quando em comparação com os meios de diagnóstico utilizados habitualmente, como por exemplo as amostras de sangue (24).

Diagnósticos salivares estão agora a entrar no campo da Dentisteria Operatória moderna, embora não exista nenhum teste disponível que seja tão específico e sensível para o diagnóstico de cárie a partir de amostras de saliva. Os testes atuais são úteis para estimar a atividade de cárie, devido a: maus hábitos alimentares (*Lactobacilos*), presença de infeção (*S. mutans*) e identificação de leveduras salivares, com o objetivo de determinação o estado de saúde do paciente (25).

Estes testes, isoladamente ou em combinação, são de fácil realização, pelo que se constituem como práticas a serem seguidas na atividade clínica da medicina dentária.

1.6. Proteínas salivares

Por dia são produzidos cerca de 1000mL de saliva contendo vários grupos proteicos como mucinas, bPrP, amilase, aPrP, cistainas, HSA, gPRP, slgA, IgG, estaterinas, estatinas, entre outras (26, 27). Várias condições fisiológicas ou patológicas podem alterar a sua presença quer a nível de quantidade como de qualidade. Contudo, a saliva que pode ser recolhida numa amostra do meio oral (*Whole Saliva*), para além de conter estas proteínas também é possível encontrar vestígios de outros componentes do meio oral, como produtos microbianos ou proteínas presentes no sangue,

que por difusão, transporte ativo ou filtração, passam para a cavidade oral.

Deste modo, é possível encontrar proteínas diferentes das que se encontram na Whole Saliva, por exemplo, quando se recolhe uma amostra salivar de uma glândula (14).

Em suma, pode-se afirmar que a recolha de saliva pode ser realizada quer no meio oral, quer de uma forma mais dirigida nas glândulas secretoras de saliva.

1.7. Aspetos moleculares

A cavidade oral é um ecossistema complexo, onde compostos químicos humanos coexistem com vários tipos de microrganismos. No entanto, as mudanças na composição normal do microbiota podem resultar no aparecimento de doenças orais, tais como a periodontite e cárie dentária (28).

Sabe-se que a colonização microbiana da cavidade oral, é mediada através de interações proteína-proteína (PPI) entre o hospedeiro e os microrganismos. No entanto, estes tipos de PPI's ainda se encontram, em grande parte desconhecidos. Para elucidar essas interações, existem métodos de previsão computacional que permitem a obtenção de um primeiro modelo da interatômica oral humana-microbiana (29).

A compreensão destes mecanismos, tem especial importância em situações fisiopatológicas como é o caso da cárie dentária, pois não só ajuda a compreender os mecanismos existentes nestes sistemas de interações, como também, futuramente, a encontrar possíveis meios de prevenção e controlo da patologia.

A maioria dos produtos genéticos das células humanas interage, pelo menos transitoriamente, com outras moléculas proteicas. Virtualmente, todos os eventos celulares, tais como a transdução de sinal, o transporte intracelular, a replicação de DNA, a transcrição, a tradução, o *splicing*, a secreção, o controlo do ciclo celular e o metabolismo intermediário, são mediadas através de interações proteína-proteína, o mesmo aplica-se a

sistemas de patógeno-hospedeiro, onde PPI's são essenciais para o estabelecimento e controlo da infecção (30).

Os domínios de ligação de proteínas que interagem revelam afinidade estrutural e físico-química com um elevado grau de conservação associada.

Tal facto, torna-se ainda mais evidente na medida em que, proteínas homólogas interagem frequentemente da mesma forma (31).

Acredita-se que estas PPI's, não só estejam envolvidas no aparecimento de doenças bucais infecciosas, mas também de potenciais-alvos de fármacos e biomarcadores (32).

1.8. Ferramentas Bioinformáticas

As ferramentas bioinformáticas são sistemas de dados biológicos derivados de diversos experimentos gerando dados quantitativos e qualitativos.

Uma dessas ferramentas é o *OralCard*, o qual reúne todos os dados de proteómica existentes até à atualidade de diversas patologias (33).

O *OralCard* é uma ferramenta que possibilita ao utilizador aceder a múltiplos estudos de proteómica dirigidos e colocados numa base de dados restrita a estudos salivares conhecida como *OralOme*. Importa referir que todos os estudos incluídos nesta base de dados são selecionados a partir da literatura já existente (34).

Para auxiliar a atualização do *OralCard* é necessário, em alguns casos, recorrer a uma ferramenta designada *UniProt* (Universal Protein Resource) que fornece um acesso fácil às anotações existentes das proteínas (35, 36).

Em associação com o *OralCard* normalmente é utilizada outra ferramenta, o *OralInt*, a qual fornece, a listagem das interações entre proteínas, prevendo desta forma os pares de interação entre as proteínas presentes no *OralCard* (30).

Com os dados que cujo acesso pode ser conseguido, recorrendo à ferramenta *OralCard* e ao *OralInt*, é possível a realização de uma análise funcional dessas mesmas proteínas. Para o efeito, existe a ferramenta

AgBase, a qual providencia dados de genómica de animais, plantas, bactérias e parasitas (37).

O *AgBase* disponibiliza mais de 590240 ontologias génicas (GO), associadas a cerca de 64 espécies diferentes. Uma das ferramentas presentes é o *GORetriever*, a qual analisa os produtos genéricos com anotações em ontologias genéticas. Uma outra ferramenta disponível é o *GOSlimViewer*, que fornece uma análise qualitativa da informação, retribuído a associação de proteínas a ontológicas génicas a um nível mais elevado, permitindo resumir de uma forma mais interpretativa os dados obtidos (38).

Por fim, para facilitar a análise de dados, recorreu-se a um *software* designado de *Cytoscape* o qual nos fornece uma visualização das redes de interação biomolecular (39).

2. Objetivos

Nesta dissertação pretende-se realizar uma atualização do *OralCard*, de forma a posteriormente proceder ao estudo *in silico* dos dados de proteómica, que neste se encontram presentes, assim como aos dados de interactómica gerados pelo *Orallnt*. Constituem-se como objetivos gerais desta dissertação:

- Revisão de literatura até à atualidade dos estudos de proteómica da cavidade oral em cárie dentária;
- Atualização manual do *OralCard* com a informação recolhida;
- Realização da análise *in silico* da informação recolhida, recorrendo a ferramentas bioinformáticas;
- Seleção das possíveis proteínas humanas e microbianas de interesse para a análise interatómica à luz da fisiopatologia da cárie dentária;
- Análise individual das interações previstas pelo *Orallnt*, focando-se nas alterações moleculares e funcionais.

3. Materiais e métodos

3.1. Atualização do Proteoma Oral de Cáries Dentárias

Inicialmente, com o intuito de atualizar a informação relativa ao proteoma oral em cáries dentárias e consequente atualização do *OralCard*, foi realizada uma pesquisa utilizando o motor de busca Pubmed com os termos “caries + proteom*” obtendo 42 resultados de pesquisa. Destes 42, apenas foram integrados no estudo os únicos que correspondiam a estudos de proteómica, nos quais foram identificadas as proteínas humanas/microbianas presentes em cárie dentária.

No decorrer da pesquisa necessária para esta dissertação, não foram discriminados quaisquer tipos de amostras de saliva pois, como já foi mencionado, as proteínas encontradas num tipo de amostra podem não ser encontradas noutra, não invalidando desta forma, a qualidade da amostra recolhida, nem influenciando os resultados.

Com o auxílio dos artigos encontrados (40-43), foi manualmente anotada a informação relativa às proteínas identificadas. Esta informação permitiu preencher a tabela correspondente ao Oraloma das Cáries Dentárias (**Tabela A**), na qual se encontra discriminado para cada proteína o seu código UniProtKBAC, o nome da mesma, o organismo à qual pertence, de onde foram feitas as recolhas para a identificação das proteínas (Parótida, saliva, língua, etc), se as amostras foram recolhidas em indivíduos saudáveis ou não, o nome da doença em que foram encontradas (neste caso foram todas em Cárie Dentária), o código MeSH da doença, caso existam dados de regulação estes também foram incluídos (com o intuito de se poder encontrar um possível biomarcador), a faixa etária/género/hábitos sociais dos grupos de amostra para cada artigo, o método de recolha da amostra, o método de análise e tipo de estudo e código NCBI do artigo. A Figura 2 exemplifica os tipos de informação anotada manualmente a partir da bibliografia recolhida.

UniProtKB AC	Name	Orgar	Paroi	Paroi+Exose	SMIS	Minc	Whol-Saliv	Crevis-ar Fil	Muco	Tong	Biofil	In Vit	Heal	Unobese (OMI)	Disease (MeSH)	Regula	Age gr	Gend	Social Hab	Method of	Methods Analysis	Type of Study	Ref
Q00594	Ribonuclease T2 (EC 3)	Homo sapi	x											x	Jental Carie	68003731	+	Elderly			Ductal part Pooled aliq	Proteomics	
Q14773	Tripeptidyl-peptidase 1	Homo sapi	x											x	Jental Carie	68003731	+	Elderly			Ductal part Pooled aliq	Proteomics	
P01036	Cystatin-S (Cystatin-4)	Homo sapi	x											x	Jental Carie	68003731	+	Elderly			Ductal part Pooled aliq	Proteomics	
P01625	Ig kappa chain V-IH reg Homo sapi		x											x	Jental Carie	68003731	+	Elderly			Ductal part Pooled aliq	Proteomics	
P02763	Alpha-1-acid glycoprot	Homo sapi	x											x	Jental Carie	68003731	+	Elderly			Ductal part Pooled aliq	Proteomics	
P07339	Cathepsin D (EC 3.4.23)	Homo sapi	x											x	Jental Carie	68003731	+	Elderly			Ductal part Pooled aliq	Proteomics	
P03211	Glutathione S-transfera	Homo sapi	x											x	Jental Carie	68003731	+	Elderly			Ductal part Pooled aliq	Proteomics	
P11021	78 kDa glucose-regulat	Homo sapi	x											x	Jental Carie	68003731	+	Elderly			Ductal part Pooled aliq	Proteomics	
P12109	Collagen alpha-1(VI) ch	Homo sapi	x											x	Jental Carie	68003731	+	Elderly			Ductal part Pooled aliq	Proteomics	
P12110	Collagen alpha-2(VI) ch	Homo sapi	x											x	Jental Carie	68003731	+	Elderly			Ductal part Pooled aliq	Proteomics	
P55058	Phospholipid transfer p	Homo sapi	x											x	Jental Carie	68003731	+	Elderly			Ductal part Pooled aliq	Proteomics	
Q04695	Keratin, type I cytoskele	Homo sapi	x											x	Jental Carie	68003731	+	Elderly			Ductal part Pooled aliq	Proteomics	
Q14515	SPARC-like protein 1(H	Homo sapi	x											x	Jental Carie	68003731	+	Elderly			Ductal part Pooled aliq	Proteomics	
P01024	Complement C3 (C3 an	Homo sapi	x											x	Jental Carie	68003731		Elderly			Ductal part Pooled aliq	Proteomics	
P01034	Cystatin-C (Cystatin-3)	Homo sapi	x											x	Jental Carie	68003731		Elderly			Ductal part Pooled aliq	Proteomics	
P01037	Cystatin-SN (Cystatin-S	Homo sapi	x											x	Jental Carie	68003731		Elderly			Ductal part Pooled aliq	Proteomics	
P01040	Cystatin-A (Cystatin-A5	Homo sapi	x											x	Jental Carie	68003731		Elderly			Ductal part Pooled aliq	Proteomics	
P01591	Immunoglobulin J chain	Homo sapi	x											x	Jental Carie	68003731		Elderly			Ductal part Pooled aliq	Proteomics	
P01593	Ig kappa chain V-I regic	Homo sapi	x											x	Jental Carie	68003731		Elderly			Ductal part Pooled aliq	Proteomics	
P01596	Ig kappa chain V-I regic	Homo sapi	x											x	Jental Carie	68003731		Elderly			Ductal part Pooled aliq	Proteomics	
P01614	Ig kappa chain V-II regic	Homo sapi	x											x	Jental Carie	68003731		Elderly			Ductal part Pooled aliq	Proteomics	
P01620	Ig kappa chain V-II regic	Homo sapi	x											x	Jental Carie	68003731		Elderly			Ductal part Pooled aliq	Proteomics	
P01703	Ig lambda chain V-I regic	Homo sapi	x											x	Jental Carie	68003731		Elderly			Ductal part Pooled aliq	Proteomics	
P01766	Ig heavy chain V-II regic	Homo sapi	x											x	Jental Carie	68003731		Elderly			Ductal part Pooled aliq	Proteomics	
P01833	Polymeric immunoglob	Homo sapi	x											x	Jental Carie	68003731		Elderly			Ductal part Pooled aliq	Proteomics	
P01876	Ig alpha-1 chain C regic	Homo sapi	x											x	Jental Carie	68003731		Elderly			Ductal part Pooled aliq	Proteomics	

Figura 2: Porção da Tabela do Oral Card para Cáries Dentárias após o preenchimento da mesma.

Após concluída a pesquisa, constatou-se que nem todas as proteínas identificadas nos artigos selecionados se encontravam de acordo com os termos pretendidos para o preenchimento da tabela do OralCard. Por esta razão, mostrou-se pertinente o recurso à ferramenta de *mapping* do UniProt para converter o código de algumas proteínas (pois nem todos os artigos utilizam o código UniProtKB AC) (Figura 3).

Em alguns casos, o nome do microrganismo produtor de determinada proteína também não se encontra presente, deste modo, recorreu-se igualmente às ferramentas fornecidas pelo UniProt (Figura 4).

UniProt Jobs

Search Blast Align Retrieve **ID Mapping**

Database identifiers: 113774

or file: Procurar... Nenhum ficheiro selecionado.

From: GI number* [Map]

To: UniProtKB AC [Swap] [Clear]

1 out of 1 IDENTIFIER mapped to 1 identifier in the TARGET data set

DOWNLOAD the mapping table or target list | UniProtKB (1)

From	To
113774	P04747

Page 1 of 1

Figura 3: Exemplo de como se converte o código GI de uma proteína para o código UniProtKB AC. Recorrendo à ferramenta de *mapping* do Uniprot.

UniProt > UniProtKB

Search Blast * Align Retrieve ID Mapping *

Search in: Protein Knowledgebase (UniProtKB) Query: P04747 Search Advanced Search » Clear

P04747 (AMY3_HORVU) ★ Reviewed, [UNIPROTKB](#)/Swiss-Prot
 Last modified October 16, 2013. Version 94. [History...](#)

Clusters with 100%, 90%, 50% identity | Documents (2) | Third-party data

Names · Attributes · General annotation · Ontologies · Sequence annotation · Sequences · References · Cross-refs · Entry in

Names and origin

Protein NAMES	<i>Recommended name:</i> Alpha-amylase type B isozyme EC=3.2.1.1 <i>Alternative name(s):</i> 1,4-alpha-D-glucan glucanohydrolase Clone PHV19
Gene names	Name: AMY1.3
Organism	Hordeum vulgare (Barley)
Taxonomic identifier	4513 [NCBI]
Taxonomic lineage	Eukaryota > Viridiplantae > Streptophyta > Embryophyta > Tracheophyta > Spermatophyta > Magnoliophyta >

Figura 4: Exemplo de como se chegou ao nome/organismo das proteínas que não se encontravam explicitas nos artigos analisados.

3.2. Interactoma Oral em Cáries Dentárias

3.2.1. Determinação do Interactoma Oral de Cáries Dentária

Após esta recolha de informação as proteínas encontradas foram sujeitas à ferramenta *Orallnt* para prever o interactoma oral humano-microbiano.

Feita a análise destes resultados, foram elaboradas três tabelas: uma com todos os pares de interação encontrados, uma outra apenas com as proteínas humanas separadas das proteínas microbianas presentes nesses processos e uma última com todas as proteínas, na qual se encontra discriminado o código UniProt, o nome e o organismo de cada proteína.

	A	B	C	D	E	F	G	H	I
1	Micro	Human		Micro	Human		Protein	Name	Organism
2	Q8DUL2	P01009		Q8DUL2	P01009		P01009	Serpin A1	Homo sapiens (Human)
3	P95829	P02768		P95829	P02768		P02768	Serum albumin	Homo sapiens (Human)
4	Q8DUL2	Q8TDL5		Q8TDL5	Q8TDL5		Q8TDL5	Long palate, lung and nasal epithelium carcinoma-associated protein 1	Homo sapiens (Human)
5	Q8DUL2	P01024		P01024	P01024		P01024	Complement C3 (C3 and PZP-like alpha-2-macroglobulin factor)	Homo sapiens (Human)
6	Q8DUL2	P15924		P15924	P15924		P15924	Desmoplakin	Homo sapiens (Human)
7	Q8DUL2	Q9UGM3		Q9UGM3	Q9UGM3		Q9UGM3	Deleted in malignant brain tumors 1 protein (Glycoprotein)	Homo sapiens (Human)
8	Q8DUL2	P04406		P04406	P04406		P04406	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase	Homo sapiens (Human)
9	P95829	P04406		P13646	P13646		P13646	Keratin, type I cytoskeletal 13 (Cytokeratin-13) (CK-13) (Keratin)	Homo sapiens (Human)
10	P95829	P13646		P08779	P08779		P08779	Keratin, type I cytoskeletal 16	Homo sapiens (Human)
11	Q8DUL2	P08779		P13647	P13647		P13647	Keratin, type II cytoskeletal 5 (58 kDa cyokeratin) (Cytokeratin)	Homo sapiens (Human)
12	Q8DUL2	P13647		P26038	P26038		P26038	Moesin	Homo sapiens (Human)
13	Q8DUL2	P26038		P26038	P26038		P26038	Moesin	Homo sapiens (Human)
14	P95829	P26038		Q9HC84	Q9HC84		Q9HC84	Mucin-5B	Homo sapiens (Human)
15	Q8DUL2	Q9HC84		P22079	P22079		P22079	Lactoperoxidase (LPO) (EC 1.11.1.7) (Salivary peroxidase)	Homo sapiens (Human)
16	P95829	Q9HC84		P05164	P05164		P05164	Myeloperoxidase	Homo sapiens (Human)
17	Q8DUL2	P22079		Q08188	Q08188		Q08188	Protein-glutamine gamma-glutamyltransferase E (EC 2.3.1.18)	Homo sapiens (Human)
18	Q8DUL2	P05164					Q8DUL2	Putative NADP-specific glutamate dehydrogenase	Streptococcus mutans serotype 14
19	Q8DUL2	Q08188					P95829	DnaK protein	Streptococcus pneumoniae
20	Interactoma Caries			Proteínas do Interact					
21									

Figura 5: Exemplo da informação organizada nas três tabelas elaboradas que posteriormente serão utilizadas para a visualização do Interactoma (estas tabelas serão expostas em pormenor posteriormente com os resultados)

3.2.2 Visualização do Interactoma

Feita a análise das tabelas elaboradas no âmbito da determinação do Interactoma Oral da patologia em estudo foi possível construir uma imagem na qual se encontram todos os pares de interações que foram identificados, recorrendo às ferramentas do *software Cytoscape*, dando assim, uma noção visual dos acontecimentos descritos anteriormente nas tabelas e fornecendo uma melhor compreensão de todas as interações em estudo.

3.2.3 Caracterização Funcional do Interactoma em Cáries Dentárias

3.2.3.1. Associação a Ontologias Génicas

Depois de identificadas as possíveis interações entre as proteínas encontradas, foi realizada uma análise funcional de cada uma delas, com o intuito de apurar de que modo as proteínas produzidas pelos microrganismos influenciam as proteínas humanas no contexto das cáries dentárias.

Posto isto, as proteínas foram separadas em dois grupos: as proteínas humanas e as proteínas microbianas, com o objetivo de facilitar a sua análise.

Esta análise funcional recorreu ao programa *AgBase* onde foram colocadas separadamente as proteínas humanas e microbianas encontradas utilizando inicialmente a ferramenta *Go Retriever*.

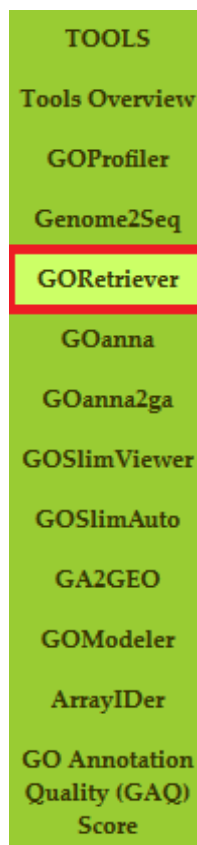


Figura 6: Ferramenta a seleccionar inicialmente no AgBase

A ferramenta *GORetriever* tem como função, a recuperação das anotações GO existentes para uma lista de proteínas. O arquivo de entrada é

um arquivo de texto que contem os acessos às proteínas, separadas por um intervalo de retorno / linha.

Dentro da função *GORetriever*, foi selecionado o tipo *UniProt Accession* e transferido o arquivo em formato texto correspondente às proteínas humanas. De seguida, foram fornecidas várias opções de pesquisa, de entre as quais foi selecionada a referente ao *GO Summary file (for use in GOSlimViewer)*, recebendo desta forma, um novo ficheiro em formato texto para introdução na ferramenta *GOSlimViewer*.

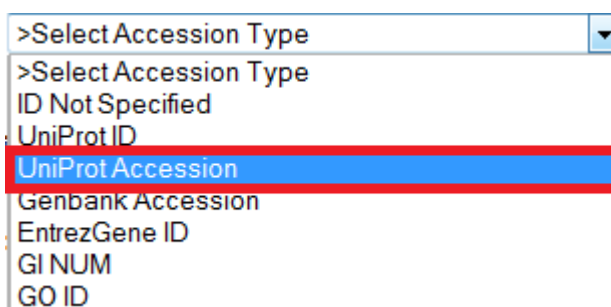


Figura 7: Após selecionar a ferramenta *GORetriever* é necessário escolher o tipo de código da proteínas que vamos importar no AgBase para chegar aos resultados pretendidos.

A ferramenta *GOSlimViewer* é utilizada para fornecer um resumo de alto nível de funções para um conjunto de dados. A saída de dados pode ser mapeada no Excel e é de salientar que os registos sem anotação não são analisados pelo *GOSlimViewer*

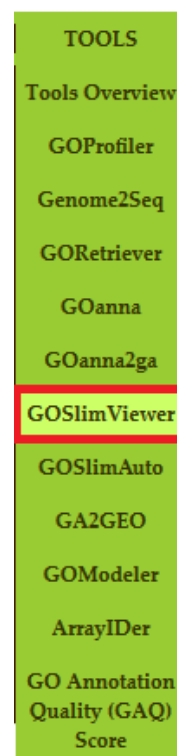


Figura 8: Ferramenta a selecionar após recebermos os resultados provenientes do *GORetriever*

Este ficheiro, foi posteriormente, introduzido na ferramenta *GOSlimViewer* do *AGBase* recorrendo às predefinições genéricas que se encontram já pré-seleccionadas por defeito.

Deste modo, é novamente obtido, um ficheiro em formato de texto, no qual se encontram discriminadas todas as proteínas, entre as quais são conhecidas interações, bem como os respetivos processos biológicos nas quais estas estão envolvidas.

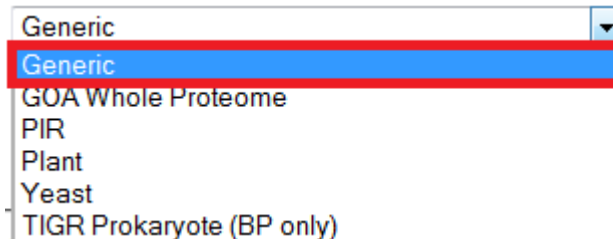


Figura 9: Opção a seleccionar no *GOSlimViewer*

Com os resultados obtidos foi, novamente, possível a construção de um gráfico para cada um dos tipos de proteínas (microbianas e humanas) nas quais, para cada processo biológico, conseguimos observar o número de proteínas envolvidas nesse mesmo processo.

Este gráfico tem como base as tabelas apresentadas, onde foi possível quantificar o número de proteínas envolvidas em cada um dos processos (Figura 10).

The image shows the Microsoft Excel interface with the 'Inserir' (Insert) ribbon selected. The ribbon includes options for 'Coluna' (Columns), 'Linha' (Rows), 'Circular', 'Barras', 'Área', 'Dispersão', 'Outros Gráficos', 'Linha', 'Coluna', 'Perda/Ganho', 'Segmentação de Dados', 'Hiperligação', 'Caixa de Texto & Rodapé', and 'Objecto'. Below the ribbon, a table titled 'Tabela Funcional Humanas' is visible. The table has columns G through U. The first column (G) lists biological processes, and the second column (H) lists the number of proteins (Nº). The table is partially highlighted with a red box.

Processo Biológico	Nº	Proteínas																		
aging	1	P05164																		
anatomical structure development	8	P01024	P08779	P13646	P13647	P15924	P26038	Q08188	Q9UGM3											
anatomical structure formation involved in morphogenesis	1	P01024																		
biological process	15	P01009	P01024	P02768	P04406	P05164	P08779	P13646	P13647	P15924	P22079	P26038	Q08188	Q8TDL5						
biosynthetic process	4	P01024	P04406	P05164	Q9HC84															
carbohydrate metabolic process	2	P04406	Q9HC84																	
catabolic process	3	P04406	P05164	P22079																
cell adhesion	2	P15924	P26038																	
cell death	4	P02768	P04406	P05164	P15924															
cell differentiation	4	P15924	P26038	Q08188	Q9UGM3															
cell junction organization	2	P13647	P15924																	
cell motility	2	P08779	P26038																	
cell proliferation	2	P08779	Q9UGM3																	
cellular component assembly	1	P13647																		
cellular protein modification process	5	P01024	P04406	P15924	Q08188	Q9HC84														
circulatory system process	1	P15924																		

Figura 10: Ferramentas do Excel seleccionadas para a elaboração dos gráficos apresentados nos resultados em 4.2.3.1.

3.2.3.2. Construção das Tabelas Funcionais

Os resultados obtidos do AgBase, foram importados para uma tabela do Excel, com o intuito de se elaborar uma tabela dinâmica, onde se encontram discriminadas as proteínas encontradas e os respetivos processos biológicos a elas associados. Esta tabela foi elaborada recorrendo às ferramentas do próprio Excel.

	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M
1		Rótulos de Linha		Processo Biológico	Nº					
2		aging		aging	1	P05164				
3		P05164		anatomical structure development	8	P01024	P08779	P13646	P13647	P15924
4		anatomical structure development		anatomical structure formation involved in morphogenesis	1	P01024				
5		P01024		biological process	15	P01009	P01024	P02768	P04406	P05164
6		P08779		biosynthetic process	4	P01024	P04406	P05164	Q9HC84	
7		P13646		carbohydrate metabolic process	2	P04406	Q9HC84			
8		P13647		catabolic process	3	P04406	P05164	P22079		
9		P15924		cell adhesion	2	P15924	P26038			
10		P26038		cell death	4	P02768	P04406	P05164	P15924	
11		Q08188		cell differentiation	4	P15924	P26038	Q08188	Q9UGM3	
12		Q9UGM3		cell junction organization	2	P13647	P15924			
13		anatomical structure formation involved in morphogenesis		cell motility	2	P08779	P26038			
14		P01024		cell proliferation	2	P08779	Q9UGM3			
15		biological process		cellular component assembly	1	P13647				
16		P01009		cellular protein modification process	5	P01024	P04406	P15924	Q08188	Q9HC84
17		P01024		circulatory system process	1	P15924				

Figura 11: Ferramentas do Excel selecionadas para a elaboração da tabela dinâmica.

Após selecionadas as ferramentas descritas anteriormente, surge uma janela na qual podemos selecionar a zona pretendida para a elaboração da tabela dinâmica. Neste caso, foi escolhida a tabela importada do AgBase.

No entanto, nem todos os campos foram incorporados, apenas foram utilizados os campos correspondentes aos códigos UniProt e aos processos biológicos específicos.

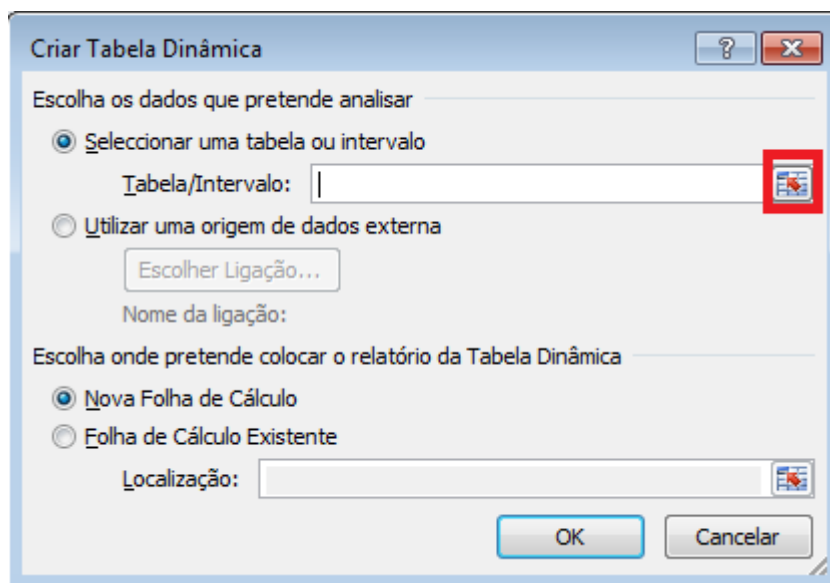


Figura 12: Janela do Excel na qual se pode seleccionar a tabela pretendida para a criação da tabela dinâmica (neste caso foi seleccionada a tabela importada do AgBase).

Posteriormente, com essa tabela dinâmica, realizou-se um levantamento das proteínas envolvidas em cada um dos processos biológicos construindo-se assim uma nova tabela, em que à frente de cada processo biológico específico se apresentam todas as proteínas em que se verificou essa interação.

	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q	R	S	T	U
1	Processo Biológico	Nº	Proteínas												
2	aging	1	P05164												
3	anatomical structure development	8	P01024	P08779	P13646	P13647	P15924	P26038	Q08188	Q9UGM3					
4	anatomical structure formation involved in morphogenesis	1	P01024												
5	biological process	15	P01009	P01024	P02768	P04406	P05164	P08779	P13646	P13647	P15924	P22079	P26038	Q08188	Q8TDL5
6	biosynthetic process	4	P01024	P04406	P05164	Q9HC84									
7	carbohydrate metabolic process	2	P04406	Q9HC84											
8	catabolic process	3	P04406	P05164	P22079										
9	cell adhesion	2	P15924	P26038											
10	cell death	4	P02768	P04406	P05164	P15924									
11	cell differentiation	4	P15924	P26038	Q08188	Q9UGM3									
12	cell junction organization	2	P13647	P15924											
13	cell motility	2	P08779	P26038											
14	cell proliferation	2	P08779	Q9UGM3											
15	cellular component assembly	1	P13647												
16	cellular protein modification process	5	P01024	P04406	P15924	Q08188	Q9HC84								
17	circulatory system process	1	P15924												
18	cytoskeleton organization	4	P04406	P08779	P13646	P15924									
19	embryo development	1	Q9UGM3												
20	generation of precursor metabolites and energy	1	P04406												
21	growth	2	P05164	Q9UGM3											
22	homeostatic process	1	P02768												
23	immune system process	6	P01024	P04406	P05164	P26038	Q8TDL5	Q9UGM3							

Figura 13: Excerto da tabela construída em que se encontram discriminados todos os processos biológicos específicos identificados, o número de proteínas envolvidas em cada um dos processos e os códigos dessas mesmas proteínas à frente.

Em seguida, recorrendo a fórmulas do Excel, construiu-se uma tabela funcional, na qual estão descritos todos os processos biológicos, bem como cada uma das proteínas presentes em cada um dos processos.

=SE(É.ERRO(PROCH(B\$1;ResumoPB!\$G2:\$AAA2;1;0));"";"+")

Figura 14: Exemplo de fórmula utilizada para identificar se uma proteína se encontra ou não presente em determinado processo biológico.

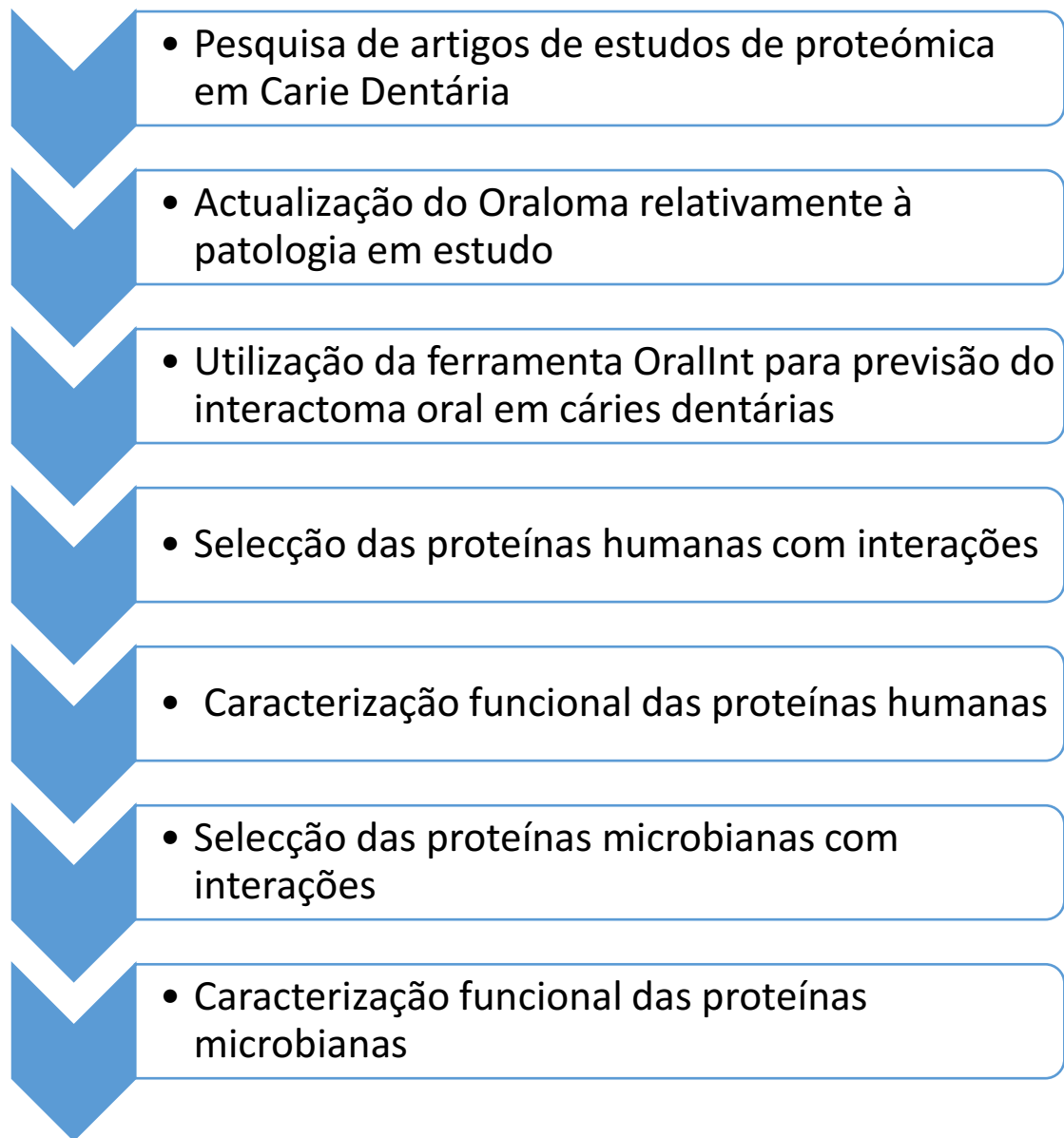
De uma forma geral, esta fórmula procura cada proteína (neste caso a proteína presente em B1 da tabela criada) na tabela apresentada na Figura 15 e caso essa proteína se encontre presente á frente do processo biológico (neste caso presente em G2 da Figura 13) esta célula do Excel fica assinalada com um “+”, caso isto não se verifique, a célula fica em branco.

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P
1	UniprotKBAC	P01009	P01024	P02768	P04406	P05164	P08779	P13646	P13647	P15924	P22079	P26038	Q08188	Q8TDL5	Q9HC84	Q9UGM3
4	GoSlimOntology															
5	aging					+										
6	anatomical struc		+				+	+	+	+		+	+			+
7	anatomical struc		+													
8	biological_proce	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
9	biosynthetic pro		+		+	+									+	
10	carbohydrate me				+										+	
11	catabolic process				+	+					+					
12	cell adhesion								+			+				
13	cell death			+	+	+				+						
14	cell differentiati									+		+	+			+
15	cell junction org								+	+						
16	cell motility						+					+				
17	cell proliferation						+									+
18	cellular compone								+							
19	cellular protein r		+		+					+			+		+	
20	circulatory syste									+						
21	cytoskeleton org				+		+	+		+						
22	embryo develop															+
23	generation of pr				+											
24	growth					+										+
25	homeostatic pro			+												

Figura 15: Excerto da tabela funcional construída em que se encontram discriminados todos os processos biológicos específicos e todas as proteínas identificadas, para as quais foi aplicada a fórmula apresentada na Figura 14.

Importa referir que os procedimentos descritos a partir de 3.2.3 até ao fim dos materiais e métodos, foram realizados, tanto para as proteínas microbianas como para as proteínas humanas. Não obstante, como a sua metodologia foi a mesma, não é pertinente descrever dois procedimentos equivalentes.

Fluxograma



4. Resultados e discussão

4.1. Atualização do Proteoma Oral de Cáries Dentárias

Com os resultados obtidos, referentes aos estudos de proteômica na pesquisa efetuada, foi possível acrescentar ao OralCard, um total de 313 proteínas, sendo 267 humanas e 46 microbianas. Através desta expansão da base de dados, cumpriu-se um dos objetivos desta dissertação, a atualização do OralCard.

A tabela referente a todas as proteínas identificadas (humanas e microbianas), não é passível de ser incorporada no documento físico desta dissertação, pelo que, para motivos de consulta da mesma, esta deve ser consultada recorrendo ao anexo que se encontra em formato de CD-R com o nome: **Tabela A**.

O segundo objetivo deste trabalho, é a identificação de pares de interação com estas proteínas já encontradas.

Devido à falta de estudos de interatômica em Cárie Dentária, não foi possível identificar muitos pares de interação como se pode observar na **Tabela 1**. No entanto, os que foram identificados foram devidamente analisados e descritos nesta dissertação.

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q	R	S
1	UniProtK ^R AC	Name	Orgar	Paroi	Paroi- Exosc	SM/E	Minc	Whol- Saliv	Creiv- ar Flu	Muco	Tong	Biofil	In Vit	Heal	Disease (OMI ID)	Disease (MeSH ID)	Regula	Age gr	Gend
2	O00584	Ribonuclease T2 (EC 3.1.1.1)	Homo sapi	x										x	Dental Carie	68003731	+	Elderly	
3	O14773	Tripeptidyl-peptidase 1	Homo sapi	x										x	Dental Carie	68003731	+	Elderly	
4	P01036	Cystatin-S (Cystatin-4)	Homo sapi	x										x	Dental Carie	68003731	+	Elderly	
5	P01625	Ig kappa chain V-IV reg	Homo sapi	x										x	Dental Carie	68003731	+	Elderly	
6	P02763	Alpha-1-acid glycoprot	Homo sapi	x										x	Dental Carie	68003731	+	Elderly	
7	P07339	Cathepsin D (EC 3.4.23.1)	Homo sapi	x										x	Dental Carie	68003731	+	Elderly	
8	P03211	Glutathione S-transferase	Homo sapi	x										x	Dental Carie	68003731	+	Elderly	
9	P11021	78 kDa glucose-regulat	Homo sapi	x										x	Dental Carie	68003731	+	Elderly	
10	P12109	Collagen alpha-1(VI) ch	Homo sapi	x										x	Dental Carie	68003731	+	Elderly	
11	P12110	Collagen alpha-2(VI) ch	Homo sapi	x										x	Dental Carie	68003731	+	Elderly	
12	P55058	Phospholipid transfer pi	Homo sapi	x										x	Dental Carie	68003731	+	Elderly	
13	Q04695	Keratin, type I cytoskele	Homo sapi	x										x	Dental Carie	68003731	+	Elderly	
14	Q14515	SPARC-like protein 1H	Homo sapi	x										x	Dental Carie	68003731	+	Elderly	
15	P01024	Complement C3 (C3 ani)	Homo sapi	x										x	Dental Carie	68003731		Elderly	
16	P01034	Cystatin-C (Cystatin-3)	Homo sapi	x										x	Dental Carie	68003731		Elderly	
17	P01037	Cystatin-SN (Cystatin-S)	Homo sapi	x										x	Dental Carie	68003731		Elderly	
18	P01040	Cystatin-A (Cystatin-A)	Homo sapi	x										x	Dental Carie	68003731		Elderly	
19	P01591	Immunoglobulin J chain	Homo sapi	x										x	Dental Carie	68003731		Elderly	
20	P01593	Ig kappa chain V-I regic	Homo sapi	x										x	Dental Carie	68003731		Elderly	
21	P01596	Ig kappa chain V-I regic	Homo sapi	x										x	Dental Carie	68003731		Elderly	
22	P01614	Ig kappa chain V-II regic	Homo sapi	x										x	Dental Carie	68003731		Elderly	
23	P01620	Ig kappa chain V-III regi	Homo sapi	x										x	Dental Carie	68003731		Elderly	
24	P01703	Ig lambda chain V-I regi	Homo sapi	x										x	Dental Carie	68003731		Elderly	
25	P01766	Ig heavy chain V-III regi	Homo sapi	x										x	Dental Carie	68003731		Elderly	
26	P01833	Polymeric immunoglobu	Homo sapi	x										x	Dental Carie	68003731		Elderly	
27	P01876	Ig alpha-1 chain C regio	Homo sapi	x										x	Dental Carie	68003731		Elderly	

Figura 16: Porção da Tabela do Oral Card para Cáries Dentárias após o preenchimento da mesma que se encontra anexada em CD-R (Tabela A).

Todos os resultados provenientes dos artigos foram anotados nesta tabela.

Um dos grandes interesses do preenchimento e atualização do OralCard, é anotar os índices de variação existentes em cada proteína na doença relativamente a indivíduos saudáveis (**Figura 16**, coluna “*regulation*”), de forma ser possível investigar e prever possíveis biomarcadores para estudos futuros nesta área. No entanto, dentro dos estudos de proteômica realizados até ao momento, são escassos os que continham valores relativamente às variações destas proteínas, dificultando deste modo, a identificação de possíveis biomarcadores para futuros estudos.

4.2. Interactoma Oral em Cáries Dentárias

4.2.1. Determinação do Interactoma Oral de Cáries Dentárias

Como descrito nos Materiais e Métodos após a filtragem das proteínas utilizando a ferramenta OralInt foram identificados os seguintes pares de interação vistos na Tabela 1.

Tabela 1: Todos os pares de interacção identificados com OralInt.

Micro	Human
Q8DUL2	P01009
P95829	P02768
Q8DUL2	Q8TDL5
Q8DUL2	P01024
Q8DUL2	P15924
Q8DUL2	Q9UGM3
Q8DUL2	P04406
P95829	P04406
P95829	P13646
Q8DUL2	P08779
Q8DUL2	P13647
Q8DUL2	P26038
P95829	P26038
Q8DUL2	Q9HC84
P95829	Q9HC84
Q8DUL2	P22079
Q8DUL2	P05164
Q8DUL2	Q08188

O objetivo da construção desta tabela é quantificar o número de pares de interação existentes nas proteínas identificadas.

Por cada linha apresentada encontra-se um par de interação, ou seja, no total foram identificados 18 pares de interação, podendo estes, envolver ou não, as mesmas proteínas humanas e microbianas. Em cada coluna, está apresentado o código UniProt para cada proteína desses mesmos pares de interação.

Em seguida foi construída a **Tabela 2**, baseada na **Tabela 1** na qual apenas se apresentam as proteínas presentes nos pares de interação, com o

intuito de saber quantas proteínas, quer humanas quer microbianas, existem nestes pares de interação, visto que para a mesma proteína microbiana/humana pode existir várias correspondências.

A tabela apresentada em baixo mostra todas as proteínas presentes nas interações identificadas na tabela anterior, discriminando, desta vez, os pares de interação, na qual conseguimos identificar 2 proteínas microbianas e 16 humanas.

Tabela 2: Todas as proteínas (Humanas e Microbianas) presentes nos pares de interação.

Micro	Human
Q8DUL2	P01009
P95829	P02768
	Q8TDL5
	P01024
	P15924
	Q9UGM3
	P04406
	P13646
	P08779
	P13647
	P26038
	P26038
	Q9HC84
	P22079
	P05164
	Q08188

Está descrito por cada linha, o código *UniProt* das proteínas. Na coluna da esquerda encontram-se apenas proteínas microbianas, enquanto na coluna da direita estão apenas expostas as proteínas humanas.

Não foi possível encontrar muitos pares de interação, devido à falta de dados de proteómica sobre esta patologia. No entanto, já é um pequeno avanço na compreensão da mesma.

Por último, na tabela apresentada a baixo (**Tabela 3**), foram colocadas as proteínas humanas e microbianas juntas, com o acréscimo dos nomes das mesmas bem como o organismo a que correspondem.

É de salientar que, praticamente todas as proteínas identificadas são proteínas humanas. Apenas duas proteínas são microbianas: a *Putative NADP-specific glutamate dehydrogenase* pertencente à bactéria *Streptococcus mutans serotype c* e a *DnaK protein* pertencente à bactéria *Streptococcus pneumoniae serotype 4*.

Tabela 3 - Todas as proteínas (Humanas e Microbianas) presentes nos pares de interação com os respectivos nomes e organismos ao qual correspondem

Protein	Name	Organism
P01009	Serpin A1	Homo sapiens (Human)
P02768	Serum albumin	Homo sapiens (Human)
Q8TDL5	Long palate, lung and nasal epithelium carcinoma-associated protein 1	Homo sapiens (Human)
P01024	Complement C3 (C3 and PZP-like alpha-2-macroglobulin domain-containing protein 1) [Cleaved into: Complement C3 beta chain; Complement C3 alpha chain; C3a anaphylatoxin; Acylation stimulating protein (ASP) (C3adesArg); Complement C3b alpha' chain; Complement C3c alpha' chain fragment 1; Complement C3dg fragment; Complement C3g fragment; Complement C3d fragment; Complement C3f fragment; Complement C3c alpha' chain fragment 2]	Homo sapiens (Human)
P15924	Desmoplakin	Homo sapiens (Human)
Q9UGM3	Deleted in malignant brain tumors 1 protein (Glycoprotein 340) (Gp-340) (Hensin) (Salivary agglutinin) (SAG) (Surfactant pulmonary-associated D-binding protein)	Homo sapiens (Human)
P04406	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase	Homo sapiens (Human)
P13646	Keratin, type I cytoskeletal 13 (Cytokeratin-13) (CK-13) (Keratin-13) (K13)	Homo sapiens (Human)
P08779	Keratin, type I cytoskeletal 16	Homo sapiens (Human)
P13647	Keratin, type II cytoskeletal 5 (58 kDa cytokeratin) (Cytokeratin-5) (CK-5) (Keratin-5) (K5) (Type-II keratin Kb5)	Homo sapiens (Human)
P26038	Moesin	Homo sapiens (Human)
P26038	Moesin	Homo sapiens (Human)
Q9HC84	Mucin-5B	Homo sapiens (Human)
P22079	Lactoperoxidase (LPO) (EC 1.11.1.7) (Salivary peroxidase) (SPO)	Homo sapiens (Human)
P05164	Myeloperoxidase	Homo sapiens (Human)
Q08188	Protein-glutamine gamma-glutamyltransferase E (EC 2.3.2.13) (Transglutaminase E) (TG(E)) (TGE) (TGase E) (Transglutaminase-3) (TGase-3) [Cleaved into: Protein-glutamine gamma-glutamyltransferase E 50 kDa catalytic chain; Protein-glutamine gamma-glutamyltransferase E 27 kDa non-catalytic chain]	Homo sapiens (Human)
Q8DUL2	Putative NADP-specific glutamate dehydrogenase	Streptococcus mutans serotype c (strain ATCC 700610 / UA159)
P95829	DnaK protein	Streptococcus pneumoniae serotype 4

4.2.2. Visualização do Interactoma

Após a utilização das ferramentas do *Software Cytoscape* é possível a construção de uma imagem de todas as interações entre as proteínas humanas e microbianas identificadas.

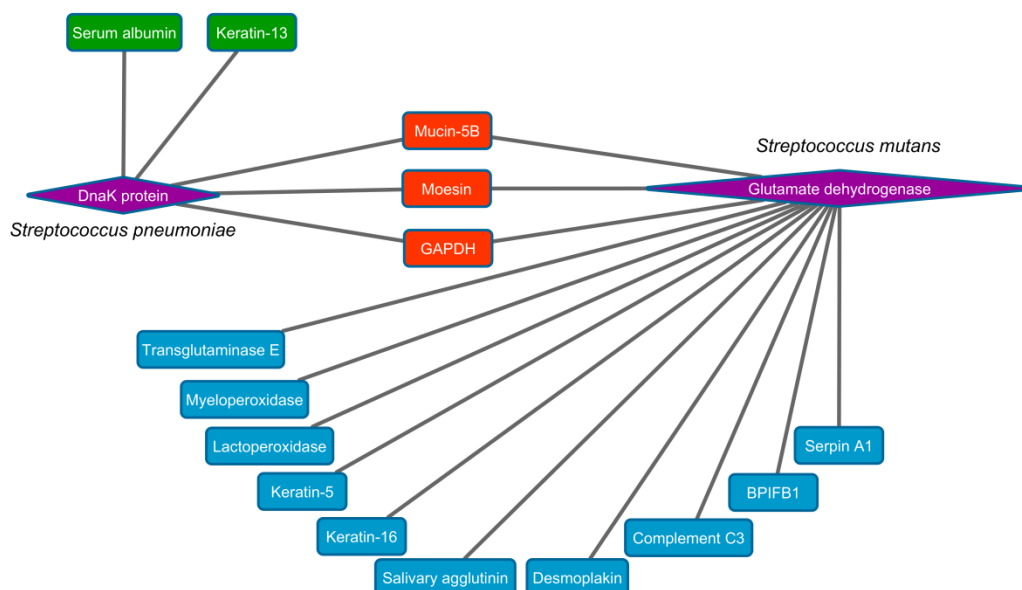


Figura 17: Representação da rede de interações identificada, utilizando o software Cytoscape. Encontram-se representadas a roxo as proteínas microbianas, a azul as proteínas humanas que interagem com *Streptococcus mutans*, a verde as proteínas humanas que interagem com *Streptococcus pneumoniae* e a vermelho as proteínas humanas que interagem com ambas as proteínas (*Streptococcus mutans* e *Streptococcus pneumoniae*).

Analisando a **Figura 17**, é verificável que, de todas as proteínas humanas (representadas a azul, vermelho e verde), existem duas que interagem com a proteína microbiana *DnaK protein* (representadas com a cor verde), dez que interagem com a proteína microbiana *Glutamate dehydrogenase* (representadas a azul) e três proteínas (representadas a vermelho) que interagem com ambas as proteínas.

Estas interações serão descritas e especificadas, posteriormente em 4.2.3.3.

4.2.3. Caracterização funcional do Interactoma em Cáries Dentária

4.2.3.1 Associação a ontologias génicas

Após se ter recorrido às ferramentas do *AgBase*, passando pelo *GoRetriever* e *GoSlimViewer*, os dados foram importados para o Excel, como é descrito nos Materiais e Métodos no sector 3.2.3.2, obtendo-se a tabela correspondente às proteínas Humanas (**Tabela 8**).

Nesta tabela é possível verificar todas as proteínas Humanas identificadas nos pares de interação em Cárie Dentária e os respetivos processos biológicos pelos quais são responsáveis. De entre os quais, à esquerda se encontram os processos biológicos gerais e à direita os processos biológicos mais específicos.

O mesmo procedimento foi realizado para as proteínas Microbianas obtendo-se uma nova tabela. (**Tabela 9**).

Dado o facto de terem sido identificadas poucas proteínas Humanas e Microbianas o estudo foi dirigido para os processos biológicos mais pormenorizados pois, deste modo, pode ser alcançada uma caracterização mais específica para cada proteína.

Seguindo a metodologia descrita anteriormente (3.2.3.1), foi possível a elaboração da seguinte tabela dinâmica para as proteínas Humanas (**Tabela 10**) e microbianas (**Tabela 11**) que se encontram em anexo.

Como é possível verificar, em ambas as tabelas dinâmicas conseguimos visualizar todos os processos biológicos em que as proteínas identificadas intervêm, bem como os códigos de cada uma dessas proteínas.

Com estes resultados foi possível quantificar o número de proteínas envolvidas em cada processo biológico para cada tipo de proteína (Humana e Microbiana).

Deste modo, foram construídas as seguintes tabelas, de forma a ser possível quantificar o número de proteínas envolvidas em cada processo e facilitar a discussão posterior do estudo.

Tabela 4 - Tabela com todos os processos biológicos específicos e o numero de proteínas Humanas intervenientes nos mesmos.

Processo Biológico	Nº de Proteínas
Aging	1
anatomical structure development	8
anatomical structure formation involved in morphogenesis	1
biological_process	15
biosynthetic process	4
carbohydrate metabolic process	2
catabolic process	3
cell adhesion	2
cell death	4
cell differentiation	4
cell junction organization	2
cell motility	2
cell proliferation	2
cellular component assembly	1
cellular protein modification process	5
circulatory system process	1
cytoskeleton organization	4
embryo development	1
generation of precursor metabolites and energy	1
Growth	2
homeostatic process	1
immune system process	6
lipid metabolic process	2
Locomotion	2
neurological system process	1
protein complex assembly	1
protein maturation	2
response to stress	9
signal transduction	3
small molecule metabolic process	5
sulfur compound metabolic process	1
symbiosis, encompassing mutualism through parasitism	3
Translation	1
transmembrane transport	1
Transport	4
vesicle-mediated transport	4

Tabela 5: Tabela com todos os processos biológicos específicos e o numero de proteínas microbianas intervenientes nos mesmos.

Processo Biológico	Nº
cellular amino acid metabolic process	1
oxidation-reduction process	1
protein folding	1
response to stress	1

Através da utilização das tabelas apresentadas em cima, referentes à quantificação do número de proteínas para cada um dos processos biológicos, foi possível elaborar um gráfico, quer para as proteínas humanas, quer para as proteínas microbianas, fornecendo uma forma mais simples de interpretação e análise de dados, onde se pode observar quais os processos em que existem mais proteínas envolvidas de entre os pares de interação identificados.

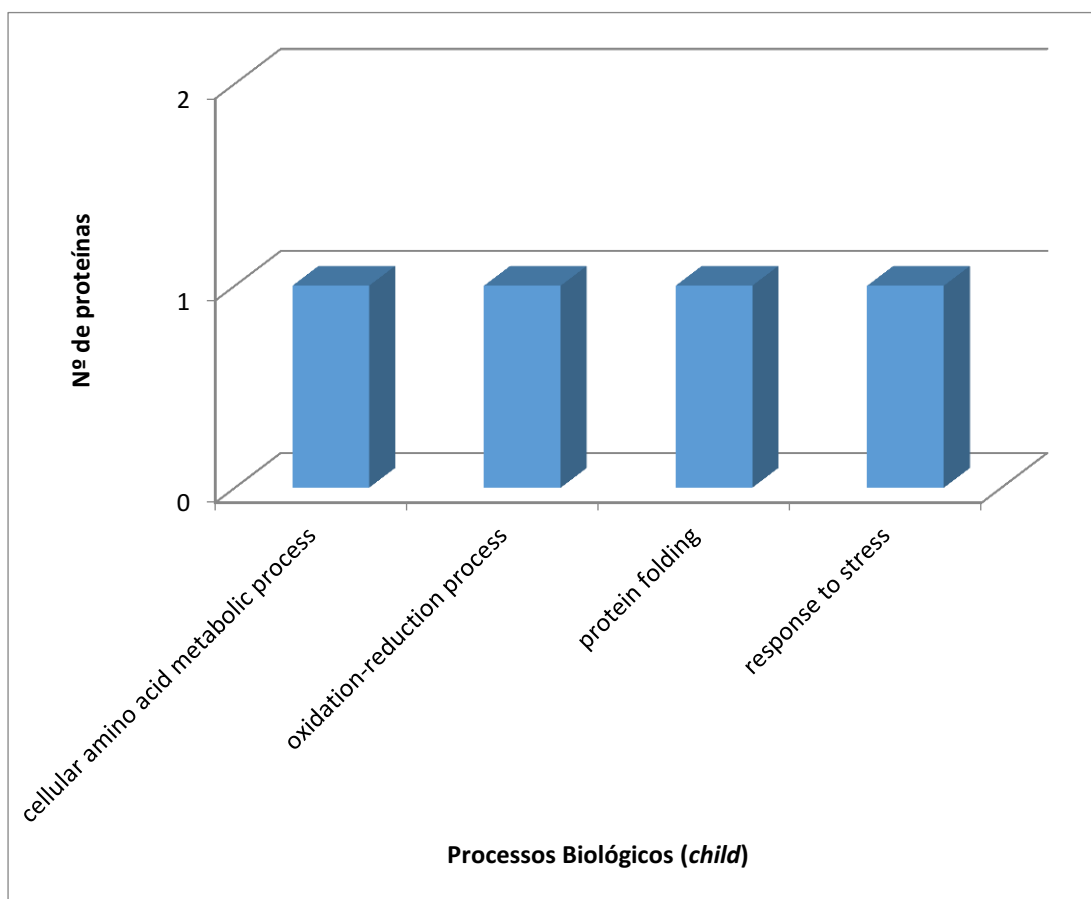


Gráfico 1: Gráfico com todos os processos biológicos das proteínas microbianas e o número de proteínas envolvidas em cada um deles.

Foram contabilizados quatro processos biológicos específicos com a seguinte distribuição: celular amino acid metabolic process – 1; oxidation-reduction process – 1; protein folding – 1; response to stress - 1.

Processos Biológicos das Proteínas Humanas

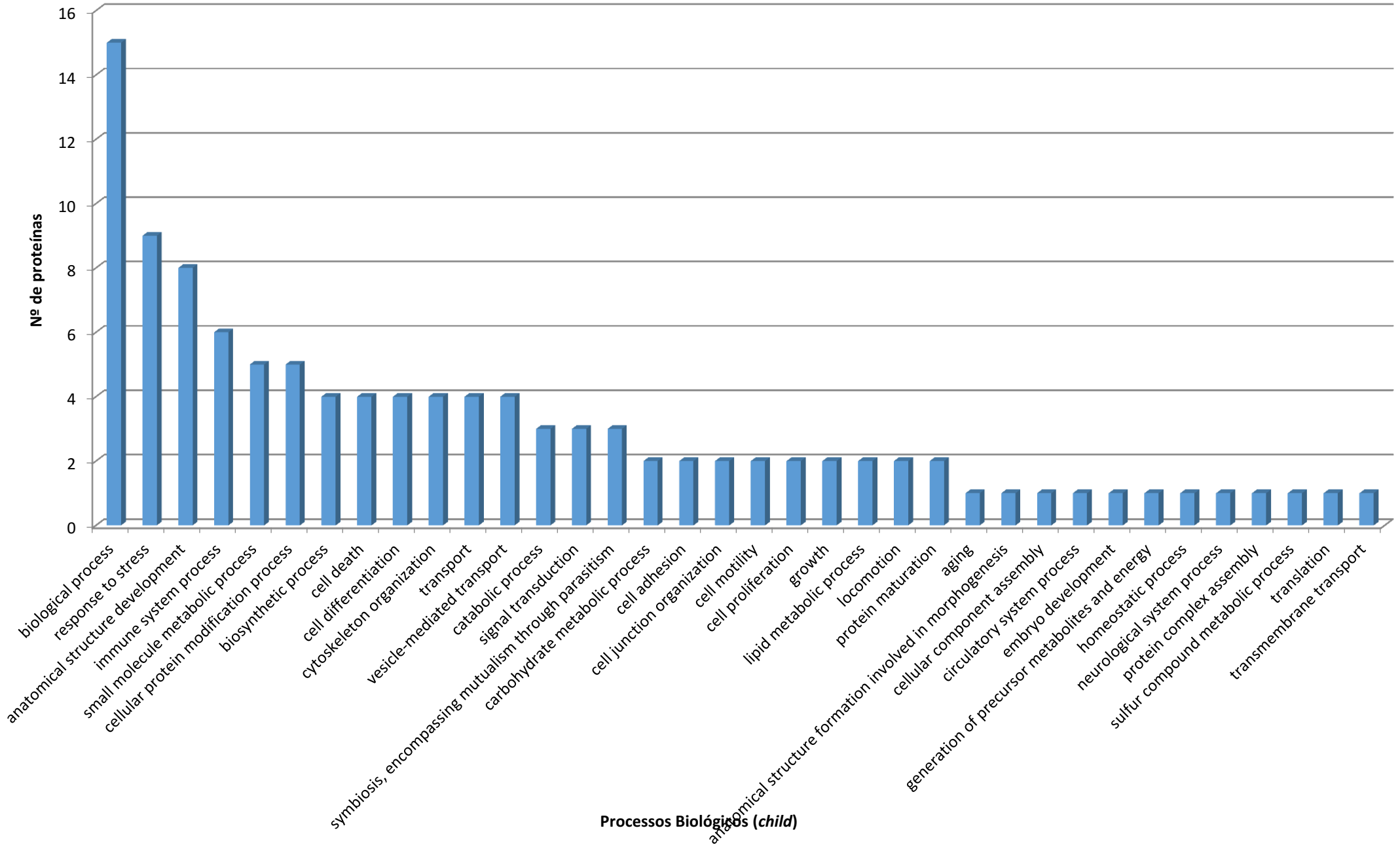


Gráfico 2 - Gráfico com todos os processos biológicos das proteínas humanas e o número de proteínas envolvidas em cada um deles.

Foram então identificados 36 processos biológicos nos quais as proteínas humanas interagem. Esses processos biológicos contêm a seguinte distribuição: biological process – 15; response to stress – 9; anatomical structure development – 8; immune system process – 6; small molecule metabolic process – 5; cellular protein modification process – 5; biosynthetic process – 4; cell death – 4; cell differentiation – 4; cytoskeleton organization – 4; transport – 4; vesicle-mediated transport – 4; catabolic process – 3; signal transduction – 3; symbiosis, encompassing mutualism through parasitism – 3; carbohydrate metabolic process – 2; cell adhesion – 2; cell junction organization – 2; cell motility – 2; cell proliferation – 2; growth – 2; lipid metabolic process – 2; locomotion – 2; protein maturation – 2; aging – 1; anatomical structure formation involved in morphogenesis – 1; cellular component assembly – 1; circulatory system process – 1; embryo development – 1; generation of precursor metabolites and energy – 1; homeostatic process – 1; neurological system process – 1; protein complex assembly – 1; sulfur compound metabolic process – 1; translation – 1; transmembrane transport – 1.

5.2.3.1 Construção das tabelas funcionais

Com as tabelas dinâmicas realizadas como descrito nos materiais e métodos, seção em 3.2.3.2, foram elaboradas as tabelas funcionais apresentadas em baixo para as proteínas humanas e microbianas.

Estas tabelas funcionais facultam informações mais pormenorizadas de todos os processos biológicos identificados e quais as proteínas correspondentes aos mesmos.

A tabela referente às proteínas microbianas encontra-se completa. No entanto, para ser possível a introdução da tabela inerente às proteínas humanas apenas é possível colocar o código UniProt de cada uma. A tabela que apresenta os respetivos nomes de cada proteína, encontra-se anexada no CD-R (**Tabela B**).

Encontra-se assinalado com “+” todas as correspondências encontradas pela fórmula criada e apresentada nos materiais e métodos em 3.2.3.2 (**Figura 14**).

Tabela 6: Tabela com todos os processos biológicos específicos e proteínas microbianas discriminados nos quais está identificado com “+” as correspondências entre ambos.

UniprotKBAC	P95829	Q8DUL2
Nome	DnaK protein	Putative NADP-specific glutamate dehydrogenase
Microorganismo	Streptococcus pneumoniae serotype 4	Streptococcus mutans serotype c (strain ATCC 700610 / UA159)
Regulação		
GoSlimOntology		
cellular amino acid metabolic process		+
oxidation-reduction process		+
protein folding	+	
response to stress	+	

Utilizadas as ferramentas e fórmulas descritas nos Materiais e Métodos chegou-se à seguinte tabela funcional para as proteínas Humanas:

UniprotKBAC	P01009	P01024	P02768	P04406	P05164	P08779	P13646	P13647	P15924	P22079	P26038	Q08188	Q8TDL5	Q9HC84	Q9UGM3
GoSlimOntology															
Aging					+										
anatomical structure development		+				+	+	+	+		+	+			+
anatomical structure formation involved in morphogenesis		+													
biological_process	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
biosynthetic process		+		+	+									+	
carbohydrate metabolic process				+										+	
catabolic process				+	+					+					
cell adhesion									+		+				
cell death			+	+	+				+						
cell differentiation									+		+	+			+
cell junction organization								+	+						
cell motility						+					+				
cell proliferation					+										+
cellular component assembly								+							
cellular protein modification process		+		+					+			+		+	
circulatory system process									+						
cytoskeleton organization				+		+	+	+							
embryo development															+
generation of precursor metabolites and energy				+											
Growth					+										+
homeostatic process			+												
immune system process		+		+	+						+		+		+

lipid metabolic process		+	+												
Locomotion						+					+				
neurological system process										+					
protein complex assembly												+			
protein maturation	+	+													
response to stress	+	+	+	+	+				+	+			+		+
signal transduction		+											+		+
small molecule metabolic process		+	+	+	+					+					
sulfur compound metabolic process										+					
symbiosis, encompassing mutualism through parasitism			+		+										+
Translation				+											
transmembrane transport			+												
Transport	+	+	+												+
vesicle-mediated transport	+	+	+												+

Tabela 7 - Tabela com todos os processos biológicos específicos e proteínas humanas discriminados nos quais está identificado com “+” as correspondências entre ambos

6.2.3.1 Análise funcional das interacções previstas

A espécie *Streptococcus mutans* é um dos principais microrganismos patogénicos da cárie dentária porque é capaz de fermentar uma grande variedade de açúcares, mantendo um metabolismo ativo em baixos pHs, os quais causam a desmineralização progressiva dos dentes. Este processo é intensificado com o aumento da proporção desta espécie oportunista da placa dentária, a qual utiliza a sacarose da dieta para sintetizar polissacarídeos insolúveis extracelulares, principal componente estrutural da placa dentária (21).

Esta espécie de bactéria tem estado ultimamente a ser estudada relativamente aos seus mecanismos de virulência com o intuito de estabelecer e compreender a sua capacidade de colonizar e causar esta patologia especialmente durante a infância. Estudos recentes estabeleceram que dois reguladores de resposta, denominados por VicR e CovR, controlam a expressão de enzimas que sintetizam glucanos extracelulares a partir de sacarose. Além disto, estes reguladores controlam diretamente o gene *gbpB*, o qual codifica a proteína ligante de glucano B (GbpB de Glucan-binding protein B) (44).

A **glutamato desidrogenase** (GLDH) é uma enzima produzida por *Streptococcus mutans*, presentes na maioria dos micróbios e nas mitocôndrias de eucariotas, esta enzima converte o glutamato para α -cetoglutarato, e vice-versa. Em animais, o amoníaco produzido é normalmente usado como um substrato no ciclo da ureia. Tipicamente, a transformação do α -cetoglutarato em glutamato não ocorre em mamíferos.

Esta proteína expressa por *Streptococcus mutans* interage, como podemos verificar com 10 proteínas humanas: Alpha-1-antitrypsin; BPI fold-containing family B member 1; Complement C3; Desmoplakin; Deleted in malignant brain tumors 1 protein; Keratin, type I cytoskeletal 16; Keratin, type II cytoskeletal 5; Lactoperoxidase; Myeloperoxidase; Protein-glutamine gamma-glutamyltransferase E.

A **Alpha-1-antitrypsin** (*Homo Sapiens*) é uma proteína inibidora de proteases de serina (enzimas que cortam ligações peptídicas em proteínas, nas quais um dos aminoácidos no local ativo é a serina). O seu principal alvo

é a elastase, mas tem também uma afinidade moderada para a plasmina e trombina. Inibe irreversivelmente a tripsina, quimotripsina e o ativador de plasminogénio. A forma aberrante inibe a síntese em plaquetas não induzida por, possui atividade proteolítica contra a insulina e a plasmina, diminuindo o tempo de coagulação (45-47).

Inibidores destas proteínas foram encontrados em polpas humanas normais e inflamadas, contudo as concentrações das mesmas é diferente, ($p < 0,01$) em inflamações pulpares leves/moderadas e ($p < 0,05$) em inflamações moderadas/ Graves. A exposição pulpar devido à lesão de cárie está associada com a infiltração de leucócitos polimorfonucleares e à libertação de enzimas lisossomais. Embora exista diferenças nas concentrações de $\alpha 1$ -*antitripsina* entre polpas inflamadas e normais, as diferenças não apresentam significado estatístico relevante. A presença destes inibidores da protease do tecido pulpar e o aumento na sua concentração na inflamação aguda indica que estas desempenham um papel ativo na patogenicidade da doença inflamatória pulpar (48).

A **BPI fold-containing family B member 1** (*Homo sapiens*) pode desempenhar um papel na imunidade inata na boca, nariz e pulmões. Liga-se o lipopolissacarídeo bacteriano (LPS) e modula as respostas celulares ao LPS (49).

Ao se verificar que esta proteína se encontra presente em situações em que bactérias interagem com o meio oral, pode-se aferir que a presença da mesma constitui uma resposta imune do hospedeiro a situações patogénicas na cavidade oral, como por exemplo na presença de cárie dentária.(50)

A **Complement C3** desempenha um papel central na ativação do sistema complemento. O seu processamento pela C3 converte-se em uma ação central em ambas as vias clássica e via alternativa. Após a ativação C3b pode-se ligar covalentemente, através do seu tioéster reativo, a açúcares da superfície das células ou agregados imunes. Derivado de degradação proteolítica de complemento C3, C3a anafilotoxina é um mediador do processo inflamatório local. Ela induz a contração do músculo

liso, aumenta a permeabilidade vascular e provoca a libertação de histamina a partir de mastócitos e leucócitos basófilos (51-53).

Atualmente apenas se conhece a sua ação em lesões periapicais, não havendo estudos que fundamentem a hipótese da sua relação com a patologia de cárie dentária (54).

A **Desmoplakin** é uma proteína de alto peso molecular de desmossomas. Envolvida na organização dos complexos caderina-placoglobina desmossomais em domínios da membrana plasmática e na ancoragem de filamentos intermediários para os desmossomas (55).

Ao nível da cárie dentária esta proteína encontra-se expressa quando há uma diferenciação dos odontoblastos em casos de necessidade do organismo produzir matriz da pré-dentina (56).

Este mecanismo pode ser considerado um meio de resposta do hospedeiro em situações de cárie.

Deleted in malignant brain tumors 1 protein pode ser considerada como um gene supressor de tumor para o cérebro, pulmão, esófago, estômago, e cancro colorrectal. Pode desempenhar papéis no sistema de defesa da mucosa, defesa imunológica e diferenciação celular epitelial e pode desempenhar um papel como um recetor de opsonina para SFTPD e ESPATO em tecidos de macrófagos em todo o corpo, incluindo as células epiteliais que revestem o trato gastrointestinal. Pode funcionar como uma proteína de ligação de saliva para a regulação da sensação de gosto. Apresenta um amplo espectro de ligação dependente de cálcio contra ambas as bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, o que sugere um eventual papel na defesa contra agentes patogénicos bacterianos. Liga-se a uma série de poli-sulfatado e ligantes fosforilados o que pode explicar a sua ampla especificidade de ligação de bactérias. Inibe a invasão celular de *S.enterica* (57, 58).

Esta proteína, **Keratin, type I cytoskeletal 16**, está associada a leucoqueratose oral. Encontra-se expressa no folículo piloso, unha e na mucosa do epitélio escamoso estratificado e suprabasal, na epiderme palmoplantar e no epitélio oral. Também encontrado em células luminiais de suor e ductos das glândulas mamárias (59).

Encontra-se presente em situações de periodontite crónica, contudo, esta proteína apesar de ter sido identificada, não existem estudos que clarifiquem a sua relação com cárie dentária (60).

A **Keratin, type II cytoskeletal 5** pensa-se que está envolvida em ligações de grandes estruturas do citoesqueleto na membrana plasmática. Pode inibir a infeção do *vírus herpes simplex 1* num estágio inicial.(55, 59)

Lactoperoxidase contribui para a defesa do hospedeiro contra infeções nas vias aéreas (61).

Estudos recentes sugerem a sua utilização para futuros tratamentos de patologias como gengivites e periodontites (62).

Myeloperoxidase (MPO) está associada aos leucócitos polimorfonucleares na defesa do hospedeiro. É responsável pela atividade microbicida contra um amplo espectro de organismos. MPO catalisa a produção de ácidos, principalmente ácido hipocloroso em situações fisiológicas, e outros intermediários tóxicos que aumentam grandemente a atividade microbicida (63).

Esta proteína já se encontra clarificada quanto à sua função em patologias orais como gengivites, no entanto, a sua função em cárie dentária ainda se encontra incerta.

A **Protein-glutamine gamma-glutamyltransferase E** catalisa a formação de ligações isopeptídicas cruzadas entre glutamina e lisina dependentes de cálcio, em várias proteínas, bem como a conjugação de proteínas com poliaminas (59, 64).

A outra bactéria que apresenta proteínas capazes de interagir com proteínas orais humanas é *Streptococcus pneumoniae*. Esta é uma espécie de bactéria pertencente ao género *Streptococcus*, de características singulares. São frequentes nos dentes e podem causar abscessos dentários ou endocardite. Entre suas principais características destaca-se: em geral são alfa-hemolíticos, não possuem antígenos dos grupos B ou D. Entre as principais espécies temos: *Streptococcus mutans*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus mitis* e *Streptococcus anginosus* (65).

A maioria dessas espécies faz parte da flora normal das vias aéreas superiores, em particular, dos diferentes nichos ecológicos da cavidade oral. Como agentes etiológicos são associados à bacteremia, endocardite

subaguda, abscessos, infecções do trato genitourinário e infecções de feridas. As espécies *Streptococcus sanguis* e especialmente *Streptococcus mutans* tem papel importante na formação de placa dentária devido à sua capacidade de sintetizar glicanos a partir de hidratos de carbono (65).

Chaperone protein DnaK é uma proteína microbiana que auxilia o dobramento não-covalente ou desdobramento de outras estruturas macromoleculares. Uma das principais funções destas proteínas é evitar que ambas as cadeias de polipeptídeos recém-sintetizados e subunidades se agreguem a estruturas não-funcionais (66).

Esta proteína expressa por *Streptococcus pneumoniae* interage, como se pode verificar com 2 proteínas humanas: *Serum albumin* e *Keratin, type I cytoskeletal 13*.

A **Serum albumin** é a principal proteína do plasma, tem uma boa capacidade de ligação de água, Ca^{2+} , Na^{+} , K^{+} , os ácidos gordos, hormonas, drogas e bilirrubina. A sua principal função é a regulação da pressão osmótica coloidal do sangue e também é a principal transportadora de zinco no plasma, liga-se em condições normais a cerca de 80% de todo o zinco no plasma (67).

Estudos imuno-histoquímicos não revelaram a presença de albumina em lesões de manchas brancas e fissuras interproximais do esmalte, não evidenciando produtos de degradação. A capacidade da albumina se ligar e inibir o crescimento de cristais de fosfato de cálcio, levanta a questão pertinente: saber qual o papel desta proteína no desenvolvimento de lesões de cárie, sendo necessário a realização de mais estudos que a relacionem (68).

A proteínas **Keratin, type I cytoskeletal 13** está expressa em alguns ductos das glândulas epidérmicas do suor, esófago e placenta.

Está associada à patologia do Nervo Branco Esponjoso de Cannon (RSSF), a qual é uma doença autossómica dominante rara que afeta predominantemente o epitélio escamoso estratificado não-cornificado. Clinicamente é caracterizada pela presença de placas moles, brancas, localizadas no osso esponjoso e na mucosa oral. As características

histopatológicas são o espessamento epitelial, paraqueratose e vacuolização da camada suprabasal dos queratinócitos epiteliais bucais (59, 69).

Por último foi verificado que ambas as proteínas microbianas interagem, em simultâneo, com 3 proteínas humanas: **Mucin-5B**; **Moesin**; **Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase**.

A proteína **Mucin-5B** participa na formação do gel de mucina que se pensa contribuir para a lubrificação e propriedades viscoelásticas de saliva e muco cervical. Devido a estas propriedades pensa-se estar relacionada com a defesa do organismo a agentes cariogénicos (70).

A **Moesin** é um tipo de proteína que pertence ao grupo de proteínas que inclui a ezrina e a radixidina. Estas proteínas funcionam como agentes de reticulação entre as membranas plasmáticas e o citoesqueleto à base de actina. Esta proteína está localizada nos filamentos e outras saliências membranosas, que são importantes para o reconhecimento célula-célula e a sinalização do movimento das células (71). Esta proteína apresenta um papel importante na resposta imune e reconhecimento na doença periodontal (72).

A **Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase** desempenha um papel importante nas funções de glicólise. Participa também em eventos nucleares, incluindo a transcrição, transporte de RNA, replicação do DNA e apoptose. Modula a organização e montagem do citoesqueleto, pois facilita os microtúbulos a associarem-se à membrana. O gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase é uma enzima chave na glicólise que catalisa a da conversão de D-gliceraldeído-3-fosfato (G3P) em fosfato de 3-fosfo-D-glyceroyl (57, 73).

Esta proteína está envolvida na supressão da produção de ácido presente na placa (74). Como tal, pode ser associada ao mecanismo de defesa do hospedeiro na prevenção de patologias orais como a cárie dentária.

5. Conclusão

A Cárie Dentária é uma das doenças com maior prevalência, não existindo atualmente ainda uma cura. Os únicos meios de diminuição da prevalência desta patologia existentes remetem-nos para protocolos de prevenção e diagnóstico precoce.

Nesta dissertação realizou-se a actualização e tratamento bioinformático da informação existente até à atualidade dos estudos de proteómica oral referentes à cárie dentária.

Contudo, durante esta fase de pesquisa, notou-se uma carência de dados a nível de valores da quantificação da variação das proteínas na doença em relação a indivíduos saudáveis, o que afetou posteriormente a fase final do trabalho pois não foi possível sugerir nenhum biomarcador para estudos futuros. Sugere-se que em estudos posteriores de proteómica desta patologia oral sejam dirigidos para a quantificação dos valores de variação das proteínas.

Após a atualização do OralCard e recorrendo aos algoritmos apresentados pelo Orallnt, foi possível chegar a um total de 18 interações contendo 16 proteínas humanas e 2 proteínas microbianas.

É importante referir que o algoritmo em que se baseia a ferramenta *Orallnt*, é limitado pela quantidade de informação existente no *OralCard*, a qual se baseia no número de artigos revistos/existentes sobre a patologia em causa.

Deste modo, as interações apresentadas a nível funcional, são propostas como hipótese para a sua validação em estudos futuros, melhorando assim, a compreensão da fisiopatologia da Cárie Dentária.

Estes estudos, para além de possibilitarem a confirmação destas interações poderão auxiliar no desenvolvimento de novos métodos terapêuticos com o objetivo de evitar a ocorrência destas interações, prevenindo assim, as complicações provocadas pela Cárie Dentária.

6. Bibliografia

1. de Paula Ferreira-Nóbilo N, de Sousa MdLR, Cury JA. Conceptualization of Dental Caries by Undergraduate Dental Students from the First to the Last Year. *Braz Dent J.* 2014;25:1.
2. Deljo E, Cavaljuga S, Meskovic B. Prevalence of Dental Caries in the Municipality Gorazde During the Period 2007-2012. *Materia socio-medica.* 2013;25(3):163.
3. Shaffer J, Feingold E, Wang X, Lee M, Tcuenco K, Weeks D, et al. GWAS of dental caries patterns in the permanent dentition. *Journal of dental research.* 2013;92(1):38-44.
4. Liu L, Zhang Y, Wu W, Cheng M, Li Y, Cheng R. Prevalence and correlates of dental caries in an elderly population in northeast china. *PloS one.* 2013;8(11):e78723.
5. Wang Q, Jia P, Cuenco KT, Zeng Z, Feingold E, Marazita ML, et al. Association signals unveiled by a comprehensive gene set enrichment analysis of dental caries genome-wide association studies. *PloS one.* 2013;8(8):e72653.
6. Wang J-D, Chen X, Frencken J, Du M-Q, Chen Z. Dental caries and first permanent molar pit and fissure morphology in 7-to 8-year-old children in Wuhan, China. *International journal of oral science.* 2012;4(3):157-60.
7. Gawri S, Shukla P, Chandrakar A. A survey of micro flora present in dental caries and it's relation to enviornmental factors. *Recent Research in Science and Technology.* 2012;4(3).
8. Bezerra SLJ, Lima RdSN. A Participação Bioquímica da Dieta no Processo Cariogênico. *Revista Brasileira em Promoção da Saúde.* 2012;11(1):99-101.
9. Motta LJ, Bortoletto CC, Marques AJ, Ferrari R, Fernandes K, Bussadori SK. Association between respiratory problems and dental caries in children with bruxism. *Indian Journal of Dental Research.* 2014;25(1):9.
10. Lucchese A, Storti E. Morphological characteristics of primary enamel surfaces versus permanent enamel surfaces: SEM digital analysis. *European journal of paediatric dentistry: official journal of European Academy of Paediatric Dentistry.* 2011;12(3):179-83.
11. He LH, Swain MV. Understanding the mechanical behaviour of human enamel from its structural and compositional characteristics. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials.* 2008;1(1):18-29.

12. Martin L. Significance of enamel thickness in hominoid evolution. *Nature*. 1985;314(6008):260-3.
13. Lukacs JR, Largaespada LL. Explaining sex differences in dental caries prevalence: Saliva, hormones, and “life - history” etiologies. *American journal of human biology*. 2006;18(4):540-55.
14. Rekow E, Fox C, Watson T, Petersen P. Future innovation and research in dental restorative materials. *Advances in dental research*. 2013;25(1):2-7.
15. de Moraes CHS, Sampaio FC, Roncalli AG, Moysés SJ. Methodological discussion about prevalence of the dental fluorosis on dental health surveys. *Rev Saúde Pública*. 2013;47(Supl 3):1-9.
16. Leites A, Pinto MB, Sousa ERd. Aspectos microbiológicos da cárie dental. *Salusvita*. 2006;25(2):135-48.
17. Lee S-H, Kim Y-J. A comparative study of the effect of probiotics on cariogenic biofilm model for preventing dental caries. *Arch Microbiol*. 2014;196(8):601-9.
18. Zoitopoulos L, Brailsford SR, Gelbier S, Ludford RW, Marchant SH, Beighton D. Dental caries and caries-associated microorganisms in the saliva and plaque of 3- and 4-year-old Afro-caribbean and Caucasian children in South London. *Archives of Oral Biology*. 41(11):1011-8.
19. Beighton D, Adamson A, Rugg-Gunn A. Associations between dietary intake, dental caries experience and salivary bacterial levels in 12-year-old English schoolchildren. *Archives of Oral Biology*. 1996;41(3):271-80.
20. Burt BA, Pai S. Sugar consumption and caries risk: a systematic review. *Journal of dental education*. 2001;65(10):1017-23.
21. Loesche WJ. Role of *Streptococcus mutans* in human dental decay. *Microbiological reviews*. 1986;50(4):353.
22. Tanzer JM, Livingston J, Thompson AM. The microbiology of primary dental caries in humans. *Journal of dental education*. 2001;65(10):1028-37.
23. Gopinath V, Arzreanne A. Saliva as a diagnostic tool for assessment of dental caries. *Arch Orofac Sci*. 2006;1(1):57-9.
24. Munson M, Banerjee A, Watson T, Wade W. Molecular analysis of the microflora associated with dental caries. *Journal of clinical microbiology*. 2004;42(7):3023-9.
25. Malamud D. Saliva as a diagnostic fluid. *Dental Clinics of North America*. 2011;55(1):159-78.

26. Pfaffe T, Cooper-White J, Beyerlein P, Kostner K, Punyadeera C. Diagnostic potential of saliva: current state and future applications. *Clinical chemistry*. 2011;57(5):675-87.
27. Scarano E, Fiorita A, Picciotti P, Passali G, Calo L, Cabras T, et al. Proteomics of saliva: personal experience. *Acta Otorhinolaryngologica Italica*. 2010;30(3):125.
28. Phizicky EM, Fields S. Protein-protein interactions: methods for detection and analysis. *Microbiological reviews*. 1995;59(1):94-123.
29. Dyer MD, Murali T, Sobral BW. Computational prediction of host-pathogen protein-protein interactions. *Bioinformatics*. 2007;23(13):i159-i66.
30. Coelho ED, Arrais JP, Matos S, Pereira C, Rosa N, Correia MJ, et al. Computational prediction of the human-microbial oral interactome. *BMC systems biology*. 2014;8(1):24.
31. Panchenko AR, Wolf YI, Panchenko LA, Madej T. Evolutionary plasticity of protein families: coupling between sequence and structure variation. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*. 2005;61(3):535-44.
32. Ito T, Chiba T, Ozawa R, Yoshida M, Hattori M, Sakaki Y. A comprehensive two-hybrid analysis to explore the yeast protein interactome. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2001;98(8):4569-74.
33. Arrais JP, Rosa N, Melo J, Coelho ED, Amaral D, Correia MJ, et al. OralCard: A bioinformatic tool for the study of oral proteome. *Archives of oral biology*. 2013;58(7):762-72.
34. Rosa N, Correia MJ, Arrais JP, Lopes P, Melo J, Oliveira JL, et al. From the salivary proteome to the OralOme: comprehensive molecular oral biology. *Archives of oral biology*. 2012;57(7):853-64.
35. Consortium U. The universal protein resource (UniProt). *Nucleic acids research*. 2008;36(suppl 1):D190-D5.
36. Consortium U. Update on activities at the Universal Protein Resource (UniProt) in 2013. *Nucleic acids research*. 2013;41(D1):D43-D7.
37. McCarthy FM, Gresham CR, Buza TJ, Chouvarine P, Pillai LR, Kumar R, et al. AgBase: supporting functional modeling in agricultural organisms. *Nucleic acids research*. 2010:gkq1115.
38. Harhay GP, Smith TP, Alexander LJ, Haudenschild CD, Keele JW, Matukumalli LK, et al. An atlas of bovine gene expression reveals novel distinctive tissue characteristics and evidence for improving genome annotation. *Genome Biol*. 2010;11(10):R102.

39. Saito R, Smoot ME, Ono K, Ruschinski J, Wang P-L, Lotia S, et al. A travel guide to Cytoscape plugins. *Nature methods*. 2012;9(11):1069-76.
40. Paes Leme A, Bellato C, Bedi G, Del Bel Cury A, Koo H, Cury J. Effects of sucrose on the extracellular matrix of plaque-like biofilm formed in vivo, studied by proteomic analysis. *Caries research*. 2008;42(6):435-43.
41. Preza D, Thiede B, Olsen I, Grinde B. The proteome of the human parotid gland secretion in elderly with and without root caries. *Acta Odontologica*. 2009;67(3):161-9.
42. Siqueira WL, Bakkal M, Xiao Y, Sutton JN, Mendes FM. Quantitative proteomic analysis of the effect of fluoride on the acquired enamel pellicle. *PLoS one*. 2012;7(8):e42204.
43. Vitorino R, de Moraes Guedes S, Ferreira R, Lobo MJC, Duarte J, Ferrer - Correia AJ, et al. Two - dimensional electrophoresis study of in vitro pellicle formation and dental caries susceptibility. *European journal of oral sciences*. 2006;114(2):147-53.
44. Takahashi N, Nyvad B. The Role of Bacteria in the Caries Process Ecological Perspectives. *Journal of Dental Research*. 2011;90(3):294-303.
45. Feng X, Chowbay B, Chen WN, Ching CB. ITRAQ-coupled 2-D LC-MS/MS Analysis of differentially expressed serum proteins in nasopharyngeal carcinoma clinical samples: potential in biomarker discovery. *Journal of Medical Imaging and Health Informatics*. 2011;1(2):177-83.
46. Niemann MA, Narkates AJ, Miller EJ. Isolation and Serine Protease Inhibitory Activity of the 44-Residue, C-Terminal Fragment of α 1-Antitrypsin from Human Placenta. *Matrix*. 1992;12(3):233-41.
47. P Reeves E, Cosgrove S, A Bergin D, M Greene C, G McElvaney N. New strategies in drug development focusing on the anti-protease-protease balance in alpha-1 antitrypsin deficiency. *Anti-Inflammatory & Anti-Allergy Agents in Medicinal Chemistry (Formerly Current Medicinal Chemistry-Anti-Inflammatory and Anti-Allergy Agents)*. 2010;9(4):314-29.
48. McClanahan SB, Turner DW, Kaminski EJ, Osetek EM, Heuer MA. Natural modifiers of the inflammatory process in the human dental pulp. *Journal of endodontics*. 1991;17(12):589-93.
49. Shin OS, Uddin T, Citorik R, Wang JP, Della Pelle P, Kradin RL, et al. LPLUNC1 modulates innate immune responses to *Vibrio cholerae*. *Journal of Infectious Diseases*. 2011;204(9):1349-57.

50. VARGAS PA, da SILVA AA, CARVALHO MA, CÔRREA MEP, BINGLE L. Expression of BPI-fold containing (PLUNC) family members in patients with oral Graft-versus-host-disease: preliminary results.
51. Baldo A, Sniderman AD, St-Luce S, Avramoglu RK, Maslowska M, Hoang B, et al. The adipsin-acylation stimulating protein system and regulation of intracellular triglyceride synthesis. *Journal of Clinical Investigation*. 1993;92(3):1543.
52. Cianflone KM, Sniderman AD, Walsh MJ, Vu HT, Gagnon J, Rodriguez MA. Purification and characterization of acylation stimulating protein. *Journal of Biological Chemistry*. 1989;264(1):426-30.
53. Murray I, Kohl J, Cianflone K. Acylation-stimulating protein (ASP): structure-function determinants of cell surface binding and triacylglycerol synthetic activity. *Biochem J*. 1999;342:41-8.
54. Kuntz DD, Genco RJ, Guttuso J, Natiella JR. Localization of immunoglobulins and the third component of complement in dental periapical lesions. *Journal of endodontics*. 1977;3(2):68-73.
55. Presland RB, Jurevic RJ. Making sense of the epithelial barrier: what molecular biology and genetics tell us about the functions of oral mucosal and epidermal tissues. *Journal of dental education*. 2002;66(4):564-74.
56. Sawa Y, Kuroshima S-i, Yamaoka Y, Yoshida S. Intracellular distribution of desmoplakin in human odontoblasts. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*. 2005;53(9):1099-108.
57. End C, Bikker F, Renner M, Bergmann G, Lyer S, Blaich S, et al. DMBT1 functions as pattern - recognition molecule for poly - sulfated and poly - phosphorylated ligands. *European journal of immunology*. 2009;39(3):833-42.
58. Rosenstiel P, Sina C, End C, Renner M, Lyer S, Till A, et al. Regulation of DMBT1 via NOD2 and TLR4 in intestinal epithelial cells modulates bacterial recognition and invasion. *The Journal of Immunology*. 2007;178(12):8203-11.
59. Siqueira WL, Zhang W, Helmerhorst EJ, Gygi SP, Oppenheim FG. Identification of protein components in in vivo human acquired enamel pellicle using LC-ESI-MS/MS. *Journal of proteome research*. 2007;6(6):2152-60.
60. Silva-Boghossian CM, Colombo APV, Tanaka M, Rayo C, Xiao Y, Siqueira WL. Quantitative proteomic analysis of gingival crevicular fluid in different periodontal conditions. *PloS one*. 2013;8(10):e75898.
61. Wijkstrom-Frei C, El-Chemaly S, Ali-Rachedi R, Gerson C, Cobas MA, Forteza R, et al. Lactoperoxidase and human airway host defense. *American journal of respiratory cell and molecular biology*. 2003;29(2):206-12.

62. Pruitt KM, Tenovuo JO. The lactoperoxidase system. *Chemistry and biological significance* 1985.
63. Gråhn E, Tenovuo J, Lehtonen O-P, Eerola E, Vilja P. Antimicrobial systems of human whole saliva in relation to dental caries, cariogenic bacteria, and gingival inflammation in young adults. *Acta Odontologica*. 1988;46(2):67-74.
64. Hu S, Xie Y, Ramachandran P, Ogorzalek Loo RR, Li Y, Loo JA, et al. Large - scale identification of proteins in human salivary proteome by liquid chromatography/mass spectrometry and two - dimensional gel electrophoresis - mass spectrometry. *Proteomics*. 2005;5(6):1714-28.
65. Becker MR, Paster BJ, Leys EJ, Moeschberger ML, Kenyon SG, Galvin JL, et al. Molecular analysis of bacterial species associated with childhood caries. *Journal of clinical microbiology*. 2002;40(3):1001-9.
66. Len AC, Harty DW, Jacques NA. Stress-responsive proteins are upregulated in *Streptococcus mutans* during acid tolerance. *Microbiology*. 2004;150(5):1339-51.
67. Lu J, Stewart A, Sadler P, Pinheiro T, Blindauer C. Albumin as a zinc carrier: properties of its high-affinity zinc-binding site. *Biochemical Society Transactions*. 2008;36(Pt 6):1317-21.
68. Robinson C, Shore R, Bonass W, Brookes S, Boteva E, Kirkham J. Identification of human serum albumin in human caries lesions of enamel: the role of putative inhibitors of remineralisation. *Caries research*. 1998;32(3):193-9.
69. Peters BH, Peters JM, Kuhn C, Zöller J, Franke WW. Maintenance of cell - type - specific cytoskeletal character in epithelial cells out of epithelial context: Cytokeratins and other cytoskeletal proteins in the rests of Malassez of the periodontal ligament. *Differentiation*. 1995;59(2):113-26.
70. Ohshiro K, Rosenthal DI, Koomen JM, Streckfus CF, Chambers M, Kobayashi R, et al. Pre-analytic saliva processing affect proteomic results and biomarker screening of head and neck squamous carcinoma. *proteins*. 2007;22:23.
71. Henning MS, Stiedl P, Barry DS, McMahon R, Morham SG, Walsh D, et al. PDZD8 is a novel moesin-interacting cytoskeletal regulatory protein that suppresses infection by herpes simplex virus type 1. *Virology*. 2011;415(2):114-21.
72. Baum B, Yates J, Srivastava S, Wong D, Melvin J. *Scientific Frontiers Emerging Technologies for Salivary Diagnostics*. *Advances in dental research*. 2011;23(4):360-8.
73. Andrade J, Pearce S, Zhao H, Barroso M. Interactions among p22, glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase and microtubules. *Biochem J*. 2004;384:327-36.

74. Takahashi N, Washio J. Metabolomic effects of xylitol and fluoride on plaque biofilm in vivo. *Journal of dental research*. 2011;90(12):1463-8.

7. Anexos

Slim_GO_Name	Input_Accession	Input_GO_Name
immune system process	Q9UGM3	induction of bacterial agglutination
immune system process	P01024	complement activation
immune system process	P01024	complement activation, classical pathway
immune system process	P01024	regulation of immune response
immune system process	P26038	leukocyte migration
immune system process	P01024	regulation of complement activation
immune system process	P01024	positive regulation of activation of membrane attack complex
immune system process	P01024	immune system process
immune system process	Q8TDL5	immune system process
immune system process	P01024	complement activation, alternative pathway
immune system process	P01024	positive regulation of type IIa hypersensitivity
immune system process	P01024	immune response
immune system process	P04406	cellular response to interferon-gamma
immune system process	Q8TDL5	negative regulation of toll-like receptor 4 signaling pathway
immune system process	Q9UGM3	pattern recognition receptor signaling pathway
immune system process	Q9UGM3	defense response to virus
immune system process	P01024	innate immune response
immune system process	Q8TDL5	innate immune response
immune system process	Q9UGM3	innate immune response
immune system process	Q8TDL5	innate immune response in mucosa
immune system process	P26038	regulation of lymphocyte migration
immune system process	P05164	respiratory burst involved in defense response
circulatory system process	P15924	ventricular cardiac muscle cell action potential

circulatory system process	P15924	bundle of His cell to Purkinje myocyte communication
circulatory system process	P15924	regulation of heart rate by cardiac conduction
carbohydrate metabolic process	P04406	glycolytic process
carbohydrate metabolic process	P04406	glucose metabolic process
carbohydrate metabolic process	P04406	gluconeogenesis
carbohydrate metabolic process	P04406	carbohydrate metabolic process
carbohydrate metabolic process	Q9HC84	O-glycan processing
generation of precursor metabolites and energy	P04406	glycolytic process
Translation	P04406	negative regulation of translation
Translation	P04406	regulation of translation
protein complex assembly	Q08188	protein tetramerization
cellular protein modification process	P04406	peptidyl-cysteine S-trans-nitrosylation
cellular protein modification process	Q08188	cellular protein modification process
cellular protein modification process	Q9HC84	post-translational protein modification
cellular protein modification process	P15924	peptide cross-linking
cellular protein modification process	Q08188	peptide cross-linking
cellular protein modification process	Q9HC84	O-glycan processing
cellular protein modification process	P01024	positive regulation of protein phosphorylation
lipid metabolic process	P02768	bile acid metabolic process
lipid metabolic process	P01024	regulation of triglyceride biosynthetic process
lipid metabolic process	P01024	lipid metabolic process
lipid metabolic process	P01024	fatty acid metabolic process
sulfur compound metabolic process	P22079	thiocyanate metabolic process
Transport	Q9UGM3	protein transport
Transport	P02768	transport
Transport	Q9UGM3	transport

Transport	P01009	platelet degranulation
Transport	P02768	platelet degranulation
Transport	P01024	positive regulation of phagocytosis
Transport	P02768	sodium-independent organic anion transport
Transport	P01024	positive regulation of glucose transport
Transport	P02768	bile acid and bile salt transport
response to stress	P01009	blood coagulation
response to stress	P02768	blood coagulation
response to stress	Q9UGM3	induction of bacterial agglutination
response to stress	P05164	removal of superoxide radicals
response to stress	P01009	platelet activation
response to stress	P02768	platelet activation
response to stress	P01009	acute-phase response
response to stress	P01024	regulation of complement activation
response to stress	P02768	cellular response to starvation
response to stress	P01024	positive regulation of activation of membrane attack complex
response to stress	P05164	hydrogen peroxide catabolic process
response to stress	P22079	hydrogen peroxide catabolic process
response to stress	P01024	complement activation, alternative pathway
response to stress	P01024	positive regulation of type IIa hypersensitivity
response to stress	P04406	cellular response to interferon-gamma
response to stress	Q8TDL5	negative regulation of toll-like receptor 4 signaling pathway
response to stress	P05164	response to oxidative stress
response to stress	P22079	response to oxidative stress
response to stress	Q9UGM3	pattern recognition receptor signaling pathway
response to stress	Q9UGM3	defense response to virus

response to stress	P01009	inflammatory response
response to stress	P01024	inflammatory response
response to stress	P05164	defense response
response to stress	P01024	innate immune response
response to stress	Q8TDL5	innate immune response
response to stress	Q9UGM3	innate immune response
response to stress	P01009	response to hypoxia
response to stress	Q8TDL5	innate immune response in mucosa
response to stress	P22079	defense response to bacterium
response to stress	P05164	defense response to fungus
response to stress	P15924	wound healing
response to stress	P05164	respiratory burst involved in defense response
cytoskeleton organization	P04406	microtubule cytoskeleton organization
cytoskeleton organization	P08779	cytoskeleton organization
cytoskeleton organization	P13646	cytoskeleton organization
cytoskeleton organization	P08779	intermediate filament cytoskeleton organization
cytoskeleton organization	P15924	intermediate filament cytoskeleton organization
cytoskeleton organization	P15924	intermediate filament organization
cell adhesion	P15924	single organismal cell-cell adhesion
cell adhesion	P26038	leukocyte cell-cell adhesion
signal transduction	P01024	G-protein coupled receptor signaling pathway
signal transduction	P01024	signal transduction
signal transduction	Q8TDL5	negative regulation of toll-like receptor 4 signaling pathway
signal transduction	Q9UGM3	pattern recognition receptor signaling pathway
signal transduction	P01024	positive regulation of G-protein coupled receptor protein signaling pathway

Aging	P05164	aging
biological_process	P01009	blood coagulation
biological_process	P02768	blood coagulation
biological_process	P15924	protein localization to adherens junction
biological_process	P04406	glycolytic process
biological_process	Q08188	keratinization
biological_process	Q9UGM3	positive regulation of epithelial cell differentiation
biological_process	Q9UGM3	induction of bacterial agglutination
biological_process	Q9UGM3	protein transport
biological_process	P05164	response to yeast
biological_process	P02768	lipoprotein metabolic process
biological_process	P05164	removal of superoxide radicals
biological_process	P04406	glucose metabolic process
biological_process	P01024	complement activation
biological_process	P01009	negative regulation of peptidase activity
biological_process	P04406	gluconeogenesis
biological_process	P01024	complement activation, classical pathway
biological_process	P08779	epidermis development
biological_process	P13647	epidermis development
biological_process	P15924	epidermis development
biological_process	P02768	response to mercury ion
biological_process	P02768	bile acid metabolic process
biological_process	P01009	response to organic cyclic compound
biological_process	P15924	skin development
biological_process	P01009	platelet activation
biological_process	P02768	platelet activation

biological_process	P02768	positive regulation of circadian sleep/wake cycle, non-REM sleep
biological_process	P01024	regulation of immune response
biological_process	P04406	microtubule cytoskeleton organization
biological_process	P01009	response to chromate
biological_process	P02768	retina homeostasis
biological_process	P01009	response to methanol
biological_process	P22079	detection of chemical stimulus involved in sensory perception of bitter taste
biological_process	P01024	regulation of complement activation
biological_process	P02768	cellular response to starvation
biological_process	P01009	negative regulation of endopeptidase activity
biological_process	P01024	negative regulation of endopeptidase activity
biological_process	Q9HC84	cellular protein metabolic process
biological_process	P01009	platelet degranulation
biological_process	P02768	platelet degranulation
biological_process	P01024	positive regulation of activation of membrane attack complex
biological_process	P04406	negative regulation of translation
biological_process	P01009	response to estradiol
biological_process	P15924	ventricular compact myocardium morphogenesis
biological_process	P13646	tongue morphogenesis
biological_process	Q08188	cell envelope organization
biological_process	P26038	positive regulation of gene expression
biological_process	Q9UGM3	multicellular organismal development
biological_process	P05164	hydrogen peroxide catabolic process
biological_process	P22079	hydrogen peroxide catabolic process
biological_process	P08779	intermediate filament cytoskeleton organization

biological_process	P15924	intermediate filament cytoskeleton organization
biological_process	P01024	positive regulation vascular endothelial growth factor production
biological_process	P05164	response to food
biological_process	P01009	response to lipopolysaccharide
biological_process	P05164	response to lipopolysaccharide
biological_process	P01024	positive regulation of lipid storage
biological_process	P01024	positive regulation of phagocytosis
biological_process	Q9UGM3	blastocyst development
biological_process	P02768	response to organic substance
biological_process	P01009	regulation of proteolysis
biological_process	P02768	response to nutrient
biological_process	P15924	ventricular cardiac muscle cell action potential
biological_process	P08779	negative regulation of cell migration
biological_process	P01024	complement activation, alternative pathway
biological_process	P01009	response to triglyceride
biological_process	P26038	cellular component movement
biological_process	P01024	positive regulation of type IIa hypersensitivity
biological_process	P01024	immune response
biological_process	P01024	regulation of triglyceride biosynthetic process
biological_process	P04406	protein stabilization
biological_process	P15924	intermediate filament organization
biological_process	P15924	bundle of His cell to Purkinje myocyte communication
biological_process	P04406	cellular response to interferon-gamma
biological_process	P15924	single organismal cell-cell adhesion
biological_process	Q8TDL5	negative regulation of toll-like receptor 4 signaling pathway
biological_process	Q9HC84	O-glycan processing

biological_process	P13646	cellular response to retinoic acid
biological_process	P02768	sodium-independent organic anion transport
biological_process	Q9UGM3	pattern recognition receptor signaling pathway
biological_process	P13646	response to radiation
biological_process	Q9UGM3	inner cell mass cell proliferation
biological_process	P01009	response to inorganic substance
biological_process	P15924	keratinocyte differentiation
biological_process	Q08188	keratinocyte differentiation
biological_process	P01009	response to cytokine
biological_process	P04406	oxidation-reduction process
biological_process	P05164	oxidation-reduction process
biological_process	P22079	oxidation-reduction process
biological_process	P01024	positive regulation of glucose transport
biological_process	Q9UGM3	defense response to virus
biological_process	P01024	positive regulation of G-protein coupled receptor protein signaling pathway
biological_process	P22079	thiocyanate metabolic process
biological_process	P01009	response to lead ion
biological_process	P02768	response to platinum ion
biological_process	P26038	leukocyte cell-cell adhesion
biological_process	P02768	negative regulation of programmed cell death
biological_process	P05164	low-density lipoprotein particle remodeling
biological_process	P02768	bile acid and bile salt transport
biological_process	P05164	hypochlorous acid biosynthetic process
biological_process	P01024	positive regulation of angiogenesis
biological_process	P01024	innate immune response

biological_process	Q8TDL5	innate immune response
biological_process	Q9UGM3	innate immune response
biological_process	P01009	hemostasis
biological_process	P05164	response to mechanical stimulus
biological_process	P15924	regulation of heart rate by cardiac conduction
biological_process	P02768	negative regulation of apoptotic process
biological_process	P05164	negative regulation of apoptotic process
biological_process	Q9UGM3	viral process
biological_process	P01009	response to hypoxia
biological_process	Q08188	hair follicle morphogenesis
biological_process	P05164	negative regulation of growth of symbiont in host
biological_process	P26038	establishment of endothelial barrier
biological_process	Q8TDL5	innate immune response in mucosa
biological_process	P02768	hemolysis by symbiont of host erythrocytes
biological_process	P22079	defense response to bacterium
biological_process	P15924	cellular component disassembly involved in execution phase of apoptosis
biological_process	P01024	fatty acid metabolic process
biological_process	P01024	positive regulation of protein phosphorylation
biological_process	P05164	defense response to fungus
biological_process	P26038	regulation of lymphocyte migration
biological_process	P02768	maintenance of mitochondrion location
biological_process	P04406	regulation of translation
biological_process	P05164	respiratory burst involved in defense response
biological_process	P26038	membrane to membrane docking
cell death	P04406	apoptotic process

cell death	P15924	apoptotic process
cell death	P04406	neuron apoptotic process
cell death	P02768	negative regulation of programmed cell death
cell death	P02768	negative regulation of apoptotic process
cell death	P05164	negative regulation of apoptotic process
cell death	P15924	cellular component disassembly involved in execution phase of apoptosis
cell proliferation	P08779	cell proliferation
cell proliferation	Q9UGM3	inner cell mass cell proliferation
catabolic process	P04406	glycolytic process
catabolic process	P05164	hydrogen peroxide catabolic process
catabolic process	P22079	hydrogen peroxide catabolic process
biosynthetic process	P04406	gluconeogenesis
biosynthetic process	P04406	negative regulation of translation
biosynthetic process	P01024	regulation of triglyceride biosynthetic process
biosynthetic process	Q9HC84	O-glycan processing
biosynthetic process	P05164	hypochlorous acid biosynthetic process
biosynthetic process	P04406	regulation of translation
embryo development	Q9UGM3	blastocyst development
embryo development	Q9UGM3	inner cell mass cell proliferation
vesicle-mediated transport	P01009	platelet degranulation
vesicle-mediated transport	P02768	platelet degranulation
vesicle-mediated transport	Q9UGM3	receptor-mediated endocytosis
vesicle-mediated transport	P01024	positive regulation of phagocytosis
cellular component assembly	P13647	hemidesmosome assembly
cellular component assembly	P13647	cell junction assembly

cell differentiation	Q08188	keratinization
cell differentiation	Q9UGM3	positive regulation of epithelial cell differentiation
cell differentiation	Q9UGM3	epithelial cell differentiation
cell differentiation	P15924	keratinocyte differentiation
cell differentiation	Q08188	keratinocyte differentiation
cell differentiation	Q9UGM3	cell differentiation
cell differentiation	P26038	establishment of endothelial barrier
cell junction organization	P15924	adherens junction organization
cell junction organization	P15924	desmosome organization
cell junction organization	P13647	hemidesmosome assembly
cell junction organization	P13647	cell junction assembly
Growth	Q9UGM3	inner cell mass cell proliferation
Growth	P05164	negative regulation of growth of symbiont in host
Locomotion	P08779	negative regulation of cell migration
Locomotion	P26038	regulation of lymphocyte migration
homeostatic process	P02768	retina homeostasis
small molecule metabolic process	P02768	bile acid metabolic process
small molecule metabolic process	P02768	small molecule metabolic process
small molecule metabolic process	P04406	small molecule metabolic process
small molecule metabolic process	P22079	thiocyanate metabolic process
small molecule metabolic process	P05164	hypochlorous acid biosynthetic process
small molecule metabolic process	P01024	fatty acid metabolic process
symbiosis, encompassing mutualism through parasitism	Q9UGM3	viral process
symbiosis, encompassing mutualism through parasitism	P05164	negative regulation of growth of symbiont in host

symbiosis, encompassing mutualism through parasitism	P02768	hemolysis by symbiont of host erythrocytes
anatomical structure formation involved in morphogenesis	P01024	positive regulation of angiogenesis
anatomical structure development	Q08188	keratinization
anatomical structure development	Q9UGM3	positive regulation of epithelial cell differentiation
anatomical structure development	P08779	epidermis development
anatomical structure development	P13647	epidermis development
anatomical structure development	P15924	epidermis development
anatomical structure development	P15924	skin development
anatomical structure development	Q9UGM3	epithelial cell differentiation
anatomical structure development	P15924	ventricular compact myocardium morphogenesis
anatomical structure development	P13646	tongue morphogenesis
anatomical structure development	Q9UGM3	blastocyst development
anatomical structure development	Q9UGM3	inner cell mass cell proliferation
anatomical structure development	P15924	keratinocyte differentiation
anatomical structure development	Q08188	keratinocyte differentiation
anatomical structure development	P01024	positive regulation of angiogenesis
anatomical structure development	Q08188	hair follicle morphogenesis
anatomical structure development	P26038	establishment of endothelial barrier
cell motility	P26038	leukocyte migration
cell motility	P08779	negative regulation of cell migration
cell motility	P26038	regulation of lymphocyte migration
neurological system process	P22079	detection of chemical stimulus involved in sensory perception of bitter taste
protein maturation	P01009	negative regulation of peptidase activity
protein maturation	P01024	regulation of complement activation

protein maturation	P01009	negative regulation of endopeptidase activity
protein maturation	P01024	negative regulation of endopeptidase activity
protein maturation	P01024	positive regulation of activation of membrane attack complex
protein maturation	P01009	regulation of proteolysis
transmembrane transport	P02768	transmembrane transport

Tabela 8 - Tabela com proteínas Humanas importada para o Excel após a utilização da ferramenta GoSlimViewer do AgBase.

Slim_GO_Name	Input_Accession	Input_GOID	Input_GO_Name
protein folding	P95829	GO:0006457	protein folding
cellular amino acid metabolic process	Q8DUL2	GO:0006520	cellular amino acid metabolic process
response to stress	P95829	GO:0006950	response to stress
oxidation-reduction process	Q8DUL2	GO:0055114	oxidation-reduction process

Tabela 9 - Tabela com proteínas Microbianas importada para o Excel após a utilização da ferramenta GoSlimViewer do AgBase.

Rótulos de Linha
aging
P05164
anatomical structure development
P01024
P08779
P13646
P13647
P15924
P26038
Q08188
Q9UGM3
anatomical structure formation involved in morphogenesis
P01024
biological_process
P01009
P01024
P02768
P04406
P05164
P08779
P13646
P13647
P15924
P22079
P26038
Q08188
Q8TDL5
Q9HC84
Q9UGM3
biosynthetic process
P01024
P04406
P05164
Q9HC84
carbohydrate metabolic process
P04406
Q9HC84
catabolic process
P04406
P05164

P22079
cell adhesion
P15924
P26038
cell death
P02768
P04406
P05164
P15924
cell differentiation
P15924
P26038
Q08188
Q9UGM3
cell junction organization
P13647
P15924
cell motility
P08779
P26038
cell proliferation
P08779
Q9UGM3
cellular component assembly
P13647
cellular protein modification process
P01024
P04406
P15924
Q08188
Q9HC84
circulatory system process
P15924
cytoskeleton organization
P04406
P08779
P13646
P15924
embryo development
Q9UGM3
generation of precursor metabolites and energy
P04406
growth
P05164
Q9UGM3

homeostatic process
P02768
immune system process
P01024
P04406
P05164
P26038
Q8TDL5
Q9UGM3
lipid metabolic process
P01024
P02768
locomotion
P08779
P26038
neurological system process
P22079
protein complex assembly
Q08188
protein maturation
P01009
P01024
response to stress
P01009
P01024
P02768
P04406
P05164
P15924
P22079
Q8TDL5
Q9UGM3
signal transduction
P01024
Q8TDL5
Q9UGM3
small molecule metabolic process
P01024
P02768
P04406
P05164
P22079
sulfur compound metabolic process
P22079
symbiosis, encompassing mutualism through parasitism

P02768
P05164
Q9UGM3
translation
P04406
transmembrane transport
P02768
transport
P01009
P01024
P02768
Q9UGM3
vesicle-mediated transport
P01009
P01024
P02768
Q9UGM3

Tabela 10 - Tabela dinâmica com todos os processos biológicos específicos e as respectivas proteínas Humanas responsáveis pelos mesmos

Rótulos de Linha
cellular amino acid metabolic process
Q8DUL2
oxidation-reduction process
Q8DUL2
protein folding
P95829
response to stress
P95829
Total Geral

Tabela 11 - Tabela dinâmica com todos os processos biológicos específicos e as respectivas proteínas Microbianas responsáveis pelos mesmos.

Tabela A. Tabela do OralCard completa para Cáries Dentárias (*MesH ID 68003731*) após a pesquisa bibliográfica e o preenchimento da mesma. Este anexo encontra-se em formato digital (CD-R anexado).

Tabela B. Tabela com todos os processos biológicos específicos e proteínas humanas discriminados nos quais está identificado com “+” as correspondências entre ambos. Este anexo encontra-se em formato digital (CD-R anexado).