



UNIVERSIDADE CATÓLICA PORTUGUESA

DO PROTEOMA SALIVAR AO ORALOMA

Tese apresentada à Universidade Católica Portuguesa
para obtenção do grau de doutor em Ciências da Saúde

por

Nuno Ricardo das Neves Rosa

Departamento de Ciências da Saúde
Setembro de 2011



UNIVERSIDADE CATÓLICA PORTUGUESA

DO PROTEOMA SALIVAR AO ORALOMA

Tese apresentada à Universidade Católica Portuguesa
para obtenção do grau de doutor em Ciências da Saúde

Por Nuno Ricardo das Neves Rosa

Sob orientação de Marlene Maria Tourais de Barros e José Luís Oliveira

Departamento de Ciências da Saúde
Setembro de 2011

À minha filha Inês.



Infante D. Henrique a segurar uma caravela. Atrás dele estão os cartógrafos, matemáticos, astrónomos, carpinteiros, sapateiros, escudeiros, pilotos, capitães, os médicos, zoólogos, missionários e cronistas... todos aqueles que participaram na epopeia dos Descobrimentos.

Como recordado neste monumento emblemático, também na ciência, os avanços só são possíveis através da colaboração e trabalho em equipa de vários profissionais qualificados de formações diferentes.

Publicações

O trabalho desenvolvido no âmbito desta tese contribuiu para a elaboração das publicações, listadas aqui para referência.

Artigos com revisão por pares:

Rosa, N; Correia, MJ; Arrais, JP; Lopes, P; Melo, J; Oliveira, JL; Barros, MT. **From the salivary proteome to the OralOme: comprehensive molecular oral biology.** Archives of Oral Biology. (Aceite; DOI: 10.1016/j.archoralbio.2011.12.010).

Melo, J; Arrais, JP; Lopes, P; **Rosa, N;** Correia, MJ; Barros, MT; Oliveira, JL. **Web information system for the study of oral health.** HEALTHINF 2012. (aceite como full paper).

Comunicações orais:

Rosa, N; Barros M., **"A caminho do fisioma oral"**. V Jornadas de Medicina Dentária da Universidade Católica Portuguesa 14-15 Maio 2010

Rosa, N; Correia, M; Barros, M. **IDEaTool – Instrumento para o Ensino Integrado em Medicina Dentária.** IV Jornadas de Medicina Dentária. Centro Regional das Beiras da Universidade Católica Portuguesa. 21-23 de Maio de 2009.

Comunicações em painel (Poster):

Rosa, N; Correia, M; Barros, M. **In Silico Characterization of Human Saliva Proteome.** XVII Congresso Nacional de Bioquímica. Porto, Portugal 15-18 Dezembro de 2010.

Rosa, N; Morais, J; Correia, MJ; Barros, MT. **Identificação in silico de novos modelos moleculares da Periodontite.** V Jornadas de Medicina Dentária. Centro Regional das Beiras da Universidade Católica Portuguesa. 14-15 de Maio de 2010.

Rosa, N; Correia, M; Barros, M. **IDEaTool – Integrative Dental Education Tool.** Jornadas de Bioinformática 2009. Fundação Calouste Gulbenkian. Lisboa, Portugal 3-6 Novembro de 2009.

Agradecimentos

Ao Instituto de Ciências da Saúde, na pessoa do Professor Doutor Alexandre Castro Caldas, pela oportunidade de frequentar o curso de Doutorado em Ciências da Saúde

Ao Centro Regional das Beiras da Universidade Católica Portuguesa, na pessoa do Professor Doutor Aires do Couto, pelo apoio financeiro e institucional.

À Professora Doutora Marlene Barros por ser a minha mentora científica e pedagógica, por sempre acreditar em mim, mesmo quando eu próprio não o faço, pelos seus ensinamentos e conselhos douts e sempre sóbrios e pela liberdade de acção que deposita em quem a segue.

Ao Professor Doutor José Luís Oliveira, pela disponibilidade, pelo apoio técnico e por partilhar comigo a sua visão linear e pragmática da ciência.

À Professora Doutora Maria José Correia, pelo incentivo, pelos conselhos assertivos e pela disponibilidade.

Ao Joel, ao Pedro e ao Zé pelo apoio técnico e pela partilha de conhecimentos.

Aos meus pais, irmãos e avós, pela vivência familiar e por me providenciarem as fundações éticas e humanas através de exemplos sempre rectos que me moldaram na pessoa que sou.

À Guida, por todos os momentos passados, presentes e futuros, por suportar as minhas ausências (e por vezes as minhas presenças), pela força que me deu nos momentos mais difíceis e pela alegria que partilhou nos momentos mais felizes.

À Inês, por ser a minha inspiração, por me arrancar um sorriso mesmo quando o desânimo se instala e por me fazer sentir o melhor pai do mundo. “Sempre que o bolso se romper e eu cair ao chão, sei que me apanharás e me colocarás no coração”.

A Deus, por nunca me abandonar mesmo quando pareço distante.

Resumo

A cavidade oral humana é um ecossistema complexo onde factores do hospedeiro, microbianos e ambientais interagem num equilíbrio dinâmico que se reflecte no fluido que a envolve: a saliva. A compreensão da biologia da cavidade oral e dos distúrbios que a afectam (ou de doenças sistémicas que nela se reflectem) depende de ferramentas bioinformáticas que façam a compilação, a integração e a aplicação da informação gerada por técnicas de alto rendimento, como a proteómica, que se dedica à identificação de todas as proteínas expressas.

Na última década foram determinados diversos proteomas da cavidade oral. No entanto, não existe um instrumento que permita compilar, integrar e interpretar os dados gerados. Neste sentido, este trabalho contribuiu para o desenvolvimento de uma ferramenta bioinformática que permite aos investigadores estudar a diversidade e variabilidade das proteínas que integram o proteoma oral, permitindo definir e caracterizar o oraloma (fisioma da cavidade oral).

Este trabalho permitiu compilar os proteomas da cavidade oral publicados na última década e rever a informação relativa às proteínas identificadas, à luz do conhecimento actual. Este processo gerou uma grande quantidade de informação que obrigou à criação de uma base de dados para a armazenar, designada OralOme e de um portal web, designado OralCard, com funcionalidades que permitem ao utilizador pesquisar, integrar, interpretar e visualizar esses dados de forma relevante do ponto de vista biológico e clínico. O estudo das proteínas depositadas no OralOme contribuiu para a compreensão das funções moleculares das proteínas produzidas pelos vários sub-compartimentos da cavidade oral e, deste modo, para o esclarecimento do contributo de cada um deles para as funções da saliva.

Neste trabalho foram, ainda, testadas as diversas funcionalidades do OralCard na análise de dados de proteómica da cavidade oral provenientes de amostras de saliva para desenvolver metodologias de análise capazes de esclarecer mecanismos moleculares envolvidos em diversas patologias e para identificar requisitos funcionais a implementar em actualizações futuras.

As metodologias seguidas permitiram estudar a relação das proteínas salivares com os estados de saúde oral e sistémica e, conseqüentemente, salientar o potencial da saliva como fluido de diagnóstico.

O desenvolvimento de ferramentas bioinformáticas como o OralCard é um importante contributo para o esclarecimento da biologia oral e para o desenho de estratégias que facilitem a identificação de biomarcadores a partir de amostras de saliva, contribuindo para o desenvolvimento de métodos de diagnóstico e de prognóstico mais eficientes e de terapêuticas mais eficazes.

Abstract

The human oral cavity is a complex ecosystem where host, microbial and environmental factors interact in a dynamic equilibrium reflected in the fluid saliva. The understanding of the biology of the oral cavity and the disturbances affecting it (or the systemic diseases mirrored in it) depends on bioinformatics tools to compile, integrate and apply the information generated by high throughput techniques such as proteomics, which is devoted to the identification of expressed proteins.

Several proteomes of the oral cavity have been published in the last decade. A tool to compile, integrate and interpret the data generated by the several studies is still not available. The aim of this work is to contribute to the development of a bioinformatics tool which allows researchers to study the diversity and variability of proteins in the oral proteome defining and characterizing the oralome (physiome of the oral cavity).

In this study, the proteomes of the oral cavity published in the last decade were compiled and information regarding the proteins identified was curated. This process generated a large quantity of information leading to the creation of the OralOme database and the OraCard web portal. With OralCard the user may search, integrate, interpret and visualize the data extracting biological and clinical meaning. The study of the proteins in the OralOme contributes to the understanding of the molecular functions of the proteins produced by the various sub compartments of the oral cavity and therefore for the establishment of their contribution to salivary functions.

Furthermore, several functionalities of OralCard in the analysis of proteomic data were tested, with the objective of developing analysis methodologies for the clarification of the molecular mechanisms involved in several pathologies and support the inclusion of functional improvements in future updates of the portal.

The methodologies used allowed the study of the relationship between salivary proteins and oral and systemic health and therefore support the potential use of saliva as a diagnostic fluid.

The development of bioinformatics tools such as OralCard are an important contribution to the understanding of oral biology and the development of strategies that allow the identification of biomarkers from saliva samples, contributing to the development of effective diagnostic, prognostic and therapeutic methods.

Índice

Publicações	v
Agradecimentos	vii
Resumo	viii
Abstract.....	ix
Índice	x
Lista de Figuras	xii
Lista de Tabelas	xv
Lista de Abreviaturas	xvi
Nota Introdutória	1
1. Introdução.....	3
1.1. BIOLOGIA ORAL.....	3
1.1.1. Anatomofisiologia da Cavidade Oral	3
1.1.1.1. Lábios e Bochechas	4
1.1.1.2. Palato e Amígdalas Palatinas.....	6
1.1.1.3. Língua.....	6
1.1.1.4. Dentes e Periodonto	7
1.1.1.5. Mucosa Oral	10
1.1.1.6. Glândulas Salivares.....	12
1.1.2. Saliva.....	14
1.1.2.1. Origem e composição.....	14
1.1.2.2. Funções	21
1.1.2.3. A saliva como fluido de diagnóstico.....	28
1.2. DO GENOMA AO FISIOMA.....	32
1.2.1. Proteômica: técnicas utilizadas e problemas subjacentes	36
1.2.1.1. Principais técnicas de proteômica	38
1.2.2. Contributo das ciências Ómicas para a Medicina	43
1.2.2.1. Descoberta de biomarcadores (diagnóstico/prognóstico)	44
1.2.2.2. Desenvolvimento de novos agentes terapêuticos	46
1.2.3. Importância da Bioinformática como ferramenta de integração das ciências Ómicas	48
1.2.3.1. Recolha e integração de dados: bases de dados.....	48
1.2.3.2. Tratamento e visualização de dados	53
1.2.4. Contributo das ciências Ómicas para a Medicina Dentária.....	54

2. Objectivos.....	57
3. Material e Métodos.....	59
3.1. COMPILAÇÃO E REVISÃO DO PROTEOMA ORAL HUMANO	59
3.2. O ORALOME E O ORALCARD.....	65
3.3. CARACTERIZAÇÃO DO PROTEOMA SALIVAR HUMANO	66
3.3.1. Caracterização segundo ontologias génicas.....	66
3.3.2. Catalogação das proteínas orais segundo a associação a doenças	69
3.4. ESTUDOS DE INTERACTÓMICA	71
4. Resultados e Discussão.....	75
4.1. COMPILAÇÃO E REVISÃO DO PROTEOMA ORAL HUMANO	76
4.2. DESENVOLVIMENTO DO ORALCARD	80
4.2.1. Motivações para o desenvolvimento do OralCard	80
4.2.2. Concepção do OralCard.....	81
4.2.3. Estado actual.....	86
4.3. CARACTERIZAÇÃO DAS PROTEÍNAS DO PROTEOMA ORAL	95
4.3.1. Função das proteínas da saliva, das mucosas orais e do plasma salivar	95
4.3.2. Função das proteínas do componente salivar do proteoma oral	101
4.4. ESTRATÉGIAS DE ANÁLISE DE ALTERAÇÕES MOLECULARES EM DOENÇAS.....	105
4.5. A SALIVA COMO FLUIDO DE DIAGNÓSTICO.....	108
4.6. CASOS DE ESTUDO	110
4.6.1. Caso 1: Mecanismos moleculares envolvidos na remodelação óssea – implicações na periodontite	112
4.6.2. Caso 2: Mecanismos moleculares envolvidos no desenvolvimento da periodontite.....	115
4.6.3. Caso 3: Mecanismos moleculares da diabetes Tipo 2 com implicações na saúde oral.....	121
4.6.4. Resumo dos casos de estudo	126
5. Conclusões.....	129
6. Trabalho Futuro	133
Bibliografia	137
Anexos.....	151

Lista de Figuras

Introdução:

Figura 1. 1 - Estrutura da cavidade oral.....	5
Figura 1. 2 - Estrutura de um dente molar no alvéolo dentário.....	8
Figura 1. 3 - Secção da mucosa do palato duro, mostrando uma camada de epitélio queratinizado sobre a lâmina própria	10
Figura 1. 4 - Localização e estrutura das glândulas salivares.....	12
Figura 1. 5 - Principais componentes da saliva total.	15
Figura 1. 6 - Representação esquemática da relação entre as principais funções da saliva e os seus principais constituintes	21
Figura 1. 7 - Esquema representativo dos níveis de organização da informação biológica.....	32
Figura 1. 8 - Representação esquemática da "Pirâmide da Complexidade da Vida" segundo Oltvai & Barabasi	34
Figura 1. 9 - Esquema representativo da abordagem integrativa do fisioma cardíaco, enquanto parte do fisioma humano	36
Figura 1. 10 - Principais técnicas de proteómica.....	38
Figura 1. 11 - Quadro típico das fases que permitem encontrar moléculas candidatas a biomarcadores.....	45
Figura 1. 12 - Diferentes abordagens na pesquisa de novos agentes terapêuticos....	46
Figura 1. 13 - Necessidade da Bioinformática para a integração e interpretação dos dados gerados pelas ciências Ómicas.	48
Figura 1. 14 - Biosensor para diagnóstico salivar.....	56

Material e Métodos:

Figura 3. 1 - Organização da informação recolhida dos diferentes estudos de proteómica da cavidade oral.....	62
Figura 3. 2 - Exemplo da utilização da ferramenta "IPI History Search" para determinar alterações na identificação de uma determinada proteína.....	63
Figura 3. 3 - Exemplo da utilização do UniProt para determinar alterações na identificação de uma determinada proteína.....	64
Figura 3. 4 - Esquema representativo do desenvolvimento do OralCard como ferramenta de integração de dados biomédicos na biologia oral.	65
Figura 3. 5 - Sistema de análise em grupo da ferramenta de classificação do PANTHER.....	67
Figura 3. 6 - Ferramenta de análise de dados de expressão génica do PANTHER....	68
Figura 3. 7 - Página da ferramenta DAVID destinada à análise funcional de proteínas dirigida para a classificação em classes de doenças.	70
Figura 3. 8 - Página do OralCard para gerar redes de interações em torno de uma proteína escolhida.	71
Figura 3. 9 - Página de rosto da ferramenta STRING.	72
Figura 3. 10 - Página do STRING apresentando uma rede de interações moleculares.	73
Figura 3. 11 - Janela do STRING com os parâmetros de definição das redes geradas..	74

Resultados e Discussão:

Figura 4. 1 - Esquema geral dos resultados obtidos no presente trabalho	75
Figura 4. 2 – Identificação das diferentes origens das proteínas da cavidade oral e respectivo número de proteínas identificadas em cada uma delas, constituindo o OralOma.	77
Figura 4. 3 – A informação inicial recolhida para a construção do OralCard.....	83
Figura 4. 4 – Representação conceptual do sistema de pesquisa do OralCard.....	84
Figura 4. 5 – Representação conceptual dos níveis de informação sobre cada proteína armazenada no OralCard.	85
Figura 4. 6 - Vista geral da base de dados OralOme desenvolvida para armazenar as proteínas humanas e microbianas identificadas na cavidade oral	86
Figura 4. 7 - Página de rosto do OralCard, evidenciando o sistema de pesquisa.....	87
Figura 4. 8 - Janela do OralCard destinada à pesquisa de proteínas, exibindo o resultado de uma pesquisa e as opções de selecção atribuídas a cada um dos resultados encontrados	88
Figura 4. 9 - Janela com detalhes para cada uma das proteínas armazenadas no OralCard..	88
Figura 4. 10 - Janela do OralCard com informação base e classificação da proteína de acordo com as ontologias do PANTHER.....	89
Figura 4. 11 - Janela do OralCard com a lista de estruturas associadas a uma dada proteína.....	90
Figura 4. 12 - Janela do OralCard com a constituição em domínios estruturais da proteína TEC segundo a ferramenta SMART	90
Figura 4. 13 – Janela do OralCard com a rede de interacções moleculares em que está envolvida a proteína S100A8 presente no proteoma oral.....	91
Figura 4. 14 - Página de pesquisa de doenças do OralCard apresentando a lista de proteínas presentes na cavidade oral envolvidas no cancro da mama.	92
Figura 4. 15 - Janela de pesquisa de doenças do OralCard, apresentando um diagrama de um mapa de sinalização em que estão envolvidas proteínas do cancro da mama presentes na cavidade oral.....	93
Figura 4. 16 - Janela do OralCard relativa à informação relacionada com as origens da proteína S100A8 presente na cavidade oral.	93
Figura 4. 17 - Classificação das proteínas da saliva, das mucosas orais, do plasma salivar e do total de proteínas humanas na base de dados PANTHER, de acordo com diversas ontologias.	98
Figura 4. 18 - Diferenças observadas no número de proteínas do OralOma envolvidas em cada uma das funções moleculares, relativamente ao total de proteínas humanas.	99
Figura 4. 19 - Classificação das proteínas orais intracelulares e extracelulares de acordo com os processos biológicos em que estão envolvidas.	100
Figura 4. 20 - Classificação das proteínas obtidas de diferentes fontes de saliva de acordo com diferentes ontologias.....	103
Figura 4. 21 - Distribuição das proteínas envolvidas na resposta imune na saliva e no plasma sanguíneo.	104
Figura 4. 22 - Classificação das proteínas obtidas de amostras de saliva de dadores com várias patologias orais, de acordo com a função molecular e os processos biológicos em que participam.	106

Figura 4. 23 – Rede de interações moleculares em que participam as proteínas alteradas na resposta imune nas cáries dentárias..	107
Figura 4. 24 - Associação das proteínas humanas da saliva, do plasma salivar e do plasma sanguíneo a classes de doenças.....	108
Figura 4. 25 - Resultado da pesquisa no OralCard de mapas de sinalização ("pathways") em que intervêm as proteínas do oraloma envolvidas na periodontite.	113
Figura 4. 26 – Janela do OralCard com a rede de interações para a proteína TNFSF11 (RANKL).....	114
Figura 4. 27 - Janela do OralCard apresentando o resultado da pesquisa de doenças utilizando o termo "periodontitis"	116
Figura 4. 28 - Metodologia utilizada para a obtenção da lista de processos biológicos em que estão envolvidas as proteínas alteradas na gengivite, com a ferramenta PANTHER.....	117
Figura 4. 29 - Processos biológicos em que as proteínas alteradas da Periodontite Agressiva, Periodontite Crônica e Gengivite estão envolvidas.	118
Figura 4. 30 - Página do OralCard com a identificação das vias de sinalização correspondentes a uma das proteínas (A8TX70) alteradas na gengivite e envolvidas na resposta imune.	119
Figura 4. 31 - Rede de interações moleculares, das proteínas cuja expressão está alterada e que de alguma forma, estão envolvidas na resposta imune na Gengivite (G), Periodontite Crônica (PC) e Periodontite Agressiva (PA).....	120
Figura 4. 32 - Janela do OralCard correspondente à informação sobre a doença Diabetes Mellitus do Tipo 2..	122
Figura 4. 33 - Janela do OralCard com a indicação da variação na quantidade das proteínas orais relacionadas com a DMT2 relativamente a indivíduos saudáveis.	122
Figura 4. 34 - Representação gráfica da percentagem de proteínas da saliva alteradas na DMT2 em cada via de sinalização, em relação ao que seria de esperar no “estado de saúde” representado pelas proteínas do OralCard na ausência de patologia sistémica (Saliva normal) e do total de proteínas humanas (Genoma humano).....	123
Figura 4. 35 - Representação esquemática da rede de interações proteína-proteína em que participam os inibidores A2M e SERPINA1 com outras proteínas presentes na saliva.....	124
Figura 4. 36 - Janela do OralCard com as estruturas tridimensionais determinadas experimentalmente para a SERPINA1..	125

Lista de Tabelas

Introdução:

Tabela 1.1 - Diferentes classes de marcadores identificados na saliva e suas potenciais utilizações	29
--	----

Material e Métodos:

Tabela 3. 1 - Lista de trabalhos de proteômica da cavidade oral por origem das amostras, analisados neste trabalho	60
---	----

Resultados e Discussão:

Tabela 4. 1 - Quadro resumo da análise realizada aos três casos de estudo apresentados.	126
---	-----

Anexos:

Tabela i - Lista de proteínas identificadas até ao momento na cavidade oral	151
Tabela ii - Lista de revisões e actualizações a que foram sujeitas as proteínas identificadas nos estudos de proteômica da cavidade oral	227

Lista de Abreviaturas

2D-DIGE - Two-dimensional difference gel electrophoresis

2DE - *Two-dimensional gel electrophoresis*

A2M - Alfa-2-macroglobulina

ADN – Ácido desoxirribonucleico

ALP - Fosfatase alcalina

ALT - Alanina aminotransferase

ARN – Ácido ribonucleico

AST - Aspartato aminotransferase

BRENDA - *BRaunschweig ENzyme Database*

CE-MS - *Capillary electrophoresis coupled to mass spectrometry*

DHEA – Dihidroepiandrosterona

DMT – Diabetes mellitus

DMT2 – Diabetes mellitus tipo 2

EGF - Factor de crescimento epidermal

EMBL - *The European Molecular Biology Laboratory*

FCG – Fluido crevicular gengival

FGF - Factor de crescimento de fibroblastos

FS – Fluxo salivar

GO - *Gene Ontology*

HOMD- *Human Oral Microbiome Database*

HSPA2 – Proteína 2 de 70 kDa relacionada com choque térmico

HSPA8 - Proteína de 71 kDa relacionada com choque térmico

IGF-I - Factor de crescimento semelhante a insulina I

IGF-II - Factor de crescimento semelhante a insulina II

IL6 – Interleucina 6

IPI - *International Protein Index*

KEGG - *Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes*

LC–MS - *Liquid chromatography–mass spectrometry*

MMP8 – Metaloproteinase de matrix - 8 (colagenase de neutrófilos)

MMPi – Inibidores de metaloproteinases de matriz

MS - Espectrometria de massa

NCBI - *National Center for Biotechnology Information*

NFkB – Factor nuclear KB

NGF - Factor de crescimento neuronal

NIDCR - *National Institute of Dental and Craniofacial Research*

OMIM - *Online Mendelian Inheritance in Man*

PDB - *Protein Data Bank*

PDGF – Factor de crescimento derivado de plaquetas

PharmGKB - *The Pharmacogenetics Knowledge Base*

PID - *The Pathway Interaction Database*

PMN – Neutrófilos polimorfonucleares

PPI – Interações proteína-proteína

PRPs – Proteínas ricas em prolina

RANK - Receptor activador do factor nuclear KB

RANKL - Ligando do receptor activador do factor nuclear KB

ROS – Espécies reactivas de oxigénio

SELDI - *Surface enhanced laser desorption/ionization*

SERPINA1 - Alfa-1-antitripsina

SM/SL – Glândulas salivares submandibulares/sublinguais

SMART - *Simple Modular Architecture Research Tool*

SRM - *Selected reaction monitoring*

TGF α - Factor de crescimento transformador alfa

TGF β - Factor de crescimento transformador beta

UniH - *Unified Human Interactome*

UniProt - *The Universal Protein Resource*

VIH – Vírus da imunodeficiência humana

“Tenho pensamentos que, se conseguisse realizá-los e torná-los vivos, acrescentariam uma nova luz às estrelas, uma nova beleza ao mundo e um maior amor ao coração dos homens.”

Fernando Pessoa

Nota Introdutória

O conhecimento do corpo humano começou por ser macroscópico e centrado em entender a sua organização anatómica, uma vez que as técnicas existentes não permitiam ir mais além. Com o avanço de várias técnicas como a microscopia, imagiologia, citoquímica e, posteriormente, de técnicas de genómica e de proteómica o conhecimento do corpo humano passou a ser, primeiro ao nível histológico, depois ao nível celular e, mais tarde, surge o conhecimento a nível molecular com a determinação do genoma humano (conjunto de todos os genes humanos) e de diversos proteomas (conjunto de todas as proteínas) de vários sistemas em diferentes situações fisiológicas e/ou patológicas. Isto permitiu compreender como e porquê ocorrem alterações que promovem diferentes patologias e como algumas das situações podem ser diagnosticadas e resolvidas, de uma forma que nunca antes tinha sido possível. No entanto, depressa se constatou que o conhecimento do genoma não era suficiente para caracterizar um organismo, nem tão pouco o era conhecer o proteoma. Para caracterizar um dado sistema biológico é necessário conhecer, também, as interações entre todas as moléculas que nele participam, ou seja, conhecer o interactoma desse sistema biológico. À luz da interactómica, qualquer processo biológico é encarado não como resultado de uma acção independente de cada molécula interveniente, mas sim como uma rede de interações moleculares. Ainda assim, a interactómica não permite descrever totalmente o funcionamento de um sistema biológico. Para além de saber que determinada molécula interage com outra molécula, é necessário saber em que contextos anatómicos e fisiológicos é que o fazem. Surgiu assim, a ideia do fisioma e, no caso específico da cavidade oral, do ORALOMA (**ORAL**fisi**OMA**). No fundo, o objectivo final da determinação de um fisioma é desenvolver um sistema biológico virtual que represente tanto o seu estado fisiológico como permita simular as alterações que podem conduzir a situações patológicas ou permita prever a acção de determinados fármacos. O esclarecimento de um fisioma obriga à interpretação e integração da enorme quantidade de dados gerada pelas técnicas das várias ciências “Ómicas”,

nomeadamente da genómica, transcriptómica, proteómica, interactómica e metabolómica. Isto só é possível com a utilização de ferramentas bioinformáticas, que utilizam algoritmos complexos desenhados para o efeito e ofereçam métodos de visualização e interpretação destes dados de forma a torná-los inteligíveis. Esta é a base para a biologia de sistemas que pretende compreender um dado sistema biológico no seu todo, de modo a retirar significado fisiológico dos complexos mecanismos moleculares que o caracterizam e, deste modo, desenhar estratégias para a aplicação a problemas biológicos concretos^[1,2].

O principal desafio proposto neste trabalho consistiu em reunir a vasta informação gerada nos últimos anos por estudos de proteómica da cavidade oral e desenvolver metodologias que permitam transpor essa informação para um conhecimento biológico relevante que facilite a sua interpretação e aplicação no contexto clínico. Nesse sentido, neste trabalho, são compilados os diversos proteomas da cavidade oral e apresentam-se as estratégias que levaram ao desenvolvimento de uma ferramenta de informação web para estudos em saúde oral, designada por OralCard. A usabilidade desta ferramenta é testada e são apresentadas funcionalidades a implementar no futuro de modo a tornar a ferramenta de aplicação abrangente.

1. Introdução

A cavidade oral humana é um ecossistema complexo onde factores do hospedeiro, microbianos e ambientais interagem num equilíbrio dinâmico que se reflecte no fluido que a envolve: a saliva. A compreensão da biologia da cavidade oral e dos distúrbios que a afectam (ou de doenças sistémicas que nela se reflectem) depende da compilação e integração da informação gerada por técnicas de alto rendimento, como a proteómica, e da interpretação desta informação à luz dos aspectos anatómicos e fisiológicos da cavidade oral. Deste modo, o enquadramento deste trabalho é feito apresentando os aspectos mais relevantes da anatomofisiologia da cavidade oral, da origem, composição e funções da saliva, bem como do contributo das diversas ciências Ómicas e da bioinformática para o esclarecimento dos aspectos moleculares da fisiologia oral.

1.1. BIOLOGIA ORAL

A biologia oral debruça-se sobre os diferentes nichos formados pelas várias estruturas anatómicas que constituem a cavidade oral. Só é possível compreender a biologia oral estudando a saliva como sendo o reflexo dos mecanismos moleculares responsáveis pelos acontecimentos fisiológicos observados em cada um desses nichos.

1.1.1. Anatomofisiologia da Cavidade Oral

A cavidade oral, também conhecida como cavidade bucal ou, mais simplesmente, boca, faz parte do tracto digestivo e é delimitada anteriormente pelos lábios, posteriormente pelas fauces (orofaringe, garganta, abertura para a faringe), lateralmente pelas bochechas, superiormente pelo palato e inferiormente por um pavimento muscular (Figura 1.1). A cavidade oral

encontra-se dividida em duas secções: 1) o vestíbulo, que corresponde ao espaço entre os lábios, as bochechas e os processos alveolares, que contêm os dentes, e 2) cavidade oral propriamente dita que se encontra numa posição mediana relativamente aos processos alveolares ^[3,4].

1.1.1.1. Lábios e Bochechas

Os lábios (Figura 1.1) são pregas musculares essencialmente formadas pelo músculo orbicular dos lábios e também por tecido conjuntivo. A superfície externa dos lábios é coberta por pele. O epitélio estratificado queratinizado da pele no bordo dos lábios é bastante fino e não tão queratinizado quanto o da pele circundante. Os vasos sanguíneos conferem aos lábios uma coloração que vai do rosa-avermelhado ao vermelho escuro, dependendo da sua pigmentação. A margem interna é revestida por epitélio, contínuo ao epitélio pavimentoso estratificado da mucosa da cavidade oral.

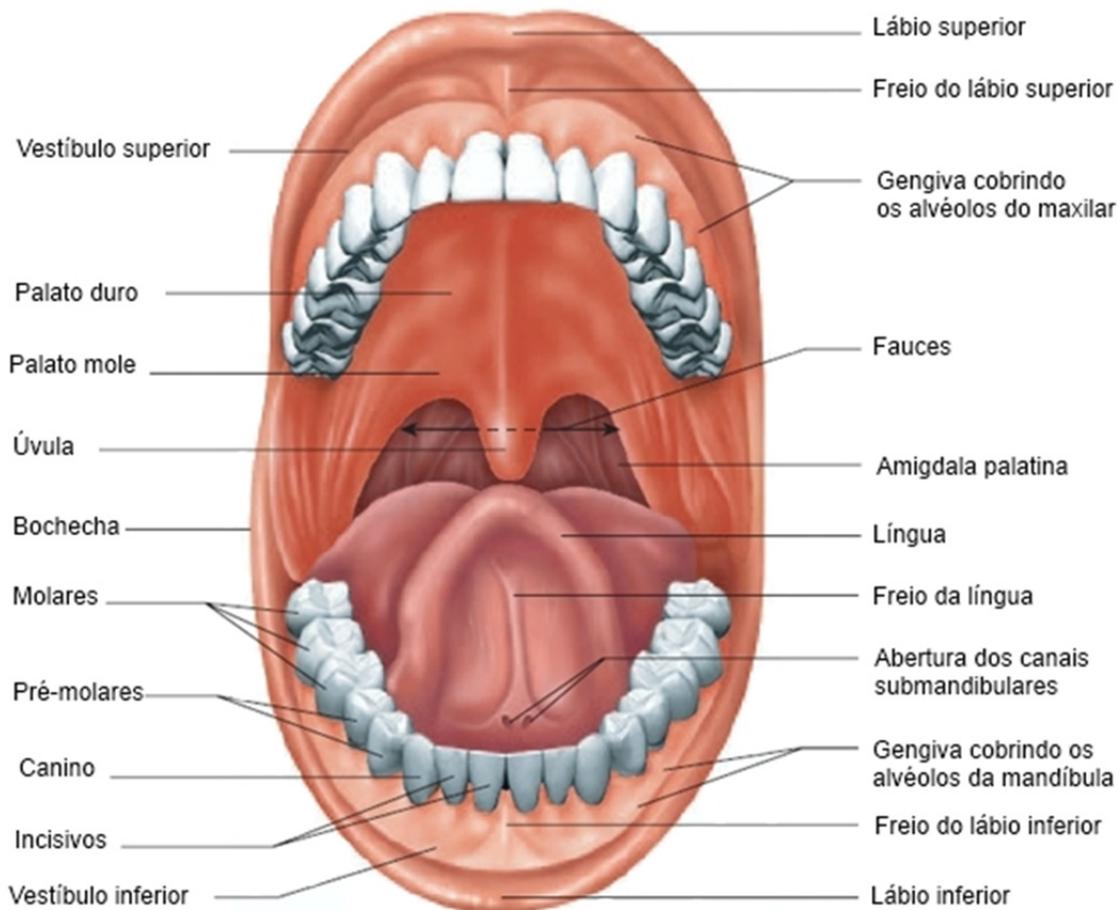


Figura 1. 1 - Estrutura da cavidade oral (adaptado de Seeley *et al* 2007^[3])

A partir dos alvéolos dentários dos maxilares superior e inferior prolongam-se um ou mais freios (pregas de mucosas) em direcção aos lábios superior e inferior, respectivamente.

As bochechas formam as paredes laterais da cavidade oral. São constituídas, internamente, por uma mucosa de epitélio pavimentoso estratificado e uma camada externa de pele. A bochecha é ainda constituída pelo músculo bucinador, que a achata contra os dentes, e pela almofada adiposa da bochecha, que arredonda o perfil da face.

Os lábios e as bochechas são importantes nos processos da mastigação e da fala. Auxiliam a manipulação dos alimentos dentro da boca, mantendo-os posicionados enquanto os dentes os trituram ou despedaçam. Também ajudam na formação das palavras. No movimento dos lábios está envolvido um grande número de músculos da expressão facial.

1.1.1.2. Palato e Amígdalas Palatinas

O palato (ver figura 1.1) é constituído por duas partes: uma óssea anterior, o palato duro; e uma não-óssea posterior, o palato mole ou véu palatino, constituído por músculo-esquelético e tecido conjuntivo. A úvula é uma projecção do bordo posterior do palato mole. O palato é importante na deglutição, impedindo a passagem dos alimentos para a cavidade nasal.

As amígdalas palatinas estão localizadas nas paredes laterais da orofaringe (fauce).

1.1.1.3. Língua

A língua é um grande órgão muscular que ocupa a maior parte da cavidade oral propriamente dita, quando a boca está fechada. Está ligada à cavidade oral principalmente pela parte posterior. A sua parte anterior é relativamente livre, estando ligada ao pavimento da boca por uma fina prega de tecido, o freio. Os músculos associados à língua dividem-se em duas categorias: músculos intrínsecos (contidos na língua) e músculos extrínsecos (externos à língua mas ligados a ela). Os músculos intrínsecos são os grandes responsáveis pelas mudanças de forma da língua, tal como o seu achatamento e elevação durante a ingestão de líquidos e a deglutição. Os músculos extrínsecos permitem a protrusão e retracção da língua, a sua movimentação lateral e modificações de forma. A língua está dividida em duas partes por um sulco denominado sulco terminal. A parte anterior ao sulco terminal corresponde a cerca de 2/3 da sua superfície e está coberta por papilas, algumas das quais com receptores gustativos. O terço posterior da língua é desprovido de papilas, com apenas alguns terminais gustativos dispersos e apresenta pequenas glândulas e um grande aglomerado de tecido linfóide, a amígdala lingual. A língua é revestida por epitélio pavimentoso estratificado. A língua mistura os alimentos na boca e, em conjunto com os lábios e as gengivas, mantém os alimentos posicionados durante a mastigação. Desempenha também um papel importante na deglutição. É um dos principais órgãos sensoriais do paladar e fulcral para a fala^[5].

1.1.1.4. Dentes e Periodonto

Os dentes são estruturas rígidas salientes compostas por polpa, dentina e esmalte, que desempenham um papel importante na mastigação e na fala. Os adultos normais têm 32 dentes, distribuídos por duas arcadas dentárias, uma maxilar e outra mandibular. A distribuição dos dentes de cada metade é simétrica da outra. Assim, os dentes podem ser divididos em quatro quadrantes: superior direito, superior esquerdo, inferior direito e inferior esquerdo. Em cada quadrante existem um incisivo central e um lateral, um canino, o primeiro e segundo pré-molares e o primeiro, segundo e terceiro molares (figura 1.1). Os dentes do adulto são definitivos ou da segunda dentição. Na sua maior parte são substituições dos dentes primários ou decíduos (dentes de leite) perdidos durante a infância. Os dentes decíduos irrompem (a coroa torna-se visível) entre os 6 e os 24 meses. O processo de substituição dos dentes decíduos pelos definitivos inicia-se por volta dos 5 anos, terminando por volta dos 11 anos.

Cada dente é constituído por uma coroa com uma ou mais cúspides (pontas), um colo e uma raiz (Figura 1.2). A coroa clínica corresponde à porção do dente visível na cavidade oral, a coroa anatómica corresponde à porção do dente revestida por esmalte. No interior do dente existe um espaço - a cavidade pulpar - preenchido com vasos sanguíneos, nervos e tecido conjuntivo, constituindo a polpa. À porção da cavidade pulpar que penetra na raiz dá-se o nome de canal radicular. Os nervos e os vasos sanguíneos penetram e saem da polpa através de um orifício na extremidade de cada raiz, o foramen ou buraco apical. A cavidade pulpar é circundada por tecido vivo, celular e calcificado, a dentina. A dentina da coroa do dente é revestida por uma substância extremamente dura, o esmalte, que protege os dentes da abrasão e dos ácidos produzidos pelas bactérias da boca. O esmalte é a substância mais dura e mais mineralizada do corpo humano, apresentando aproximadamente 95% de minerais, 1% de matéria orgânica e 4% de água. A sua rigidez deriva da orientação e tamanho dos cristais de hidroxiapatita que se formam durante o seu desenvolvimento^[6]. Na raiz, a superfície da dentina

encontra-se envolvida pelo cemento, uma substância celular semelhante ao osso, que ajuda a fixar o dente ao maxilar^[3].

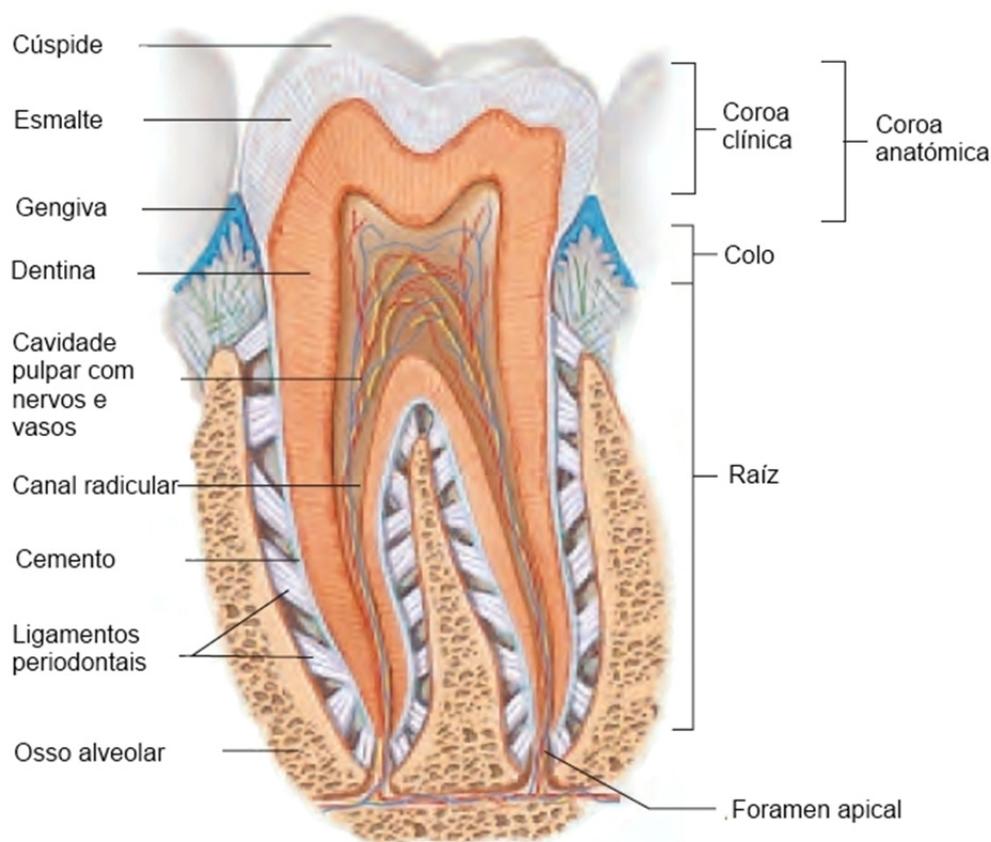


Figura 1. 2 - Estrutura de um dente molar no alvéolo dentário (adaptado de Seeley *et al* 2007^[3])

Os dentes encontram-se envolvidos e suportados por um grupo de tecidos que, no seu conjunto, constituem o periodonto. O periodonto encontra-se dividido em duas partes: 1) a gengiva, cuja principal função é proteger os tecidos subjacentes e 2) o processo de inserção dental, constituído pelo ligamento periodontal, pelo cemento e pelo osso alveolar^[7]. O cemento é considerado um elemento do periodonto porque, juntamente com o osso, serve de suporte às fibras do ligamento periodontal. Os dentes estão embutidos nos alvéolos ao longo dos processos alveolares da maxila e da mandíbula. Os processos alveolares estão cobertos por tecido conjuntivo fibroso denso e por epitélio pavimentoso estratificado, constituindo a gengiva (ver figura 1.1). A gengiva divide-se anatomicamente em gengiva livre ou marginal, interdentária e inserida ou aderente^[7]. O espaço ou fenda entre a gengiva livre e a superfície

do dente é designado por sulco gengival. Este, tem a forma de um V e, em situações de saúde, raramente ultrapassa os 2 a 3 mm de profundidade^[8,9]. A profundidade do sulco gengival é um importante parâmetro de diagnóstico de doença periodontal. O sulco gengival contém um fluido que se infiltra até ele, a partir do tecido conjuntivo gengival, através do epitélio sulcular, designado de fluido crevicular gengival (FCG). O FCG é o resultado da interação entre o biofilme bacteriano aderido à superfície do dente e as células do tecido periodontal^[10] e pode ser produzido por dois mecanismos distintos. Um dos mecanismos depende da geração de um gradiente osmótico o qual é formado pela acumulação de subprodutos das bactérias que habitam a placa dentária sub-gengival. Estas macromoléculas difundem-se através do epitélio crevicular gengival até à membrana basal, que impede uma penetração mais profunda. Consequentemente, as macromoléculas acumulam-se na membrana basal resultando num aumento localizado da concentração de solutos e, deste modo, ao estabelecimento de um gradiente osmótico. As moléculas de solvente forçadas através da membrana basal por este gradiente, aumentam a pressão hidrostática intercelular, causando a exsudação do fluido gengival. O fluido produzido por este mecanismo pode ter origem em tecidos clinicamente e histologicamente saudáveis. O segundo mecanismo para a produção do FCG depende da indução de um processo inflamatório clássico. Se a placa bacteriana não for removida, os seus subprodutos moleculares acabarão por atravessar a membrana basal. Dependendo das propriedades enzimáticas, tóxicas e antigénicas destas moléculas, pode ser iniciada uma exsudação inflamatória clássica. Portanto, o fluido gengival pode progredir, em diferentes períodos e diferentes áreas da boca, a partir de um exsudado inicial modulado osmoticamente até a um exsudado inflamatório secundário com consequentes alterações na sua composição^[11].

1.1.1.5. Mucosa Oral

A estrutura básica da mucosa oral assemelha-se à de outras mucosas de revestimento como as da vagina e esófago. No entanto, na boca existe uma maior variação na espessura epitelial do que noutras mucosas^[12]. Estas variações dependem em larga escala dos diferentes graus de queratinização observados na mucosa em diferentes locais da cavidade oral. Algumas das reacções da mucosa oral assemelham-se às apresentadas pela pele. Isto poderá dever-se ao facto da mucosa oral fazer a transição entre o tracto gastrointestinal e a pele. Como resultado disto, tanto doenças das membranas mucosas como da pele podem originar lesões na boca. No entanto, a mucosa oral comporta-se essencialmente como uma membrana mucosa e os processos patológicos que nela se desenvolvem parecem assemelhar-se mais com os da mucosa vaginal.

A membrana mucosa oral consiste, tanto anatomicamente como fisiologicamente, em duas camadas: uma (lâmina própria) essencialmente de origem mesodérmica e uma epitelial (Figura 1.3).

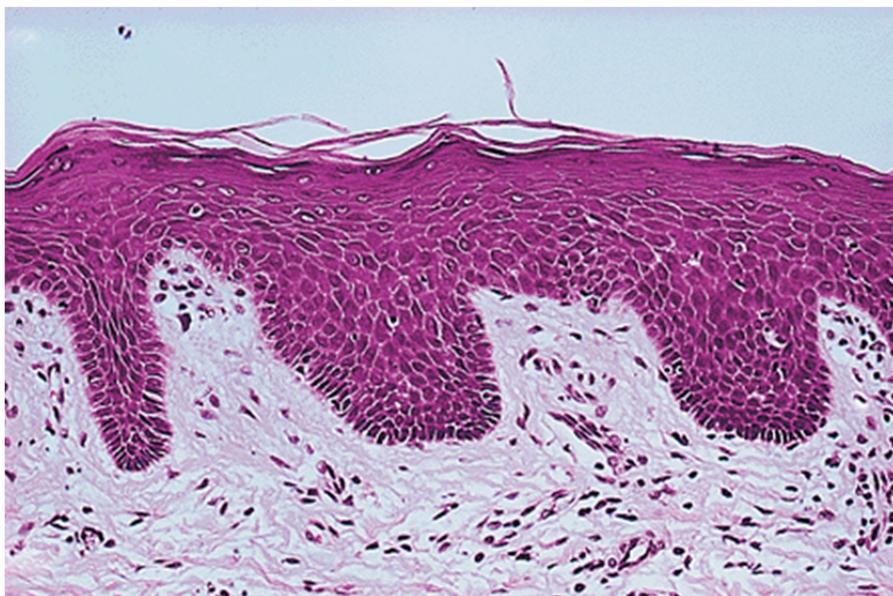


Figura 1. 3 - Secção da mucosa do palato duro, mostrando uma camada de epitélio queratinizado sobre a lâmina própria (adaptado de Field 2003^[12])

Os principais componentes celulares do epitélio oral são os queratinócitos mas também podem existir outros tipos celulares como melanócitos, células de Langerhans e células de Merkel. Na mucosa normal a integridade do epitélio é mantida pela divisão dos queratinócitos na camada basal. Os queratinócitos migram a partir da membrana basal e sofrem modificações estruturais até atingirem o epitélio. Estas modificações, que são dependentes do processo de queratinização, variam consoante o local da mucosa em que ocorrem e resultam na formação de uma camada superficial de células que podem ser totalmente, parcialmente ou não-queratinizadas. A taxa de regeneração dos queratinócitos também varia consoante o local em que se formam. Sabe-se que esta taxa é de 50 a 70 dias na pele, bem como no epitélio gengival, mas que na mucosa bucal é muito mais rápida, ocorrendo a regeneração em cerca de 25 dias^[12]. Durante a diferenciação dos queratinócitos, estes vão ficando achatados e formam-se no seu interior estruturas granulares designadas grânulos querato-hialinos. Posteriormente, na superfície ou muito perto desta, os queratinócitos perdem a sua estrutura interna detalhada, os grânulos querato-hialinos fragmentam-se e desaparecem, o núcleo degenera e os complexos proteicos insolúveis acabam por preencher toda a célula, que se apresenta nesta altura totalmente queratinizada. Além de queratina, os queratinócitos diferenciados sintetizam e armazenam uma série de proteínas específicas, incluindo profilagrina, involucrina e outros percursores de espessamento do envelope celular, nas camadas mais superficiais^[13]. Nesta fase, os desmossomas também degeneram e estas células achatadas acabam por se perder por descamação para a cavidade oral. Por cada célula queratinizada que se perde por este processo uma nova célula deve ser produzida no compartimento de proliferação do epitélio subjacente, de modo a manter a estabilidade do tecido. Este processo de renovação aplica-se apenas ao epitélio totalmente queratinizado como o observado, por exemplo, na membrana mucosa que reveste o palato duro e em partes das gengivas. Noutras áreas, como nalgumas partes da mucosa bucal, no pavimento da boca e na parte ventral da superfície da língua, este tipo de queratinização não ocorre, não se formando grânulos querato-hialinos e podendo-se observar núcleos e outros organelos (embora algo alterados) nas camadas superficiais do epitélio. A distribuição destes diferentes tipos de epitélio na mucosa oral

normal tem uma relação estreita com a função destes tecidos nos locais onde são observados e a alteração dos padrões normais podem ajudar na compreensão da patogênese das doenças que afectam a mucosa oral^[12].

Os queratinócitos e células de Langerhans desempenham um papel importante na imunovigilância do epitélio oral, e ambos segregam e respondem a citocinas imunologicamente activas, incluindo interleucinas e interferões. O conceito de imunidade localizada da mucosa está actualmente sob investigação tanto no que concerne à manutenção da integridade dos tecidos normais como ao seu papel nos mecanismos moleculares de desenvolvimento de patologias orais, como por exemplo o *lichen planus*^[14].

1.1.1.6. Glândulas Salivares

As glândulas salivares são componentes vitais da cavidade oral, sendo que alterações nas suas funções podem provocar graves perturbações no nosso estilo de vida^[15]. Existem muitas glândulas salivares distribuídas pela cavidade oral. Há três pares de grandes glândulas multicelulares (designadas no seu conjunto por glândulas salivares principais): as parótidas, as submandibulares e as sublinguais (Figura 1.4a).

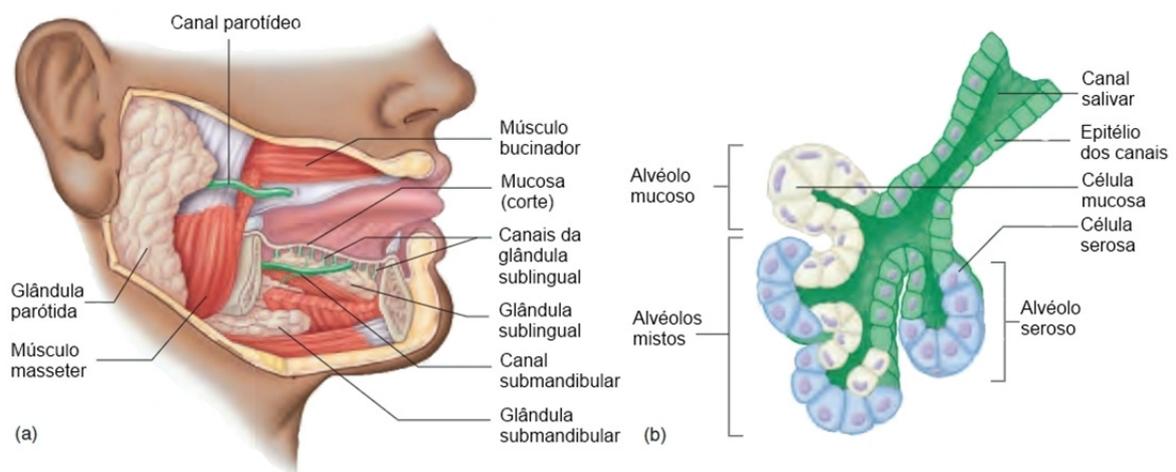


Figura 1. 4 - Localização e estrutura das glândulas salivares. a) localização das glândulas salivares principais; b) representação esquemática genérica de uma glândula salivar principal (adaptado de Seeley *et al* 2007^[3])

Para além destes grandes agregados de tecido glandular, existem muitas glândulas tubulares enoveladas localizadas abaixo do epitélio da língua (glândulas linguais), do palato (glândulas palatinas), região jugal (glândulas bucais) e lábios (glândulas labiais). Estas glândulas são referidas no seu conjunto como glândulas salivares menores. As secreções destas glândulas ajudam a manter a cavidade oral húmida e iniciam o processo da digestão.

Todas as glândulas salivares principais são constituídas por glândulas alveolares compostas ramificadas, com cachos de alvéolos semelhantes a cachos de uvas (Figura 1.4b). Produzem secreções serosas diluídas, ou secreções mucosas e espessas. Logo, a saliva é uma combinação de secreções serosas e mucosas das várias glândulas salivares.

As maiores de todas são as glândulas parótidas, são glândulas serosas que produzem principalmente saliva aquosa e estão localizadas anteriormente ao ouvido de cada lado da cabeça. Cada canal parotídeo abre-se na margem anterior da glândula, atravessa a face lateral do músculo masseter e penetra o músculo bucinador, entrando na cavidade oral junto ao segundo molar superior (Figura 1.4a). As glândulas submandibulares são mistas, com mais alvéolos serosos do que mucosos. Cada glândula pode ser detectada como uma massa mole ao longo do limite inferior da metade posterior da mandíbula. A partir de cada glândula abre-se um canal que atravessa anteriormente e em profundidade a mucosa do pavimento bucal, que se abre na boca, junto ao freio da língua (Figura 1.4a). Nalguns indivíduos, quando a boca se encontra aberta e a ponta da língua elevada, os canais submandibulares podem encontrar-se comprimidos e a saliva pode sair em jactos através da abertura dos canais.

As glândulas sublinguais, as mais pequenas de todas as principais, são mistas e apesar de terem alguns alvéolos serosos, são principalmente constituídas por alvéolos mucosos. Estão localizadas imediatamente abaixo da mucosa do pavimento bucal. Ao contrário das glândulas submandibulares e parótidas, estas não têm canais individuais bem definidos; abrem-se no pavimento da cavidade bucal através de 10 a 20 pequenos canais.

As glândulas salivares sofrem alterações estruturais com a idade e isso reflecte-se na quantidade da saliva produzida e no tipo de componentes

segregados^[12,16,17]. Isto tem uma implicação profunda na composição e funções da saliva produzida e, conseqüentemente, na saúde oral.

1.1.2. Saliva

Embora a saliva, ao longo da história, tenha sido desprezada na literatura e vista por muitas culturas como o insulto supremo, os investigadores, médicos e pacientes estão cada vez mais a olhar para a saliva como um fluido adequado para diagnóstico, seguro e "não-invasivo". Actualmente, muitos biomarcadores podem ser detectados e medidos em fluídos orais. Para além disso, a saliva pode reflectir tanto a saúde oral como um estado sistémico^[18]. Isto abre a extraordinária oportunidade de realçar a investigação conduzida neste campo ou de expandir a versatilidade da saliva enquanto fluido de diagnóstico tanto de doenças orais como sistémicas. As especificidades relativas às actividades biológicas da saliva estão apenas a começar a ser reveladas experimentalmente, no entanto, o organismo humano continua a beneficiar diariamente deste fluido biológico muitas vezes ignorado. À medida que melhor se conhecem as propriedades da saliva surgirão, sem dúvida, diferentes percepções sobre novos alvos para a investigação de doenças e para descoberta de novas terapêuticas.

1.1.2.1. Origem e composição

A saliva é um fluido biológico aquoso, com múltiplas funções, com claras implicações na saúde oral^[19]. O fluido oral é constituído maioritariamente por água (99%) mas inclui também uma mistura de electrólitos (sódio, potássio, cálcio, cloro, magnésio, bicarbonato e fosfato), proteínas (incluindo enzimas, imunoglobulinas e outros factores antimicrobianos, glicoproteínas da mucosa, vestígios de albumina e vários polipéptidos e oligopéptidos) e, em menores quantidades, glucose e produtos nitrogenados (ureia e amónia)^[20]. Estes componentes funcionam de forma integrada e são responsáveis pelas várias funções atribuídas à saliva.

No que toca à origem, podemos considerar dois tipos de saliva. O primeiro tipo corresponde à saliva específica das glândulas, que é possível de ser recolhida directamente a partir das glândulas salivares individuais. A saliva é segregada maioritariamente pelos três pares de glândulas principais: parótidas (20%), submandibulares (65-70%) e sublinguais (7-8%). Estas glândulas são responsáveis pela produção de aproximadamente 90% do volume total de saliva sendo o restante (<10%) produzido principalmente por uma série de glândulas salivares menores, dispersas pela mucosa oral^[21]. A recolha e análise da saliva produzida por cada uma das glândulas é especialmente útil na detecção de patologias específicas das glândulas. Um segundo tipo, a saliva total, corresponde a uma mistura de fluídos orais que incluem as secreções das glândulas salivares, juntamente com vários constituintes de origem não-salivar, como o fluído crevicular gengival (FCG), secreções nasais e bronquiais expectoradas, derivados do sangue provenientes de lesões orais, bactérias e produtos bacterianos, vírus, fungos, células epiteliais descamadas, outros componentes celulares e restos de alimentos submetidos ao processo de mastigação^[19,20,22,23] (Figura 1.5).

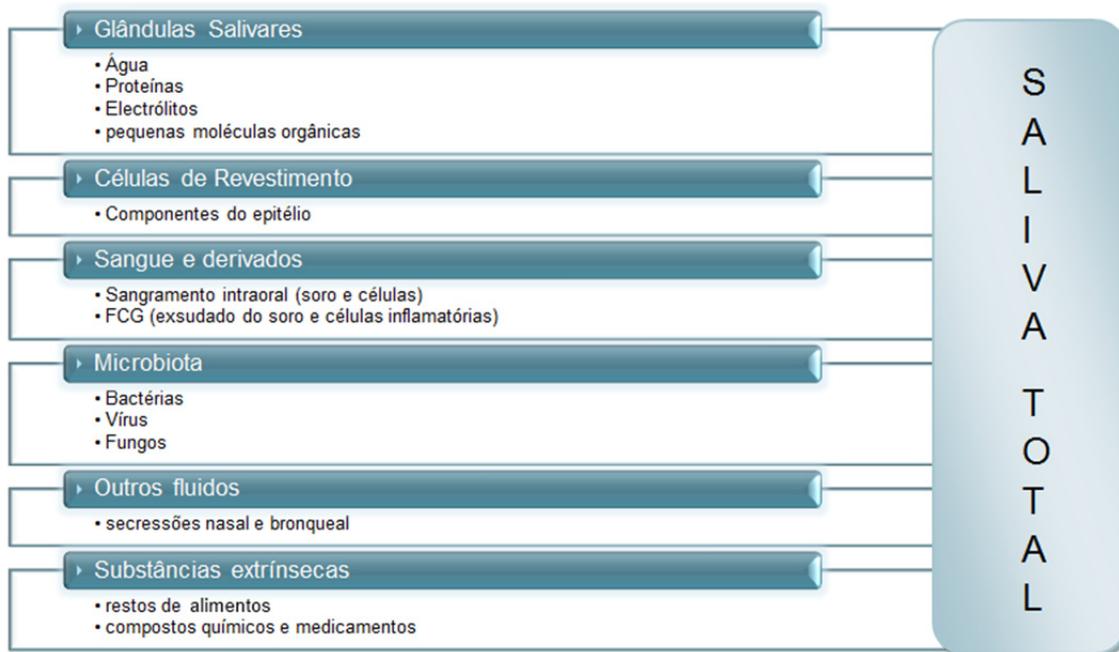


Figura 1. 5 – Principais componentes da saliva total.

Como pode ser visto na figura 1.5, parte das proteínas que aparecem na saliva tem origem no sangue. Existem vários processos pelos quais as

proteínas do sangue que não fazem parte da composição normal da saliva podem chegar a esta. Um desses processos é o sangramento intra-oral que pode levar soro e células até à saliva. Outro dos processos consiste na transferência directa a partir do plasma, que ocorre dentro das glândulas salivares, através de mecanismos que incluem vias transcelulares e vias paracelulares. A via transcelular mais comum é a difusão simples, apesar de terem sido descritos casos de transporte activo. Já a via paracelular mais frequente é a ultrafiltração que ocorre nos complexos juncionais estreitos, entre as células^[24]. Os constituintes do sangue também podem surgir na saliva através do fluxo do FCG. Dependendo do grau de inflamação da gengiva, o FCG pode ser um transudado sérico ou então, mais frequentemente, um exsudado inflamatório que contém componentes séricos.

Uma pessoa adulta saudável produz, diariamente, cerca de 1 a 1,5 l de saliva^[23]. A secreção salivar é estimulada pelos sistemas simpático e parassimpático, tendo este último um papel mais proeminente. Os núcleos salivares do tronco cerebral aumentam a secreção salivar, emitindo potenciais de acção através das fibras parassimpáticas dos nervos cranianos facial (VII) e glosso-faríngeo (IX) em resposta a diversos estímulos, tais como a estimulação táctil da cavidade oral ou certos sabores (especialmente ácidos). Os centros superiores também afectam a actividade das glândulas salivares. Odores que levem a pensar em comida ou a sensações de fome, também podem aumentar a secreção salivar^[3]. Esta secreção dependente de estímulos e constitui aproximadamente 80% a 90% do volume total de saliva produzida diariamente. Por outro lado, em repouso, na ausência de estimulação exógena ou farmacológica, observa-se um fluxo salivar (FS) reduzido e contínuo, designado de secreção basal, presente sob a forma de uma película que cobre, humidifica e lubrifica os tecidos orais^[22,23,25,26]. O índice FS é um parâmetro que permite classificar o fluxo salivar (estimulado e não-estimulado) como sendo normal, baixo ou muito baixo (hipossalivação)^[20]. Em adultos, são considerados normais os valores de FS estimulado entre 1 a 3 ml/min, baixos entre 0.7 a 1 ml/min enquanto se considera hipossalivação quando se observam valores de FS abaixo de 0.7 ml/min. Já no que toca a situações de não-estimulação, são considerados normais os valores de FS entre 0.25 e 0.35 ml/min, baixos entre

0.1 a 0.25 ml/min e hipossalivação abaixo de 0.1 ml/min^[20,25]. No entanto, os valores de FS considerados normais apresentam uma grande variação entre indivíduos e, no mesmo indivíduo, em circunstâncias diferentes. Por esta razão, os valores de FS devem ser determinados regularmente e não serem considerados “normais” ou “anormais” apenas baseado numa medição pontual. Existem vários factores que influenciam o FS e a sua composição. A saber:

1) Estado de hidratação

O estado de hidratação de um indivíduo é o factor que mais influencia a secreção de saliva^[25]. Quando a quantidade de água corporal é reduzida em 8% o FS é virtualmente eliminado, enquanto a hiperhidratação causa um aumento do FS. O estado de hidratação influencia também a composição da saliva. Num estado de desidratação a concentração de proteína total e a osmolaridade aumentam significativamente^[27].

2) Postura corporal, iluminação e hábitos tabágicos

Pessoas que permanecem de pé ou deitadas apresentam, respectivamente, maior e menor FS relativamente às que permanecem sentadas. Existe um decréscimo da produção de saliva (entre 30 a 40%) em pessoas vendadas ou no escuro. No entanto, isto não se verifica em pessoas cegas, o que sugere uma adaptação fisiológica à falta de luz, por parte destes últimos^[20]. O fumo do tabaco aumenta transitoriamente a secreção não-estimulada de saliva. Além disso, pessoas que fumam apresentam maior FS estimulado do que não fumadores^[28]. Estas diferenças são provocadas, por um lado, pelo efeito irritante do fumo e, por outro, pelas alterações morfológicas e funcionais profundas induzidas pela nicotina nas glândulas salivares^[29].

3) Ritmo circadiano e circannual

O FS atinge o seu máximo ao fim da tarde e decresce até praticamente zero durante a noite. Mesmo a composição da saliva varia de acordo com o ritmo circadiano^[23,30]. Também existem registos de variação na produção de saliva relativamente à época do ano^[31], mas o aumento da produção observada no Inverno poderá estar relacionada com outros factores, como o estado de hidratação dos indivíduos testados.

4) Terapêuticas

Existem muitas classes de agentes terapêuticos, especialmente os que apresentam acção anti-colinérgica (anti-depressivos, ansiolíticos, anti-psicóticos, anti-histamínicos e anti-hipertensivos), que podem causar uma redução no FS e alterar a sua composição^[32-34].

5) Estimulação regular do fluxo salivar

Existem evidências de que mascar pastilhas elásticas sem açúcar, de forma regular, aumenta o FS e, conseqüentemente, favorece a saúde oral a vários níveis^[35].

6) Tamanho das glândulas salivares

O FS estimulado é directamente proporcional ao tamanho das glândulas salivares. O que não acontece com o FS não-estimulado^[36].

7) Exercício físico

O exercício físico pode alterar a secreção e induzir alterações na quantidade de vários componentes da saliva, tais como imunoglobulinas, hormonas, lactato, várias proteínas e electrólitos^[37]. Durante as actividades físicas a estimulação simpática parece ser suficientemente forte para reduzir ou mesmo inibir a secreção de saliva^[20].

8) Consumo de álcool

A ingestão de etanol provoca uma redução significativa do FS estimulado. Esta redução pode ser devida a alterações na libertação de proteínas e na diminuição da libertação de electrólitos^[29,38].

9) Doenças sistémicas e nutrição

Em algumas doenças sistémicas como pancreatite, diabetes, insuficiência renal, anorexia, bulimia e doença celíaca os níveis de proteínas como a amílase salivar, encontram-se elevados^[20]. Também alterações do foro psíquico-emocional podem alterar a composição bioquímica da saliva. Assim, doenças como as depressões, são acompanhadas de uma diminuição no

conteúdo proteico da saliva^[39]. Deficiências nutricionais também podem influenciar a composição da saliva e, conseqüentemente, alterar as suas funções^[23]. Apesar do jejum de curta duração reduzir o FS, não provoca hipossalivação uma vez que o fluxo normal é restabelecido assim que acabar o período de jejum. Sabe-se também que o FS aumenta antes e durante o vômito^[36].

10) Idade

Apesar de existirem muitos estudos sobre a secreção salivar, a relação do FS com a idade permanece algo obscura, em parte devido a observações contraditórias relatadas na literatura e à quase ausência de estudos sobre o FS em idosos saudáveis, em que não se façam sentir outros factores como por exemplo a medicação^[40]. Análises histológicas demonstraram que com o avançar da idade o parênquima das glândulas salivares é substituído gradualmente por tecido adiposo e tecido fibrovascular, ficando o volume dos ácinos reduzido^[41,42]. No entanto, estudos funcionais em indivíduos saudáveis demonstraram que o envelhecimento não leva obrigatoriamente a uma redução da capacidade das glândulas produzirem saliva^[43]. Navazesh *et al.*^[44] descobriram que o FS não estimulado é significativamente mais baixo em indivíduos saudáveis entre os 65 e os 83 anos do que entre os 18 e os 35 anos de idade. No entanto, o FS estimulado apresentou-se significativamente aumentado na faixa etária mais alta. Percival *et al.*^[40] também reportou uma redução do FS não estimulado em indivíduos mais velhos (acima dos 80 anos) mas não detectou redução no FS estimulado nesta faixa etária. Foi sugerido que os idosos não apresentam disfunções relacionadas com a capacidade de responder a sialogogos (fármacos que induzem a produção de saliva) mas que a redução do FS não estimulado pode contribuir para o desenvolvimento de doenças na mucosa oral.

11) Género

As diferenças observadas na secreção de saliva entre homens e mulheres têm sido atribuídas a duas teorias: 1) as mulheres têm glândulas salivares mais pequenas que os homens e 2) o padrão hormonal das mulheres pode provocar uma diminuição da secreção de saliva^[40]. No entanto, não foram

detectadas diferenças significativas no que respeita ao FS entre mulheres saudáveis pré e pós-menopausa, tanto nas que receberam terapia de substituição como nas que não receberam qualquer tratamento^[45]. Percival *et al.*^[40] mostrou que as mulheres saudáveis, não medicadas, apresentam um FS (não estimulado e estimulado) mais baixo do que os homens. Já Shern *et al.*^[46] considerou que o FS total não estimulado não varia com a idade. No que toca às diferenças na composição da saliva relativamente à idade, existem apenas alguns estudos pontuais de proteómica mas que não são esclarecedores da influência deste factor na composição da saliva. Uma vez que existem muitos factores a influenciar quantitativamente e qualitativamente a saliva produzida, a interpretação dos dados existentes deverá ter sempre em conta estes factores, sob pena de serem tiradas conclusões erradas. Também os métodos de recolha de saliva deverão ser uniformizados de modo a eliminarem ao máximo a variabilidade a eles inerente.

1.1.2.2. Funções

A saliva está envolvida em variadíssimas funções, estando estas intimamente relacionadas com a sua composição em proteínas. A saliva exerce acção sobre os dentes, a mucosa oral, a comida e os microrganismos que colonizam a cavidade oral (Figura 1.6)^[19,20].

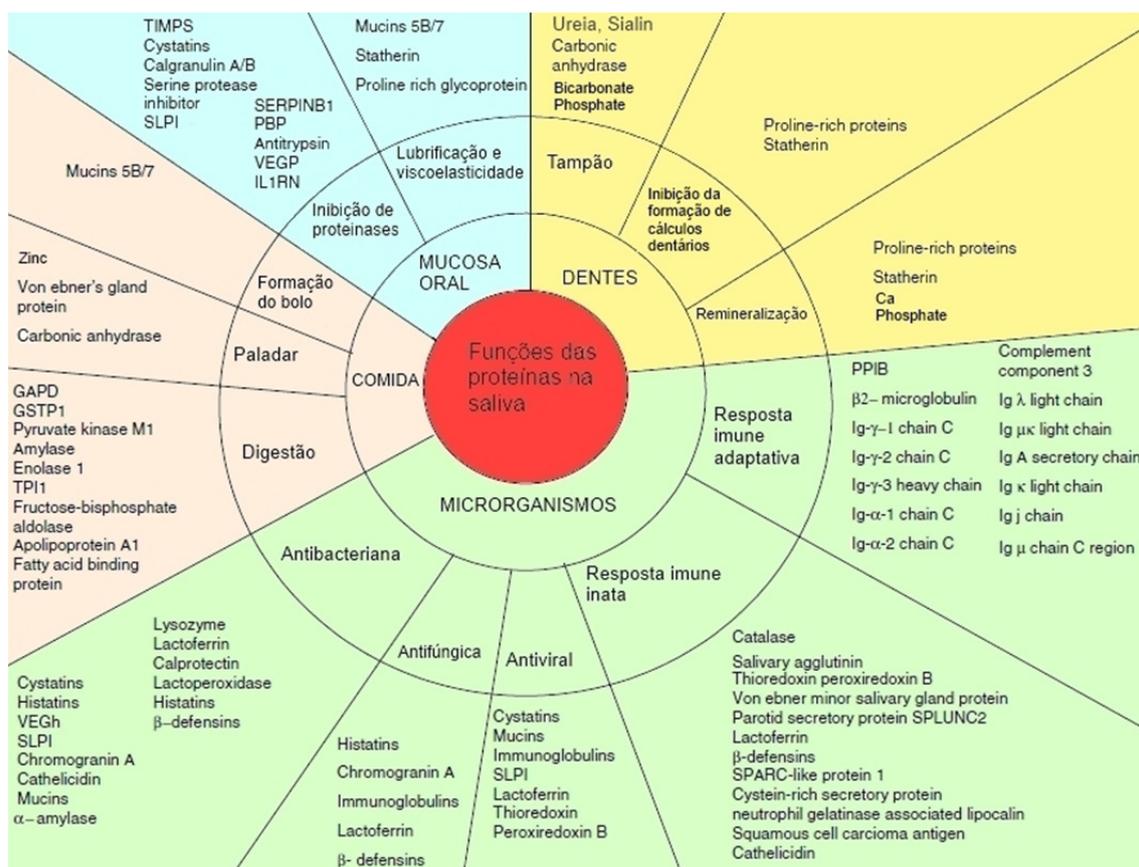


Figura 1. 6 - Representação esquemática da relação entre as principais funções da saliva e os seus principais constituintes (adaptado de Huq et al 2007^[19])

De entre as principais funções da saliva podemos destacar:

1) Acção sobre o paladar

A saliva formada inicialmente nos ácinos das glândulas salivares é isotónica em relação ao plasma. No entanto, à medida que percorre a rede de ductos salivares, torna-se hipotónica^[36,47]. Esta característica (níveis baixos de glucose, sódio, cloro e ureia) e a capacidade da saliva em providenciar a

dissolução de substâncias, permite que as papilas gustativas detectem pequenas variações nos sabores. A gustina, uma proteína salivar, parece ser necessária para o crescimento e maturação das papilas gustativas^[23,32,48].

2) Protecção e lubrificação

A saliva forma uma camada seromucínosa que lubrifica e protege os tecidos orais contra agentes agressores^[32,43]. Isto ocorre devido à existência de mucinas (proteínas com elevado conteúdo de hidratos de carbono), responsáveis pela lubrificação, protecção contra desidratação e pela manutenção da viscoelastecidade da saliva. As mucinas também modulam selectivamente a adesão dos microrganismos à superfície dos tecidos orais, o que contribui para o controlo da colonização da cavidade oral por bactérias e fungos. Além disso, as mucinas protegem os tecidos orais de ataques proteolíticos levados a cabo por microrganismos. Por fim, a mastigação, a fala e a deglutição são auxiliadas pelo poder lubrificante conferido pelas mucinas^[23,43,48-50].

3) Diluição e lavagem

Os açúcares, na sua forma livre, encontram-se em concentrações bastante reduzidas na cavidade oral (0.5 a 1 mg/100ml)^[22], pois são diluídos pela saliva, aparecendo apenas em concentrações elevadas aquando da ingestão de alimentos ou de bebidas. Para além de diluir substâncias, a consistência fluída da saliva dá-lhe a capacidade de limpar mecanicamente resíduos presentes na boca, tais como bactérias não aderentes e restos de células e de alimentos, reduzindo a disponibilidade de nutrientes para os microrganismos do biofilme oral. Quanto maior for o FS, maior a sua capacidade diluidora e de limpeza. Deste modo, se ocorrerem alterações na saúde oral que levem à diminuição do FS, existirá uma drástica alteração na capacidade de limpeza da cavidade oral^[43].

4) Capacidade tampão

A saliva comporta-se como uma solução tampão, para proteger a cavidade oral, na medida em que: 1) previne a colonização por microrganismos potencialmente patogénicos, por alteração das condições óptimas de

crescimento; 2) a saliva neutraliza e elimina os ácidos produzidos por microrganismos acidogénicos prevenindo a desmineralização do esmalte dentário. Sabe-se, por exemplo, que a proteína sialina desempenha um importante papel no aumento de pH após a exposição do biofilme oral a hidratos de carbono fermentáveis^[51]. A ureia é outro componente que contribui para a actividade tampão da saliva provocando uma subida repentina do pH, através da libertação de amónia e dióxido de carbono, resultante da sua hidrólise por ureases bacterianas^[22,36]. No entanto, a amónia é potencialmente citotóxica para os tecidos gengivais. Este composto é mesmo um factor importante para o desencadear da gengivite uma vez que pode aumentar a permeabilidade do epitélio gengival a outras substâncias tóxicas e antigénicas, para além de potenciar a formação de cálculos dentários (tártaro)^[52]. A capacidade tampão da saliva estimulada e não estimulada envolve três sistemas tampão: tampão bicarbonato, tampão fosfato e tamponificação por proteínas. Na saliva estimulada o principal sistema tampão é o bicarbonato, enquanto na saliva não estimulada, ganha relevo o sistema tampão fosfato. Abaixo de pH 5, a capacidade tampão da saliva fica apenas dependente das proteínas^[53].

5) Integridade do esmalte dentário

A saliva desempenha um papel essencial na manutenção da estrutura físico-química do esmalte dentário modulando a sua remineralização e desmineralização. Os factores principais que controlam a estabilidade da hidroxiapatita são as concentrações dos iões cálcio, fosfato e fluoreto em solução e o pH da saliva^[20]. As altas concentrações de cálcio e fosfato na saliva asseguram trocas iónicas dirigidas à superfície dos dentes, que começam aquando da erupção dentária, resultando em maturação pós-eruptiva. A remineralização de um dente cariado, antes da formação de uma cavitação (lesão resultante da cárie em que há destruição do dente e se forma uma cavidade), é possível devido à disponibilidade de iões cálcio e fosfato na saliva^[20,32]. A concentração do cálcio varia com o FS e não depende da dieta^[20]. No entanto, doenças como a fibrose quística e alguns fármacos como a pilocarpina, podem causar um aumento da concentração de cálcio. Dependendo do pH, o cálcio pode ser ionizado ou ligado a outras substâncias.

O cálcio ionizado é importante no estabelecimento do equilíbrio entre os fosfatos de cálcio do esmalte e os líquidos adjacentes. Já o cálcio não ionizado, pode ligar-se a iões inorgânicos (fosfato inorgânico, bicarbonato e fluoreto), pequenos iões orgânicos (citrato) e a macromoléculas (estaterinas, péptidos ricos em histidinas e proteínas ricas em prolina). Um caso especial da combinação do cálcio com proteínas é a sua forte ligação à α -amilase, actuando como um cofactor essencial para a função desta enzima^[54]. A presença do ião fluoreto na saliva, mesmo em concentrações fisiológicas baixas, é essencial para a estabilidade dos minerais dentários. A sua concentração na saliva encontra-se relacionada com o seu consumo e é dependente da sua concentração no ambiente, nomeadamente na água de consumo. Outras fontes são também importantes, como é o caso dos dentífricos e de outros produtos utilizados na prevenção de cáries dentárias. A presença de iões fluoreto na saliva reduz a perda de minerais dentários durante uma descida de pH na cavidade oral, uma vez que estes iões reduzem a solubilidade da hidroxiapatita, tornando-a mais resistente à desmineralização. Foi também demonstrado que o fluoreto reduz a produção de ácidos pelo biofilme oral, uma vez que é um inibidor não competitivo da enolase, uma enzima chave da glicólise anaeróbia que dá origem ao fosfoenolpiruvato e, conseqüentemente, ao ácido pirúvico^[55,56].

6) Digestão

A saliva é responsável pelo início da digestão do amido, favorecendo a formação do bolo alimentar. Esta acção ocorre principalmente devido à presença da enzima α -amilase (ptialina) na saliva, dividindo o amido em maltose, maltotriose e dextrinas. Esta enzima, cuja acção é limitada à cavidade oral (inactivada pelos ácidos do estômago) é considerada um bom indicador do funcionamento adequado das glândulas salivares, uma vez que constitui cerca de 40 a 50% das proteínas por elas segregadas^[38].

7) Função reparadora

É atribuída à saliva uma função reparadora, uma vez que clinicamente o tempo de sangramento dos tecidos orais é inferior a outros tecidos. Quando a saliva é misturada com o sangue, o tempo de coagulação é reduzido

drasticamente (apesar do coágulo resultante ser menos sólido do que o normal). Estudos em ratos mostraram que o tempo de cicatrização é reduzido na presença de saliva devido à presença de factores de crescimento epidermais produzidos pelas glândulas submandibulares^[20], factores estes que promovem o crescimento, proliferação e diferenciação celulares.

8) Propriedades antimicrobianas e participação na formação do biofilme oral e do tártaro

A saliva contém uma série de proteínas, imunológicas e não-imunológicas, com propriedades antimicrobianas. A imunoglobulina A (IgA) é o principal anticorpo presente na saliva. É capaz de neutralizar bactérias, vírus e toxinas. Funciona como um anticorpo para antígenos bacterianos e é capaz de agregar bactérias, inibindo a sua aderência aos tecidos orais^[23,32,54]. Outras proteínas envolvidas na resposta imunológica, tais como IgG e IgM, aparecem em menor quantidade e, provavelmente, têm origem no fluido gengival^[22,23]. Entre as proteínas salivares não-imunológicas com propriedades antimicrobianas, encontram-se enzimas (lisozima, lactoferrina e peroxidase), glicoproteínas (mucinas), aglutininas, histatinas, proteínas ricas em prolina (PRPs), estaterinas e cistatinas^[19,54]. A lisozima consegue hidrolisar a parede celular de algumas bactérias e, porque é fortemente catiónica, pode activar autolisinas que, por sua vez, conseguem destruir componentes da parede celular de bactérias, levando à sua destruição. As bactérias gram negativas são mais resistentes à acção da lisozima, devido à camada de peptidoglicanos que possuem. Outros mecanismos antibacterianos foram já propostos para esta enzima, tais como mecanismos de agregação e de inibição da adesão bacteriana^[22,23,57]. A lactoferrina liga-se ao ferro livre na saliva, causando um efeito bactericida ou bacteriostático sobre vários microrganismos que dependem de ferro, tais como os do grupo dos *Streptococcus mutans*. Esta proteína também tem efeito fungicida, antiviral e função anti-inflamatória e imunomoduladora^[22,23,57,58]. A peroxidase, ou sialoperoxidase, oferece actividade antimicrobiana porque funciona como catalisador da oxidação do ião tiocianato pelo peróxido de hidrogénio em hipocianato, um potente agente antimicrobiano. Além disso, como o peróxido de hidrogénio é consumido nesta reacção, as proteínas e as células são protegidas dos efeitos tóxicos e

oxidantes deste composto^[59]. As proteínas ricas em prolina (PRPs) e as estaterinas inibem a precipitação espontânea de sais de fosfato de cálcio e o crescimento de cristais de hidroxiapatita na superfície dos dentes, prevenindo a formação de cálculos salivares e dentários. Outra função proposta para as PRPs é a de mediar selectivamente a adesão bacteriana à superfície dos dentes^[20,60]. As cistatinas são também relacionadas com a formação de película dentária adquirida e com o equilíbrio dos cristais de hidroxiapatita. Devido às suas propriedades como inibidores de proteases, supõe-se que ajam como controladores da actividade proteolítica^[23,60]. As histatinas, uma família de péptidos ricos em histidina, apresentam actividade antimicrobiana contra algumas estirpes de *Streptococcus mutans*^[61] e inibem a hemaglutinação de *Porphyromonas gingivallis*^[62]. Além disso, neutralizam os lipopolissacarídeos da parede de bactérias gram negativas^[63] e são potentes inibidores do crescimento e desenvolvimento do fungo *Candida albicans*^[64]. Os efeitos bactericidas e fungicidas das histatinas resultam da ligação destas proteínas às membranas, provocando a destruição da sua estrutura e alterando a sua permeabilidade. Outras funções atribuídas às histatinas incluem a participação na formação da película adquirida e a inibição da libertação de histamina pelos mastócitos, sugerindo um papel destas nos processos inflamatórios da cavidade oral^[20]. A aglutinina salivar, uma proteína altamente glicosilada, frequentemente associada a outras proteínas salivares e à IgA, é outra das proteínas salivares com actividade antimicrobiana, promovendo a aglutinação de bactérias (quando se encontra na superfície dos dentes)^[65] e, quando solúvel na saliva, pode funcionar como um inibidor específico da infecciosidade do VIH-1 e do vírus da influenza A^[66].

9) Propriedades antioxidantes da saliva

A saliva pode constituir a primeira linha de defesa contra o stresse oxidativo mediado por radicais livres. Os radicais livres e as espécies reactivas de oxigénio (ROS) são produzidos pelas glândulas salivares e pelos neutrófilos polimorfonucleares (PMN) para regular o crescimento bacteriano. No entanto, se estes agentes não forem eventualmente contrabalançados por antioxidantes, então, podem surgir danos nos tecidos adjacentes. A saliva é rica em agentes antioxidantes. O mais comum é o ácido úrico, que constitui

aproximadamente 85% de todos os antioxidantes salivares^[67]. A albumina, o α -tocoferol, o β -caroteno, o ácido ascórbico (vitamina C) e a glutathiona são outros antioxidantes que podem ser encontrados na saliva. O ambiente oral pode conter grandes quantidades de O_2 , O_3 , OH^- e H_2O_2 , os quais podem causar danos severos nos tecidos do hospedeiro, nomeadamente, promovendo a despolimerização do ácido hialurónico e dos proteoglicanos, a peroxidação dos lípidos e a degradação de ADN. A saliva fornece protecção antioxidante prevenindo a formação de radicais livres e removendo os já formados bem como, ajudando na reparação dos danos existentes^[67].

10) Factores de crescimento presentes na saliva

A saliva possui uma concentração biologicamente significativa de factores de crescimento, incluindo factor de crescimento epidermal (EGF), factor de crescimento neuronal (NGF), factor de crescimento de fibroblastos (FGF), factores de crescimento transformador ($TGF\alpha$ e $TGF\beta$) e factores de crescimento semelhantes a insulina (IGF-I e IGF-II)^[68]. Pensa-se que o EGF protege as mucosas oral e gástrica, que são constantemente sujeitas a agentes agressores, dos efeitos de citotóxicos e da formação de úlceras. O NGF promove a proliferação das glândulas parótidas e desempenha um papel na regeneração nervosa da mucosa oral. O FGF é um regulador dos processos de cicatrização, uma vez que estimula a proliferação de células vasculares, fibroblastos e mioblastos. O $TGF\beta$ é um factor de crescimento que apresenta variadas funções que incluem a regulação da resposta imune, crescimento e diferenciação celulares e a formação de matriz extracelular e de osso^[68,69]. Apesar dos efeitos deste factor de crescimento na cavidade oral não estarem ainda totalmente esclarecidos, estudos recentes apontam para uma função na homeostasia dos tecidos orais e do esófago^[69]. Esta abundância de factores de crescimento na saliva encontra-se disponível para os tecidos do tracto alimentar e, conseqüentemente, as suas concentrações têm de se manter elevadas de modo a desempenharem as suas funções num ambiente em que estão constantemente a ser retirados da cavidade oral pelo processo de deglutição.

1.1.2.3. A saliva como fluido de diagnóstico

Para a maioria das pessoas será, provavelmente, surpreendente saber que a saliva tem sido utilizada como meio de diagnóstico há mais de dois mil anos. Já os curandeiros da medicina tradicional chinesa tinham concluído que a saliva e o sangue eram “irmãos” no corpo humano e tinham uma origem comum. Acreditavam que alterações na saliva eram indicadoras de doenças nos pacientes. A viscosidade e o cheiro da saliva, bem como o sabor da sua própria saliva, notado pelo paciente, eram todos utilizados como sintomas de vários estados patológicos. Por exemplo, um aumento da produção de saliva era relacionado com um estado de azia e um sabor adocicado na saliva era indicador de problemas no baço. Essas teorias são marcos históricos de algumas das primeiras aplicações da saliva no diagnóstico e na monitorização da saúde. No entanto, só o desenvolvimento de técnicas que permitem a detecção de componentes salivares em muito pequenas quantidades, permitiu colocar o diagnóstico salivar como uma área promissora de investigação dentária^[18]. Actualmente, os cientistas e engenheiros de todo o mundo estão a desenvolver estratégias para definir e fundamentar bases científicas essenciais para suportar a utilização da saliva como um biofluido de diagnóstico, nomeadamente, esclarecer os “alfabetos” de diagnóstico salivar e o desenho e desenvolvimento de biossensores capazes de realizar testes rápidos e eficientes, baseados em saliva, e que possam ser utilizados no ambiente clínico. O primeiro passo para estabelecer as fundamentações científicas consiste em esclarecer os “alfabetos” de diagnóstico encontrados na saliva. A saliva é um fluido amorfo e, apesar de sabermos bastante sobre as suas propriedades, relativamente pouco se sabe sobre os seus componentes moleculares. Esta lacuna no conhecimento torna difícil, se não impossível, o desenvolvimento de investigação científica dirigida para a descoberta de novos biomarcadores capazes de auxiliarem no diagnóstico. Na última década, com o desenvolvimento de técnicas de proteómica de alto rendimento e com maior poder de resolução, ocorreu uma explosão de estudos dirigidos para o esclarecimento do proteoma salivar. Entre estes estudos, destaca-se uma iniciativa conjunta de vários grupos (*The Scripps Research Institute*, da

Universidade de Rochester; Universidade da Califórnia - Los Angeles; Universidade da Califórnia - San Francisco), financiada pelo “*National Institute of Dental and Craniofacial Research*” (NIDCR) que levou à identificação de 1166 proteínas^[70], dando início ao que se pode chamar de proteoma salivar. Este conhecimento, já foi utilizado com sucesso para identificar, na saliva, biomarcadores discriminatórios para o cancro oral^[71] e para o Síndrome de Sjögren’s^[72]. Para além das tentativas de esclarecer o proteoma salivar, outras iniciativas têm surgido no sentido de descobrirem e desenvolverem outro tipo de “ferramentas” passíveis de ser utilizadas no diagnóstico molecular, como sejam o transcriptoma oral (conjunto de transcritos presentes na saliva), o metaboloma oral (conjunto de todos os metabolitos encontrados na saliva) e o microbioma oral (conjunto de todos os microrganismos que habitam a cavidade oral). Todos estes trabalhos permitiram identificar, na saliva, várias classes de biomarcadores com potencial para o diagnóstico^[18] (Tabela 1.1).

Tabela 1.1 - Diferentes classes de marcadores identificados na saliva e suas potenciais utilizações (adaptado de Wong, 2008^[18])

Classe de Biomarcador	Aplicações possíveis
ADN	Genotipagem comum Infecções bacterianas Diagnóstico do cancro da cabeça e pescoço Ciências forenses
ARN	Identificação de bactérias/vírus Diagnóstico de cancro oral
Proteínas	Diagnóstico de periodontite Diagnóstico de cancro Susceptibilidade a cáries
Mucinas/glicoproteínas	Diagnóstico do cancro da cabeça e pescoço Susceptibilidade a cáries
Imunoglobulinas	Infecções virais (VIH, hepatite B e C)
Metabolitos	Várias condições endócrinas Avaliação do stresse/estado psicológico Diagnóstico de periodontite Diagnóstico de fibrose quística
Drogas e seus metabolitos	Monitorização do abuso de drogas Controlo da toma de agentes terapêuticos
Vírus	Reactivação de vírus Epstein-Barr (mononucleose)
Bactérias	Diagnóstico de cancro oral Susceptibilidade a cáries
Componentes celulares	Diagnóstico de cancro da cabeça e pescoço

Até ao momento, a saliva já foi alvo de estudos visando a sua utilização na avaliação de risco de cáries dentárias e na detecção de várias doenças orais como a periodontite, cancro oral, doenças das glândulas salivares e doenças sistémicas como por exemplo infecções virais (VIH, hepatites e Epstein-Barr)^[71,73]. Com base na avaliação dos níveis de marcadores moleculares específicos, têm sido identificados, na saliva, perfis moleculares adequados a prognóstico. A facilidade de recolha de amostras de saliva providencia uma forma fácil de determinar níveis hormonais, incluindo estrogénio (estradiol), progesterona, testosterona, dihidroepiandrosterona (DHEA) e cortisol. A identificação não invasiva do estradiol é importante em situações em que se pretenda ter um indicador que permita avaliar o risco de nascimento prematuro ou de bebés de baixo peso^[74]. A saliva permite também a detecção de várias drogas, bem como a sua quantificação, sendo um substituto viável aos testes sanguíneos, sendo actualmente possível a detecção de drogas de abuso (cocaína, álcool e opiáceos) e a monitorização terapêutica de fármacos como a digoxina, metadona e alguns anticonvulsivos. Além disso, a saliva pode ser útil na descoberta das causas genéticas de doenças, incluindo a determinação de factores de risco genéticos. Por fim, a saliva também poderá ser útil no combate ao bioterrorismo. A determinação da exposição a toxinas requer, para além de uma tecnologia rápida, altamente sensível, portátil, de fácil utilização e capaz de detectar simultaneamente vários agentes, uma fonte biológica adequada. A saliva preenche bem estes requisitos, podendo ser recolhida sob observação e de forma menos susceptível a adulteração^[18].

Com o estabelecimento das bases de investigação em saliva, os investigadores biomédicos e de Medicina Dentária têm agora os fundamentos científicos para desenvolver novas ferramentas clínicas que permitam pesquisar amostras de saliva, de forma precisa, em busca da presença ou ausência de biomarcadores específicos de determinadas doenças. Actualmente, estão a ser desenvolvidos biossensores miniaturizados que permitem utilizar uma gota de saliva para determinar múltiplos biomarcadores salivares, em tempo real e com baixos custos^[75].

Apesar da análise do sangue e dos seus componentes continuar a ser o esteio dos procedimentos laboratoriais de diagnóstico, existem fortes razões para utilizar a saliva como um fluido de diagnóstico na monitorização da saúde e da doença. Acima de tudo, a saliva cumpre as exigências de um bom método de diagnóstico ou seja, é um fluido de baixo custo, não invasivo e de fácil utilização. Além disso, como os componentes da saliva com origem no sangue, são derivados principalmente da vasculatura local originada nas artérias carótidas^[75], a saliva é um fluido que fornece muitas das proteínas encontradas na circulação sistémica. Isto permite que a saliva possa ser utilizada como ferramenta de diagnóstico tanto para doenças orais como para doenças sistémicas. Enquanto ferramenta clínica, a saliva apresenta mesmo várias vantagens em relação ao soro sanguíneo: é mais fácil de recolher, armazenar e transportar e pode ser obtida com custos reduzidos em quantidades suficientes para análise. Para os pacientes, as técnicas de recolha não invasivas reduzem drasticamente a ansiedade e desconforto provocado pela amostragem, simplificando a recolha de amostras de forma repetida para monitorização a longo prazo. Para os profissionais, a recolha de saliva é mais segura do que os testes sanguíneos, que podem expor os prestadores de cuidados de saúde a vírus como o VIH e o vírus da hepatite. O risco de contágio pela saliva é muito baixo devido, por um lado, a uma menor concentração viral e por outro devido à presença, na saliva, de vários factores que conferem protecção antiviral. Entre estes factores, destacam-se a presença de grande quantidade de anticorpos IgA, a presença de outros microrganismos que competem com os vírus e a presença de factores endógenos antivirais como a lisozima, defensinas e trombospondina^[76].

A saliva é também mais fácil de manusear, para fins de diagnóstico, uma vez que não coagula, o que reduz o processo de manipulação. O diagnóstico baseado em saliva é, pois, mais acessível, preciso, menos dispendioso (tanto monetariamente como a nível técnico) e apresenta menos risco para o paciente e para o profissional de saúde comparativamente a metodologias tradicionais^[77].

1.2. DO GENOMA AO FISIOMA

Actualmente, sabe-se que a compreensão dos mecanismos moleculares associados a uma determinada patologia só é possível se conseguirmos identificar e quantificar todas as moléculas presentes no tecido em causa. Com o decorrer dos anos o corpo humano deixou de ser encarado como um conjunto de 12 órgãos, compostos por 4 tipos de tecidos, constituídos por cerca de 400 tipos de células diferentes^[78]. A verdadeira complexidade surge quando olhamos para a escala molecular em que se conhecem cerca de 25 000 genes humanos distintos^[79] e são previstas existirem mais de 100000 proteínas^[80] (Figura 1.7).

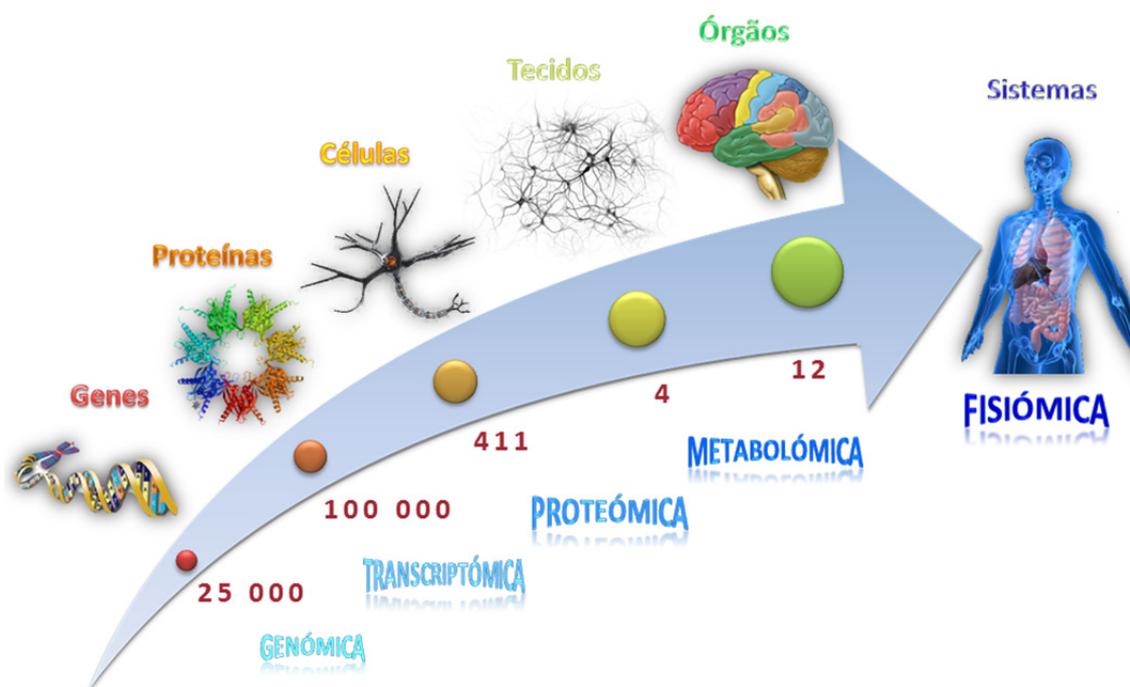


Figura 1. 7 - Esquema representativo dos níveis de organização da informação biológica. Os elementos que integram cada um desses níveis, de crescente complexidade, são os genes, as proteínas, as células, os tecidos, os órgãos, o organismo. As técnicas que permitem obter a informação nesses níveis, de crescente complexidade, são a genómica, transcriptómica, proteómica, metabolómica e fisiómica.

Muito tem sido feito para esclarecer esta complexidade. A biologia molecular, a bioquímica e a biofísica têm sido extremamente bem-sucedidas no esclarecimento das maquinarias moleculares da vida, caracterizando os seus componentes individuais. A tal ponto que a determinação das sequências

primárias das moléculas que armazenam a informação biológica não é mais um factor limitante à nossa capacidade de compreender completamente o funcionamento biológico das células e organismos. Da mesma forma, o nosso entendimento da regulação da transcrição (transcriptómica) tem sido altamente simplificado pela existência dos “*microarrays*”, que permitem identificar simultaneamente grande quantidades de proteínas e ARN. No entanto, estamos apenas a iniciar a exploração dos princípios que governam as intrincadas interacções entre esses componentes, em redes bioquímicas, que processam informação biológica e dão origem ao comportamento complexo das células e respectivos sistemas biológicos. O próximo desafio é descobrir, através de uma análise integrada, todas as funções bioquímicas de todos os produtos de genes (proteómica) e de todos os intermediários do metabolismo (metabolómica), nos contextos morfológicos, fisiológicos e patológicos (fisiómica). No entanto, se nos limitarmos a utilizar técnicas bioquímicas convencionais, a realização desta tarefa levará demasiado tempo a ser concluída. A biologia de sistemas poderá contribuir para este fim com métodos bioinformáticos inovadores que permitam resolver esta tarefa ou, pelo menos, sugerir possíveis candidatos a serem testados experimentalmente acelerando, deste modo, o processo^[81]. A biologia de sistemas pretende destacar-se das abordagens moleculares tradicionais reducionistas, que se focam na compreensão do papel de genes e de proteínas isolados, aproximando-se de uma abordagem mais integrativa, estudando redes moleculares e a definição do tipo de interacções estabelecidas entre os diferentes componentes dessas redes. Em vez de analisarem os componentes ou aspectos individuais de um dado sistema biológico, a biologia de sistemas foca-se em todos os componentes e identifica os mecanismos que garantem o funcionamento do sistema como um todo, responsáveis pela estrutura e função de um sistema biológico. Por exemplo, o sistema imunológico não é o resultado de um único gene ou mecanismo. É sim, o resultado da interacção de diversas proteínas e outras moléculas com o ambiente externo, levando a uma resposta imune para nos proteger de infecções e outras agressões. As propriedades, potencialidades e desafios que caracterizam a biologia de sistemas são bem ilustradas pela pirâmide da complexidade da vida^[82] (Figura 1. 8). Esta pirâmide reflecte a organização dos elementos que compõem e caracterizam a vida.

Podemos ver que os elementos mais simples armazenam a informação biológica, enquanto elementos de crescente complexidade a interpretam e a executam. À medida que os componentes de um sistema biológico interagem, formam-se organizações mais complexas entre eles e, conseqüentemente, dão origem a novas funções, progressivamente mais complexas.

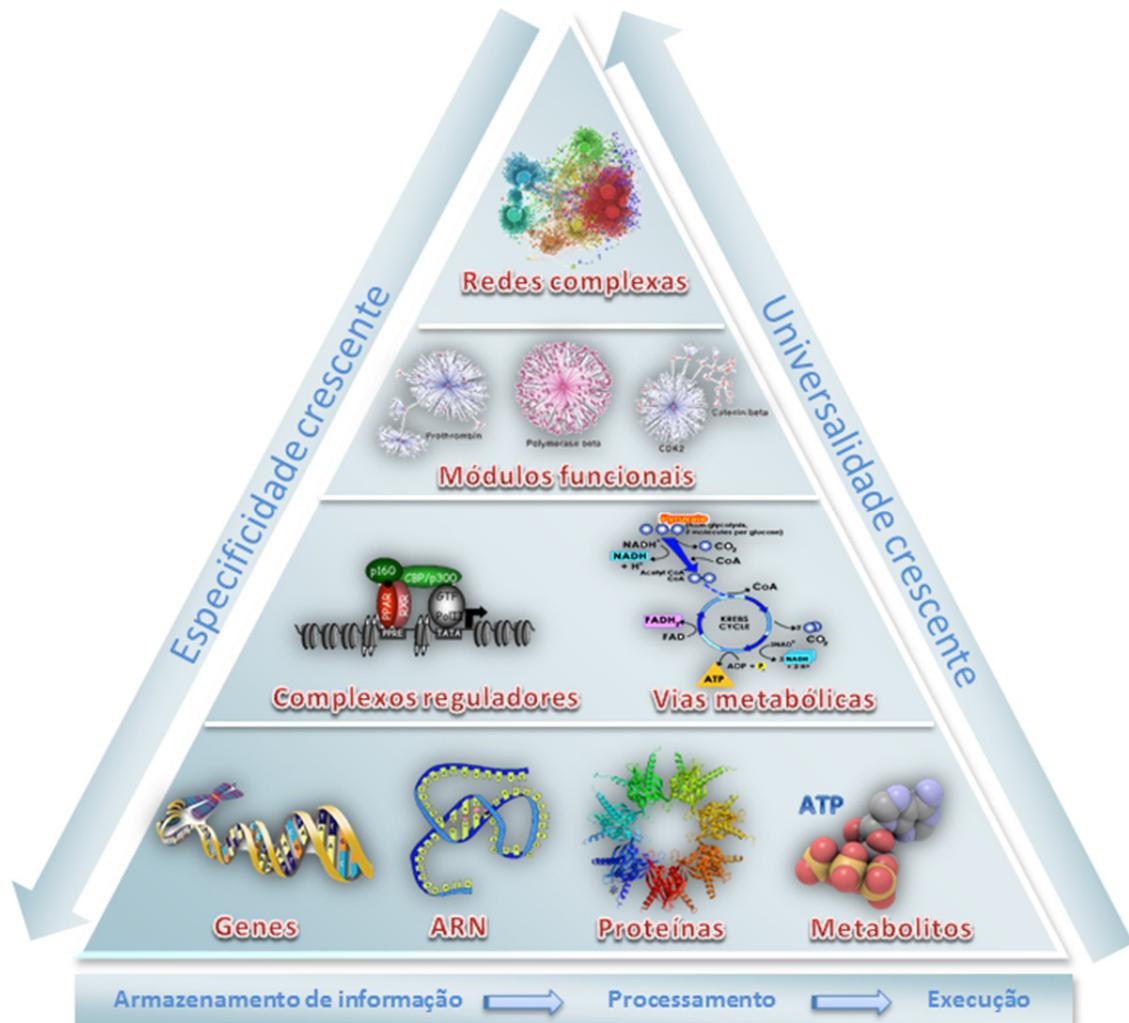


Figura 1. 8 - Representação esquemática da "Pirâmide da Complexidade da Vida" segundo Oltvai & Barabasi 2002^[82]. Esta pirâmide relaciona as características dos diversos elementos que caracterizam um sistema biológico com o tipo de acção que desempenham nesse sistema.

O estudo da biologia de sistemas foi auxiliado pela facilidade com que os investigadores geram dados (possível com o desenvolvimento de técnicas de alto rendimento da genómica, proteómica, transcriptómica e metabolómica) e os armazenam e distribuem (só possível com a internet e ferramentas

bioinformáticas), bem como da cooperação de especialistas de vários ramos da ciência tais como informáticos, matemáticos, físicos e engenheiros.

Muitas das novas técnicas empregues em biologia de sistemas apresentam um potencial tremendo, permitindo aos fisiologistas integrativos expandir o seu arsenal de ferramentas dirigidas ao estudo (quantitativo) de processos biológicos complexos, de uma forma verdadeiramente integrativa^[83]. Um dos principais desafios que a biologia de sistemas vai enfrentar na próxima década é, mesmo, o de quebrar as barreiras que se foram estabelecendo entre os métodos de investigação clássicos e os métodos de alto rendimento actuais. O seu papel não será o de substituir nenhuma das técnicas clássicas da bioquímica ou da genética, mas sim providenciar uma série de princípios organizacionais capazes de integrar estes diferentes métodos. O caminho a seguir é, sem dúvida, através da integração de diferentes disciplinas. Deste modo, a biologia de sistemas não se pode desenvolver como uma disciplina isolada, mas sim evoluir juntamente com as diferentes “ómicas”, a par com a fisiologia e a aproveitar as capacidades das ferramentas bioinformáticas disponíveis.

Em última instância, este tipo de abordagem integrativa, permitirá esclarecer o fisioma humano, resultado da integração do conhecimento sobre todas as entidades moleculares expressas por um organismo em resposta a situações concretas, sejam elas decorrentes de uma patologia ou mesmo situações fisiológicas após exercício físico ou após uma intervenção cirúrgica. Actualmente, está em curso um projecto a nível mundial que pretende determinar o fisioma humano^[84]. No fundo, o objectivo consiste em criar um sistema virtual que represente um organismo humano, tanto em condições fisiológicas como patológicas, permitindo desenvolver novas metodologias de diagnóstico e de prevenção bem como testar novas terapias. O fisioma humano será desenvolvido, através do esclarecimento de fisiomas parciais. O CardiOma^[85] foi um dos primeiros, tendo sido já realizados avanços notórios em diversas áreas como por exemplo, na determinação da organização estrutural dos tecidos cardíacos, na modelação de células cardíacas e, mesmo, na construção de modelos virtuais do coração enquanto órgão (Figura 1.9).

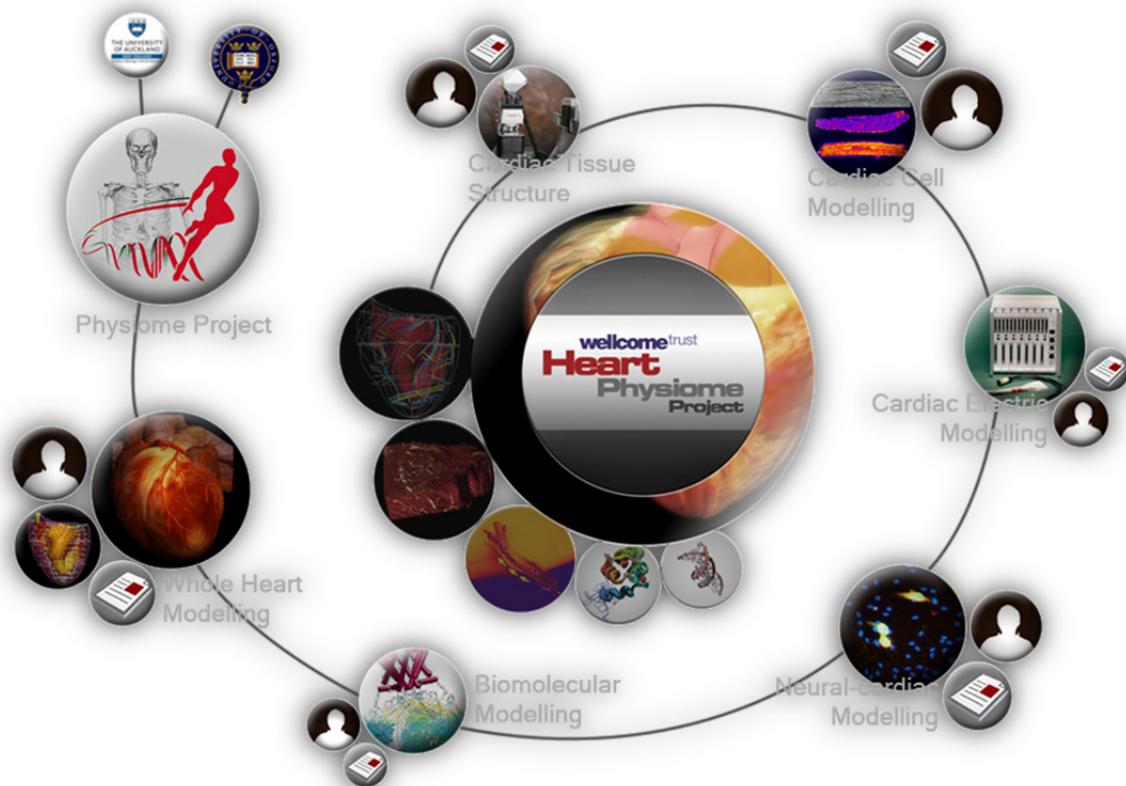


Figura 1. 9 - Esquema representativo da abordagem integrativa do fisioma cardíaco, enquanto parte do fisioma humano (adaptado de <http://heart.physiomeproject.org/>)

1.2.1. Proteómica: técnicas utilizadas e problemas subjacentes

Como referido anteriormente, todos os esforços levados a cabo na tentativa de desenhar modelos e simuladores dos sistemas biológicos implicam a identificação dos componentes moleculares individuais que constituem esse sistema. Uma vez que as proteínas são os elementos moleculares que mais se aproximam das características funcionais observáveis (fenótipos), a sua identificação, ou seja, o esclarecimento de um proteoma, adquire especial relevância na caracterização funcional de um dado sistema biológico. Este é o principal objectivo da proteómica. Os proteomas dos eucariotas são extremamente complexos, o que faz com que a exploração proteómica seja uma tarefa bastante exigente em termos técnicos. Por exemplo, numa mesma amostra biológica podemos encontrar uma gama de variação extremamente

alargada entre diferentes proteínas. Estas diferenças tornam complicada a detecção de proteínas mais raras sem antes realizar trabalho prévio de fraccionamento e eliminação de proteínas mais abundantes. Outros factores que aumentam a exigência das técnicas de proteómica são o *splicing* alternativo e uma série de modificações pós-tradução^[86]. As estruturas tridimensionais e as propriedades físico-químicas das proteínas também têm de ser tomadas em conta, uma vez que podem tornar uma determinada técnica de proteómica menos adequada a determinadas situações. Além disso, muitas proteínas são pouco estáveis, tornando-as susceptíveis a degradação, o que faz com que a obtenção e manipulação das amostras sejam processos cruciais na maioria das técnicas de proteómica. Perante a complexidade da análise exhaustiva de proteomas, a área da proteómica tem aplicado uma vasta gama de métodos para examinar diversos aspectos, incluindo a identificação de proteínas e de complexos proteicos, a determinação da sua localização e de interacções com outras, a identificação de modificações pós-tradução e a determinação de alterações na composição proteica (por exemplo expressão diferencial) em tecidos e em fluidos corporais^[87].

1.2.1.1. Principais técnicas de proteômica

Durante a última década foram desenvolvidas várias técnicas de proteômica e algumas das suas variantes^[88]. De seguida apresentaremos as que têm sido utilizadas nas últimas publicações, resumidas na figura 1.10, e as suas principais vantagens e desvantagens.

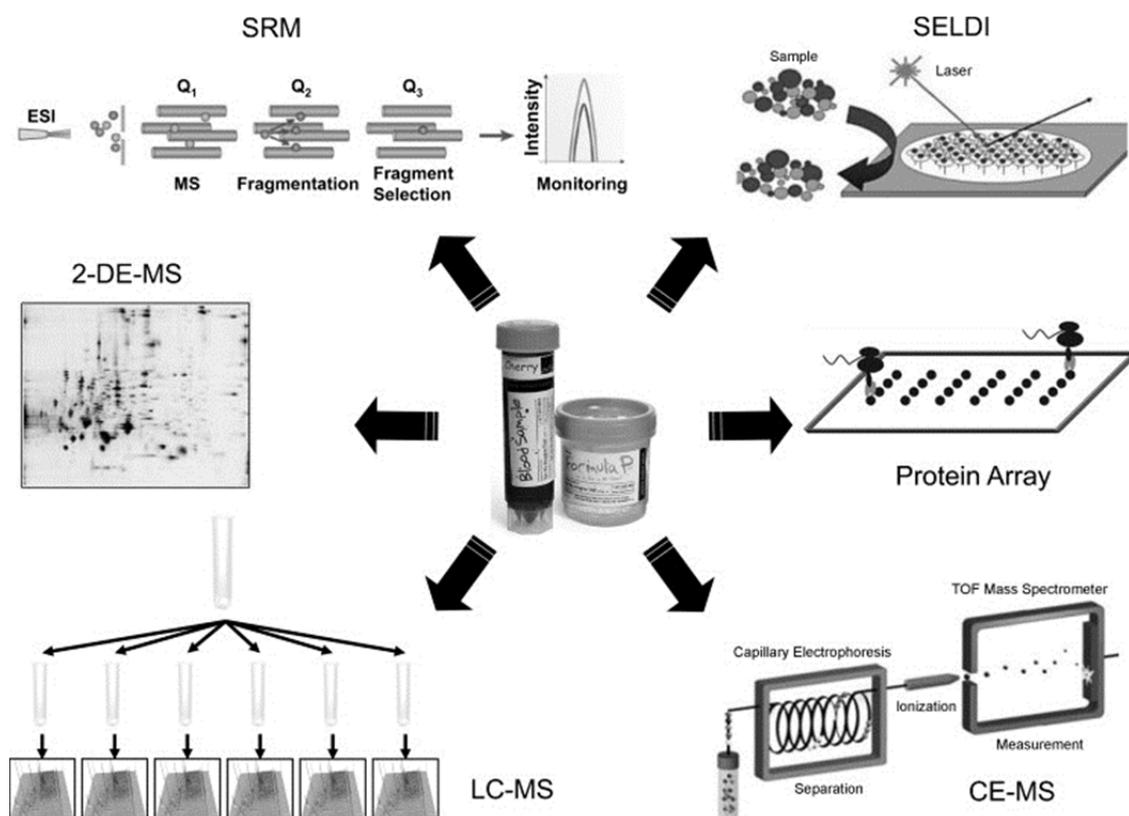


Figura 1. 10 - Principais técnicas de proteômica. Actualmente são aplicadas rotineiramente seis diferentes plataformas tecnológicas de proteômica para análise de amostras biológicas: 2DE (*two-dimensional gel electrophoresis*), SELDI (*surface enhanced laser desorption/ionization*), LC-MS (*liquid chromatography-mass spectrometry*), CE-MS (*capillary electrophoresis coupled to mass spectrometry*), SRM (*Selected reaction monitoring*) e *chip* de proteínas (adaptado de Siwy et al 2011^[88]).

1) 2DE (*two-dimensional gel electrophoresis*)

Este foi o método inicialmente utilizado para traçar perfis proteómicos. Este método separa as proteínas (≥ 10 kDa) de acordo com o seu ponto isoeléctrico e a sua massa molecular. Ele permite a identificação das proteínas segundo uma abordagem passo-a-passo baseada na digestão proteolítica em

gel, seguida de extracção e análise, por espectrometria de massa (MS), dos fragmentos de péptidos obtidos. De modo a reduzir a variabilidade entre géis e a aumentar a confiança na quantificação de proteínas, foi desenvolvida uma variante desta técnica designada 2D-DIGE (*two-dimensional difference gel electrophoresis*). Este método utiliza duas amostras marcadas diferencialmente com marcadores fluorescentes. Subsequentemente, as duas amostras são analisadas simultaneamente no mesmo gel e comparadas com um gel padrão. Este método permite obter resultados satisfatórios na comparação de até três amostras^[89]. No entanto, a análise de várias amostras a este nível continua a ser um desafio. Em resumo, a 2DE permite uma elevada resolução na separação de proteínas com uma massa molecular maior ou igual a 10kDa e fornece informação directa sobre os níveis de expressão de proteínas no seu estado nativo. Metodologicamente, a 2DE é tecnicamente exigente, de certa forma morosa, devido a falta de automação e a comparação de diferentes ensaios nem sempre é fácil. Contudo, esta técnica continua a ser a escolha preferencial para determinar perfis de proteínas de grandes dimensões.

2) SELDI (*surface enhanced laser desorption/ionization*)

Ao contrário da 2DE, a SELDI é uma plataforma baseada em espectrometria de massa aplicada em diversos estudos de proteómica clinicamente relevantes. Esta técnica utiliza a capacidade de interacção selectiva de polipéptidos com diferentes superfícies de um *chip*, de modo a atingir o fraccionamento de amostras biológicas, reduzindo a sua complexidade para análises subsequentes por MS. O maior obstáculo analítico deste método é a variabilidade observada na ligação das proteínas à matriz utilizada. Esta ligação pode depender de vários factores como a concentração da proteína, pH, conteúdo em sais, presença de compostos que possam interferir, tais como lípidos, etc. Isto só pode ser ultrapassado com a utilização de espectrómetros de massa com maior resolução e com novas estratégias de preparação e fraccionamento das amostras^[87].

3) LC-MS (*liquid chromatography-mass spectrometry*)

A LC-MS possibilita a separação de compostos que possam ser carregados numa coluna de cromatografia líquida, apresentando um alto poder de resolução^[90]. Para conseguir uma análise mais pormenorizada podem ser feitas separações sequenciais em matrizes diferentes. Geralmente, a LC-MS tende a ser morosa, limitando, deste modo, a sua utilização em aplicações clínicas de rotina. Por esta razão as abordagens baseadas em LC-MS são, actualmente, utilizadas quase exclusivamente na pesquisa de biomarcadores. Uma das principais limitações desta técnica prende-se com a sua sensibilidade a compostos capazes de interferir com a técnica cromatográfica e a ocorrência de precipitação de alguns compostos nas resinas das colunas^[91]. Mais recentemente foram desenvolvidas variantes desta técnica, como a μ -LC-MS (micro liquid chromatography-mass spectrometry) para ultrapassar estas limitações^[92].

4) CE-MS (*capillary electrophoresis coupled to mass spectrometry*)

Esta técnica faz a separação de compostos em capilares preenchidos com soluções tampão. A CE-MS é uma técnica relativamente robusta, que permite a utilização da maioria das soluções tampão voláteis. No entanto, a sua utilização não é aconselhável para a análise de proteínas de massa molecular maior que 20 a 30 kDa devido à ocorrência de precipitação deste tipo de proteínas aquando do uso de soluções tampão acídicas, como acontece frequentemente. Este problema pode ser resolvido através da depleção prévia deste tipo de proteínas, recorrendo a ultrafiltração, tornando esta técnica numa escolha excelente para a separação rápida e de alta resolução de proteomas de baixo peso molecular a partir de amostras biológicas^[93].

5) SRM (*Selected reaction monitoring*)

Esta técnica baseia-se em espectrometria de massa para a análise quantitativa de compostos específicos. Recorre geralmente a espectrómetros de massa que utilizam o fraccionamento dos compostos para aumentar a selectividade. A SRM permite a detecção de proteínas pouco abundantes em amostras de elevada complexidade, tornando-a especialmente atractiva para detectar proteínas em fluídos corporais. Mais recentemente, tem sido utilizada na validação de biomarcadores como alternativa aos anticorpos, uma vez que o desenvolvimento destes é moroso e acarreta custos elevados^[94]. No entanto, a análise sincronizada e simultânea de vários compostos é ainda um desafio técnico.

6) *Chip* de proteínas

Ao contrário das plataformas baseadas em espectrometria de massa descritas acima, os *chips* de proteínas são desenhados para detectar proteínas específicas através de abordagens de proteómica dirigida. A técnica assenta na ligação de anticorpos ou antigénios a uma lâmina ou membrana de modo a facilitar a detecção imune de múltiplas proteínas de forma simultânea^[95]. Uma amostra é hibridizada com o *chip* e, posteriormente, é feita a detecção dos anticorpos ou antigénios “capturados”. Apesar de se tratar de uma técnica extremamente poderosa, a sua utilização massiva é limitada pela necessidade de conhecer as sequências das moléculas alvo e de desenvolver sondas altamente específicas para essas moléculas. Além disso, permite apenas detectar um número relativamente reduzido de proteínas, sem ter em conta modificações pós-tradução^[87].

Os últimos anos mostraram que as técnicas de proteómica estão a ser desenvolvidas a bom ritmo, conseguindo oferecer soluções efectivas a problemas biológicos concretos. No entanto, algumas limitações destas técnicas fazem com que a sua aplicação clínica seja extremamente reduzida. Um exemplo flagrante acontece na área da descoberta de biomarcadores, onde se sugere uma grande quantidade de potenciais novos biomarcadores sem nunca os conseguir validar^[88].

Como referido anteriormente, a maioria dos trabalhos de determinação de proteomas utiliza técnicas de espectrometria de massa. Apesar dos espectrómetros de massa actuais conseguirem uma grande precisão na determinação de massas moleculares, existem referências que apontam para uma baixa reprodutibilidade entre diferentes laboratórios e para dificuldades na identificação de proteínas a partir de amostras de alta complexidade, como é o caso da saliva e de outros fluidos biológicos^[96]. Isto deve-se, em parte, à natureza estocástica da amostragem dos péptidos pelo espectrómetro de massa e à tendência inerente em dar preferência a péptidos presentes em concentrações mais elevadas. Além disso, os diferentes protocolos seguidos para a recolha de amostras, a solubilização e separação das proteínas, para a digestão proteolítica destas e posterior separação e identificação dos péptidos resultantes, varia consideravelmente entre diferentes laboratórios de espectrometria de massa. As diferenças observadas entre motores de busca utilizados na descodificação dos espectros de massa obtidos também são uma fonte de variabilidade. A utilização de diferentes bases de dados para fazer a identificação dos péptidos é crítica neste aspecto, uma vez que variam grandemente no que concerne à qualidade de informação disponibilizada (revista/não revista), à quantidade de dados armazenados e à exaustividade da informação que contêm. Um estudo realizado por Bell *et. al* em 2009^[97], concluiu que a maioria dos problemas de identificação de proteínas por técnicas de espectrometria de massa não se devem às metodologias seguidas, mas sim, a problemas na interpretação dos dados gerados por estas. Esta constatação levou a tentativas de uniformização da análise destes dados, como a realizada por He *et. al* em 2011^[98], que apresentou um método para eliminar

falsos-positivos, aperfeiçoando a identificação de péptidos a partir de técnicas de espectrometria de massa.

À medida que se optimizam as técnicas de proteómica deve-se ter em conta a qualidade dos dados gerados e a sua importância para a comunidade científica. A bioinformática poderá ter um papel extremamente importante neste aspecto. O desenvolvimento de novas ferramentas que permitam a identificação mais fiável das proteínas a partir dos perfis peptídicos obtidos, pelas técnicas de proteómica, permitirão aumentar a qualidade dos dados gerados. De igual forma, será necessário desenvolver ferramentas bioinformáticas que integrem estes dados com outros depositados em bases de dados biológicas de modo a retirar um significado biológico dessa informação.

1.2.2. Contributo das ciências Ómicas para a Medicina

A visão contemporânea das doenças humanas baseia-se nas correlações entre síndromes e análises patológicas, tal como acontecia no fim do século XIX. Embora esta abordagem ao diagnóstico, prognóstico e tratamento de doenças tenha desempenhado, até aqui, um trabalho válido perante a comunidade médica e a sociedade em geral, ela apresenta deficiências graves perante a realidade mais exigente da medicina molecular moderna. Deficiências, estas, que resultam da sua dependência em princípios reducionistas de experimentação e análise de componentes individuais. As diferentes ciências Ómicas, ao gerarem dados biologicamente relevantes, permitem à biologia de sistemas, quantitativa e integradora, aplicada a doenças humanas, oferecer uma abordagem única para o diagnóstico de doenças já estabelecidas e para o desenvolvimento de estratégias terapêuticas individualizadas (medicina personalizada), tirando proveito da patobiologia molecular moderna e da enorme quantidade de dados gerados experimentalmente em estudos populacionais e de indivíduos. Desta forma, as ciências Ómicas oferecem a possibilidade de redefinir a abordagem das patologias e de toda a Medicina.

1.2.2.1. Descoberta de biomarcadores (diagnóstico/prognóstico)

Com o aumento da incidência e da prevalência de doenças como o cancro, doenças cardiovasculares e a diabetes, torna-se cada vez mais crucial o desenvolvimento de métodos de diagnóstico precoce e de programas de prevenção eficientes, de modo a fornecer tratamentos adequados, aumentando a sobrevivência e qualidade de vida dos pacientes. Os biomarcadores não são um conceito novo. É bem conhecido o facto dos níveis de colesterol indicarem um risco acrescido de doenças cardiovasculares, dos níveis elevados de diversas enzimas no sangue serem indicadores de danos hepáticos (alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST), fosfatase alcalina (ALP)) e de variações genéticas particulares preverem o desenvolvimento de Doença de Huntington (gene que codifica para a Huntingtina). No entanto, foram os enormes avanços nas ciências Ómicas, juntamente com a bioinformática, que permitiram um aumento exponencial da procura de biomarcadores. A identificação, quantificação e aplicação de biomarcadores de diagnóstico e prognóstico continua a ser o santo gral do actual paradigma das Ómicas^[99]. Do ponto de vista da análise de dados, a descoberta de biomarcadores pode ser vista como um processo de desenvolvimento interactivo e incremental^[100] (Figura 1.11). O modo como a biologia de sistemas facilita a pesquisa de biomarcadores, assenta em 4 premissas^[101]: i) as redes moleculares são perturbadas, com a consequente alteração dos seus estados normais, durante as doenças; ii) componentes dessas redes moleculares, específicos de um determinado sistema (órgão, célula, etc.), podem ser usados para inferir o estado desse sistema; iii) grupos de marcadores específicos dos sistemas ou de processos biológicos, presentes nos fluidos de diagnóstico (sangue, urina, saliva, etc.), podem fornecer informação sobre os acontecimentos que afectam o órgão ou tipo células num dado momento; iv) as proteínas e ARNs seleccionados, que são libertados nos fluidos de diagnóstico, permitem a identificação, quantificação e prever a evolução da alteração das redes moleculares afectadas.

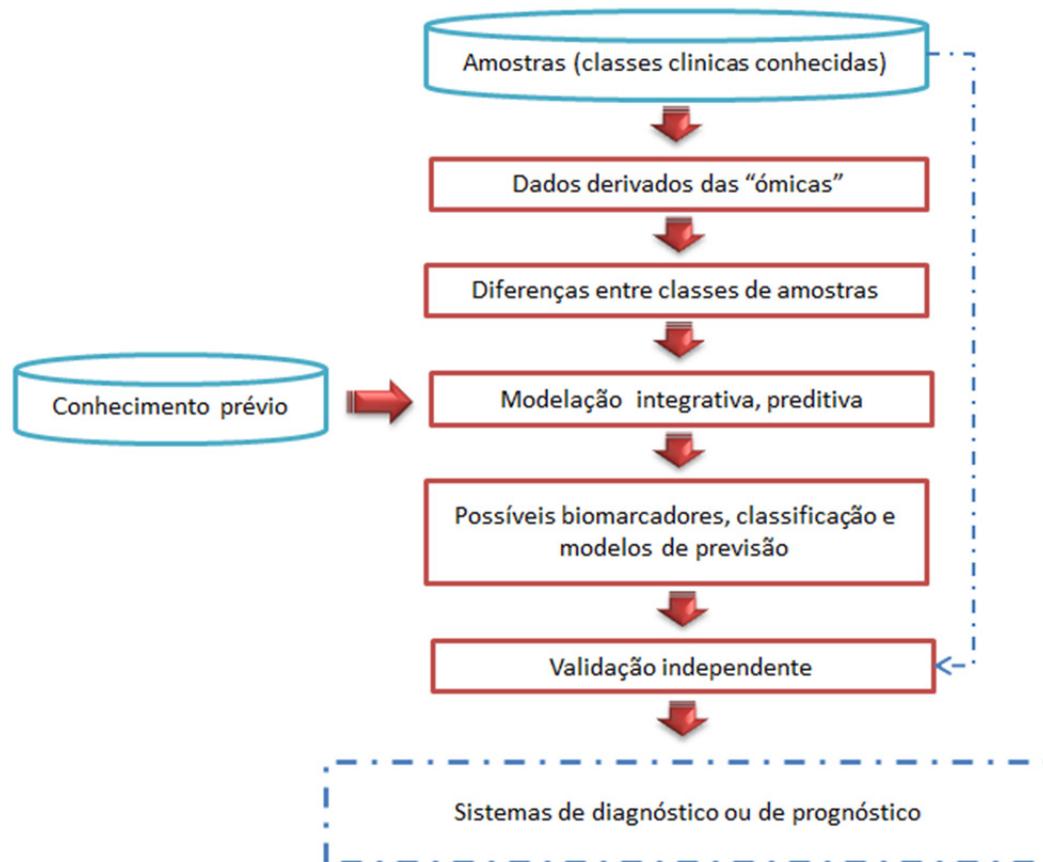


Figura 1. 11 - Quadro típico das fases que permitem encontrar moléculas candidatas a biomarcadores. Adaptado de Azuaje, 2010^[100].

Apesar dos inevitáveis contratempos, a pesquisa de biomarcadores continua a ser uma área com um enorme potencial^[102]. Os investigadores biomédicos continuam a manter um olhar atento sobre qualquer gene, proteína ou metabolito que possa servir como biomarcador indicativo de estados precoces de fenótipos ou subfenótipos patológicos e preditivos da progressão de doenças. Ainda mais apetecíveis são os biomarcadores que podem ser utilizados como alvos terapêuticos. Algum sucesso foi já obtido, principalmente no que respeita ao cancro. Testes como o MammaPrint^[103] e Oncotype DX^[104], que medem, respectivamente, a expressão de 70 e 21 genes de cada patologia, estão já comercialmente disponíveis para ajudar a prever o risco de reincidência do cancro da mama e para orientar as decisões terapêuticas deste tipo de cancro. No entanto, os avanços verificados não acompanham ainda o investimento feito^[105]. A maioria dos candidatos a biomarcadores identificados, caem no esquecimento e não seguem para ensaios clínicos onde possam ser validados devido, em parte, a limitações das metodologias de pesquisa e caracterização funcional das moléculas identificadas.

1.2.2.2. Desenvolvimento de novos agentes terapêuticos

A descoberta de novos fármacos é uma tarefa complexa que enfrenta variadíssimos desafios^[106]. Um dos maiores é o atrito que surge à medida que muitos candidatos promissores mostram ser ineficazes, ou mesmo tóxicos, no contexto clínico, devido às deficiências no conhecimento das doenças e, conseqüentemente, dos sistemas biológicos para os quais são dirigidos. Deste modo, é amplamente aceite que, para aumentar a produtividade do desenvolvimento de novos fármacos é necessário um entendimento muito mais profundo dos mecanismos moleculares das doenças, tendo em conta o contexto biológico global do alvo terapêutico e indo muito além do estudo individual dos genes e proteínas. A biologia de sistemas e, particularmente, a análise dinâmica das vias de sinalização celular, providenciam uma nova “gramática” para a descoberta de novos agentes terapêuticos^[107]. Ao longo do tempo, foram seguidas diferentes abordagens para desenvolver novos agentes terapêuticos (Figura 1.12).

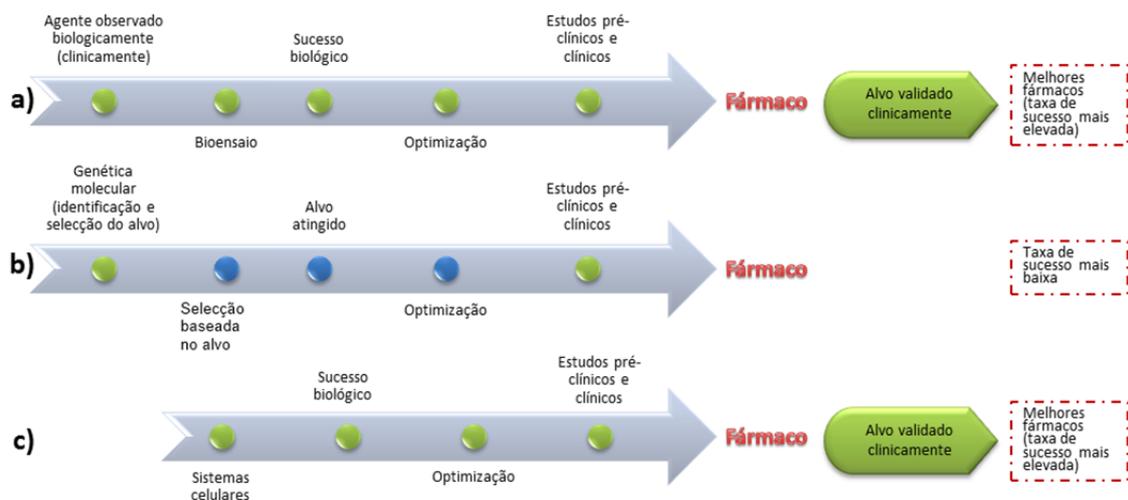
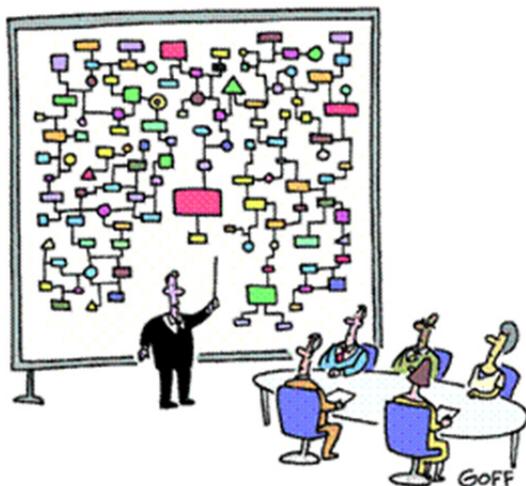


Figura 1. 12 - Diferentes abordagens na pesquisa de novos agentes terapêuticos. a) abordagem clássica; b) abordagem actual, baseada no alvo terapêutico; c) abordagem baseada em biologia de sistemas (celulares). A verde estão indicadas as fases do desenvolvimento conduzidas por conhecimentos biológicos. Adaptado de Butcher, 2005^[108].

Historicamente, foi possível obter um sucesso considerável com o desenvolvimento de fármacos dirigidos para alvos terapêuticos identificados anteriormente noutros contextos biológicos ou clínicos (Figura 1.12a). Isto tornou atractiva a actual abordagem dirigida a alvos terapêuticos (Figura 1.12b). No entanto, no passado, esta abordagem beneficiou de uma pré-

validação que está fora do alcance dos métodos actuais, que actuam de forma independente das características e da informação biológica existente sobre os fármacos que estão a estudar. De forma não surpreendente, os candidatos a fármacos desenvolvidos contra alvos sujeitos a processos de validação menos rigorosos (por exemplo alvos derivados do genoma, frequentemente validados geneticamente em animais e em estudos de expressão genética), tinham e continuam a ter uma taxa de sucesso muito menor do que as abordagens clássicas. A abordagem por biologia de sistemas em células (Figura 1.12c) coloca novamente a biologia em primeiro lugar, utilizando a informação biológica disponível em todo o processo de pesquisa. Deste modo, é possível avaliar mais facilmente os efeitos positivos obtidos pela utilização do fármaco. Isto permite a sua optimização tendo como base a sua acção em sistemas biológicos complexos, que modelam diversos tipos celulares activos e diversas vias de sinalização, em estados patológicos de interesse. Neste tipo de abordagem, utiliza-se o próprio candidato a fármaco durante o processo de validação e não um gene alvo ou uma proteína alvo, reduzindo deste modo a taxa de insucesso do fármaco. Em cada uma das abordagens a validação dos candidatos a fármacos deve ser feita com recurso a estudos pré-clínicos (modelos animais; toxicologia; absorção; distribuição; metabolismo e excreção) e clínicos^[108]. A aplicação da biologia de sistemas à prática médica é o futuro da medicina, alterando as regras que governam a selecção e desenvolvimento de novas terapêuticas levando, inevitavelmente, ao desenvolvimento de uma medicina personalizada, preditiva e preventiva.

1.2.3. Importância da Bioinformática como ferramenta de integração das ciências Ómicas



"And that's why we need a computer."

Figura 1. 13 - Necessidade da Bioinformática para a integração e interpretação dos dados gerados pelas ciências Ómicas.

actualmente, quase todos os estudos envolvem dados complexos, heterogêneos, obtidos de muitas fontes, exigindo a capacidade de recolher, analisar e visualizar esses dados de modo a extrair inferências e conhecimento biológica e clinicamente relevantes. Para responder a estas necessidades, a bioinformática evoluiu rapidamente nos últimos 15 anos e é, actualmente, bastante ubíqua^[109].

Tal como acontece com dois órgãos diferentes no mesmo organismo, a análise por Biologia de sistemas e a Bioinformática são instrumentos distintos que funcionam de forma independente. A Bioinformática extrai informação com significado dos dados, gerados pelas diversas ciências Ómicas, que estão por trás da biologia de sistemas, de

modo a criar hipóteses e modelos de estudo^[109]. A Bioinformática é uma área em claro desenvolvimento porque,

1.2.3.1. Recolha e integração de dados: bases de dados

A origem da bioinformática está associada à necessidade de construir e manter bases de dados sejam eles biológicos, bioquímicos ou clínicos^[110]. Com o desenvolvimento das ciências "ómicas" e de técnicas experimentais de alto rendimento ocorreu um aumento exponencial na produção de dados obtidos por estas abordagens. Um bom exemplo deste facto é o da publicação do genoma humano que gerou uma quantidade astronómica de informação que ainda hoje não foi totalmente analisada. Para termos uma ideia, se toda a sequência de nucleótidos obtida fosse publicada em forma de livro, se cada

página desse livro tivesse anotados 1000 pares de bases e se cada livro tivesse 1000 páginas, ainda assim, seriam precisos 3300 livros para armazenar o genoma humano completo. As bases de dados conferem-nos a possibilidade de lidarmos com estas quantidades massivas de dados. A quantidade de dados armazenados e o número de bases de dados tem aumentado exponencialmente nos últimos anos. Segundo a edição de 2011 do jornal “*Nucleic Acids Research*”, que publica uma edição anual com uma lista de bases de dados biológicas, existem actualmente 1330 bases de dados publicadas na área de Biologia Molecular, das quais, 96 surgiram no último ano^[111]. A lista completa pode também ser consultada de forma interactiva em <http://www.oxfordjournals.org/nar/database/c/>. As bases de dados podem ser classificadas segundo os seus conteúdos e funções. Apresentamos de seguida algumas das principais bases de dados utilizadas actualmente:

1) Bases de dados de genómica

Este tipo de base de dados recolhe sequências genómicas de organismos, faz a sua anotação (armazena-os ligados a informação variada), analisa-as e fornece acesso ao público. Algumas realizam uma revisão manual de modo a melhorar a anotação informática. Estas bases de dados podem comportar genomas de vários organismos ou incidirem em apenas um genoma de um organismo modelo. A base de dados genómica mais conhecida é a GenBank, mantida pelo NCBI (National Center for Biotechnology Information)^[112]. Esta base de dados contém todas as sequências anotadas de ácidos nucleicos e de aminoácidos. O seu conteúdo é reproduzido por outras duas bases de dados: EMBL (European Molecular Biology Laboratory)^[113] e DDBJ (DNA Data Bank of Japan)^[114]. Cada um destes três grupos colecta parte da totalidade das sequências publicadas mundialmente. Todas as entradas novas e actualizadas são partilhadas diariamente entre os grupos. Existem também bases de dados genómicas que fazem a ligação entre as sequências e as funções dos genes, realizando uma caracterização e classificação dos genes. A mais abrangente e completa desta bases de dados é a PANTHER^[115] (Protein ANalysis THrough Evolutionary Relationships). Esta base de dados permite fazer uma classificação dos genes de acordo com as famílias de genes, funções moleculares, processos biológicos, componente celular, classe

da proteína e vias de sinalização e é sujeita a revisão por especialistas. Outra base de dados com características semelhantes é a DAVID^[116] (The Database for Annotation, Visualization and Integrated Discovery). Entre outras coisas, esta base de dados permite classificar os genes de acordo com a sua relação com doenças. Existem ainda bases de dados genómicas que pretendem compilar os genomas de um organismo específico ou de grupos de organismos de um dado sistema biológico. Um exemplo deste tipo de bases de dados é o HOMD^[117] (Human Oral Microbiome Database) que pretende recolher os genomas de todos os microrganismos que se podem encontrar na cavidade oral humana. Muitas destas bases de dados de genes contêm informação genómica mais especializada. Exemplos destas são a base de dados “Single Nucleotide Polymorphisms (SNP) Consortium”^[118], que incide em variações genéticas, a base de dados cisRED, que armazena sequências promotoras e reguladoras e a base de dados INTEGRALL^[119], que armazena integrões.

2) Bases de dados de proteínas

Devido à relação entre aminoácidos e sequências codificantes as bases de dados de proteínas e de nucleótidos partilham, normalmente, informação entre elas. Como mencionado acima, a base de dados GenBank, para além de armazenar sequências nucleotídicas, apresenta também sequências de aminoácidos de proteínas. Existem também bases de dados de proteínas que, para além de manterem as suas sequências primárias, armazenam também outro tipo de informação como aspectos funcionais, informação taxonómica, etc. De entre estas destaca-se claramente a base de dados UniProt^[120]. Esta base de dados inclui, actualmente, duas secções: a UniProtKB/Swiss-Prot que é anotada e revista manualmente e a UniProtKB/TrEMBL que é anotada automaticamente e não é revista. Outro tipo de bases de dados de proteínas armazena estruturas de proteínas, como o “Protein Data Bank” (PDB)^[121], criado em 1971, que foi uma das primeiras bases de dados a ser disseminada mundialmente. Para as proteínas que ainda não têm estruturas tridimensionais determinadas experimentalmente, existem bases de dados que armazenam os modelos de previsão de estruturas, como por exemplo o SWISS-MODEL^[122] e o ModBase^[123]. Existem ainda bases de dados dirigidas para a classificação das proteínas de acordo com a sua estrutura, como a SCOP^[124] (Structural

Classification of Proteins) e a CATH^[125] (Protein Structure Classification) ou dirigidas para a análise de domínios estruturais/funcionais dessas proteínas, como SMART^[126,127] (Simple Modular Architecture Research Tool).

3) Meta-base de dados

Uma meta-base de dados pode ser entendida, objectivamente, como um banco de dados de bases de dados. Elas colectam dados de várias fontes e rearranjam esses dados de uma forma mais conveniente ou dando ênfase a determinado aspecto, doença ou organismo. Uma das mais conhecidas é o motor de busca em ciências da vida, Entrez^[128], do NCBI (National Center for Biotechnology Information), que faz a integração da informação depositada nas diferentes bases de dados daquele grupo. Outra das meta-bases de dados que tem vindo a ganhar relevo é o GeneCards^[129], que fornece informação integrada sobre todos os genes humanos conhecidos e previstos. Já a *Disease database*^[130], que integra informação sobre doenças, terapêuticas, sinais e sintomas, é direccionada para o estudo de doenças humanas. Outra das ferramentas disponíveis para integração de dados de genes e posterior análise e visualização das suas características é o GeneBrowser 2^[131], desenvolvido pelo grupo de Bioinformática da Universidade de Aveiro. Este grupo desenvolveu também meta-bases de dados, mais específicas e dirigidas para contextos particulares. Exemplos destas são a WAVE^[132] (Web Analysis of the Variome), para a análise do varioma humano (conjunto de todas as variações genéticas humanas e a sua relação com doenças) e a DiseaseCard^[133], que integra informação em tempo real de bases de dados genómicas e médicas, apresentando-a ao utilizador de uma forma visual de fácil interpretação.

4) Bases de dados de interactómica

No sentido de responder à necessidade de olhar para os genes e proteínas de forma integrada, dando realce às interacções entre eles, começaram a ser desenvolvidas bases de dados de interactómica. Entre elas, podemos destacar a STRING^[134,135] (Search Tool for the Retrieval of Interacting Genes/Proteins), que inclui interacções conhecidas e previstas através de algoritmos, associando-lhes um índice de confiança. Esta base de dados tem associado um poderoso sistema de visualização de dados interactivo, que

integra e disponibiliza acesso a variadíssima informação sobre cada um dos genes/proteínas. Existem outras bases de dados de interactómica porém, de mais difícil utilização, desenhadas com o objectivo primário de serem um repositório de interacções, como sejam o UniHI^[136] (Unified Human Interactome) BioGRID^[137] (Biological General Repository for Interaction Datasets) e a DIP^[138] (Database of Interacting Proteins) ou então com fins mais específicos, como por exemplo a PsiBase^[139] que apresenta interacções baseadas em aspectos estruturais das proteínas.

5) Bases de dados de vias de sinalização/metabólicas

A área de estudo das vias de sinalização e metabólicas, segundo abordagens bioinformáticas, encontra-se actualmente em franca expansão. Segundo o Pathguide^[140] (pathway resource list - <http://www.pathguide.org/>) existem, actualmente, cerca de 325 bases de dados nesta área. Este facto tem “pressionado” a construção de novas bases de dados que armazenem informação relativa à estrutura destas vias e aos seus intervenientes. Neste contexto, destaca-se claramente a KEGG PATHWAY Database^[141] (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes) como sendo uma das maiores e mais completas. Outra grande base de dados de vias de sinalização e metabólicas é o REACTOME^[142,143], que apresenta vias revistas manualmente por especialistas. Existem outras bases de dados criadas para armazenar informação relativa exclusivamente a vias metabólicas, como a BioPath - Database on Biochemical Pathways^[144] e a MetaCyc^[145] e a vias de sinalização como a SPIKE^[146]. A maior parte das bases de dados de vias de sinalização e de vias metabólicas oferecem representações gráficas dos seus conteúdos, facilitando a interpretação qualitativa dos processos de sinalização, regulação, entre outros. Algumas destas bases de dados apostaram mesmo numa abordagem mais dirigida para o aspecto gráfico e desenho de cartões com as diferentes vias, como são os casos da BioCarta^[147] e da PID: the Pathway Interaction Database^[148]. A utilidade desta informação relativa às vias de sinalização ganhou também relevo a nível comercial, a tal ponto que surgiram empresas especializadas em construir e gerar este tipo de cartões, como é o caso da Ingenuity Systems^[149] e da GeneGo^[150] vendendo estes serviços a empresas fornecedoras de produtos para investigação, como a Invitrogen^[151]

(iPath), a Applied Biosystems^[152] (GeneAssist Pathway Atlas), a Cell Signaling Technology^[153] e a Sigma-Aldrich^[154] (Cell Signaling Pathways).

1.2.3.2. Tratamento e visualização de dados

Os estudos de sistemas biológicos realizados com técnicas de alto rendimento, nomeadamente das ciências “ômicas”, estão a dar origem a uma variedade e quantidade de dados sem precedentes. A visualização desses dados é um aspecto crucial para a sua interpretação. A dificuldade está em criar visualizações integradas, claras e com significado biológico, ultrapassando as dificuldades inerentes à complexidade intrínseca dos dados^[155]. Actualmente existem muitos métodos e ferramentas para a visualização de dados à escolha dos utilizadores. A grande maioria das bases de dados biológicas, referidas na secção anterior, inclui pelo menos um desses sistemas. Mesmo as bases de dados que armazenam informação primária (estruturas de macromoléculas) já apresentam essa opção de forma interna ou criando ficheiros que possam ser interpretados por *software* próprio para o efeito. É o caso do “Protein Data Bank” (PDB)^[121], referido acima, que, para além de oferecer métodos de visualização das estruturas, embutidos no próprio *website*, fornece ficheiros (.pdb) com as coordenadas de todas as estruturas nele depositadas de modo a serem lidas e interpretadas num *software* específico, o PyMOL^[156]. Quanto maior a complexidade dos dados, mais exigente se torna a sua visualização. No que respeita aos dados de interactómica, algumas bases de dados optaram por um sistema de visualização próprio, como o caso do STRING^[134,135]. No entanto, a maioria optou por utilizar as potencialidades de um *software* próprio para visualização de dados multifacetado e de utilização transversal, designado Cytoscape^[157]. Este *software* é uma plataforma de visualização de redes complexas que permite a integração das redes com diferentes tipos de dados. Como é de código livre, permite que diversos grupos de desenvolvimento de *software* o adaptem às mais diversas situações, criando *plugins* para o efeito. Como consequência da interactómica, surgiu a necessidade de visualizar vias de sinalização e vias metabólicas depositadas nas bases de dados (ver secção anterior). Muitas destas bases de dados optaram por sistemas de visualização

simples, criando em alguns casos, apenas cartões estáticos. Outras optaram por sistemas mais complexos, interactivos e integrados com outras fontes de informação, como é o caso dos sistemas desenvolvidos pelas empresas comerciais Ingenuity Systems^[149] e GeneGo^[150]. Os projectos mais ambiciosos do momento, como o do Fisioma Humano e de todos os fisioma parciais (como o fisioma cardíaco) assentam na construção de sistemas biológicos virtuais, ou seja, no desenvolvimento de modelos e simuladores de sistemas biológicos^[158]. Alguns destes sistemas já se encontram publicados. Alguns modelam o crescimento de tumores, como é o caso do modelo de crescimento de tumores avasculares desenvolvido por Jiang e colaboradores^[159] e o modelo para investigar os efeitos de inibidores de metaloproteinasas (MMPi) no crescimentos de tumores, desenvolvido por Ribba e colaboradores^[160]. Outros modelam órgãos, como é o caso do modelo de um esqueleto para prever o risco de fractura, desenvolvido por Viceconti e colaboradores^[161] e o modelo de fígado, desenvolvido por Yan e colaboradores, para avaliar o metabolismo de drogas neste órgão. Os mais ambiciosos, estão ainda a decorrer e pretendem simular sistemas completos. A simulação de sistemas é dificultada por limitações computacionais, uma vez que necessitam de grande capacidade de processamento. Dois desses projectos, o Fisioma Humano da IUPS^[84] e o “Virtual Physiological Human” (VPH)^[162], ambicionam um dia simular o corpo humano, propiciando um marco na ciência e na forma de ver e actuar em medicina.

1.2.4. Contributo das ciências Ómicas para a Medicina Dentária

A prática da saúde oral entrou, na era da “odontologia baseada em evidências”, caracterizada pela aceitação, por parte das escolas de medicina dentária de todo o mundo, de que a prática clínica deve ser baseada no conhecimento científico^[163]. À semelhança de outros ramos da medicina, a medicina dentária está a evoluir no sentido de se tornar uma medicina molecular, mais dirigida e personalizada, usufruindo dos avanços nas diversas ciências “ómicas”. A determinação do genoma humano, de transcriptomas,

proteomas e interactomas, abriu enormes oportunidades na tradução das descobertas das ciências básicas para a prática da medicina oral, através de investigação clínica e da capacidade interpretativa providenciada por novas ferramentas bioinformáticas^[164].

Actualmente, milhares de doenças genéticas estão a ser estudadas e dezenas de milhares de novas terapêuticas estão a ser desenvolvidas para providenciar eficácia clínica, especificidade e toxicidade mínima nos cuidados de saúde oral^[165]. A farmacogenómica (estudo de conjuntos de genes com relevância farmacológica) e a farmacogenética (estuda a influência de factores genéticos na resposta à administração de fármacos) fornecem novos vislumbres em como as variações genéticas humanas influenciam a absorção e actuação dos fármacos utilizados em medicina dentária^[166].

Os fluidos orais são, agora, entendidos como fluidos ricos em informação, utilizados no diagnóstico, no controlo de terapias farmacológicas e numa série de aplicações forenses. O potencial de diagnóstico da saliva está a ser maximizado pelo desenvolvimento de biossensores^[167], aproveitando os avanços na engenharia e nas ciências de miniaturização (nanotecnologia), aumentando a rapidez e fiabilidade dos testes de diagnóstico (Figura 1. 14).

Até agora, o aproveitamento das ciências “ómicas” na medicina dentária limita-se a estudos de genómica e, especialmente, de proteómica. A determinação do proteoma dos fluidos orais tem ganho especial relevo, à medida que se constatou que a saliva poderia espelhar a fisiologia e a saúde oral e sistémica. Neste sentido, na última década (especialmente nos últimos 5 anos) assistiu-se a uma “explosão” de trabalhos com o objectivo de determinar as proteínas da cavidade oral ou de alguns sub-ecossistemas orais. Também têm sido feitos esforços para esclarecer o microbioma oral (projecto HOMD^[117] - Human Oral Microbiome Database), uma vez que só com o conhecimento dos microrganismos que habitam a cavidade oral, das moléculas por eles produzidas e das interacções destas com as do hospedeiro, podemos chegar ao entendimento molecular da cavidade oral. No entanto, esta informação encontra-se ainda muito dispersa carecendo de ferramentas que façam a compilação e integração dos dados e providenciem métodos de visualização a

vários níveis, que facilitem a sua interpretação e aplicações. Só com uma abordagem integrativa, considerando a cavidade oral e o seu microbiota como um sistema biológico complexo, poderemos esclarecer a biologia oral, em condições fisiológicas e patológicas e tirar proveito das propriedades da saliva para desenvolver novos métodos de diagnóstico e de prognóstico e assistir ao desenvolvimento de novos agentes terapêuticos.

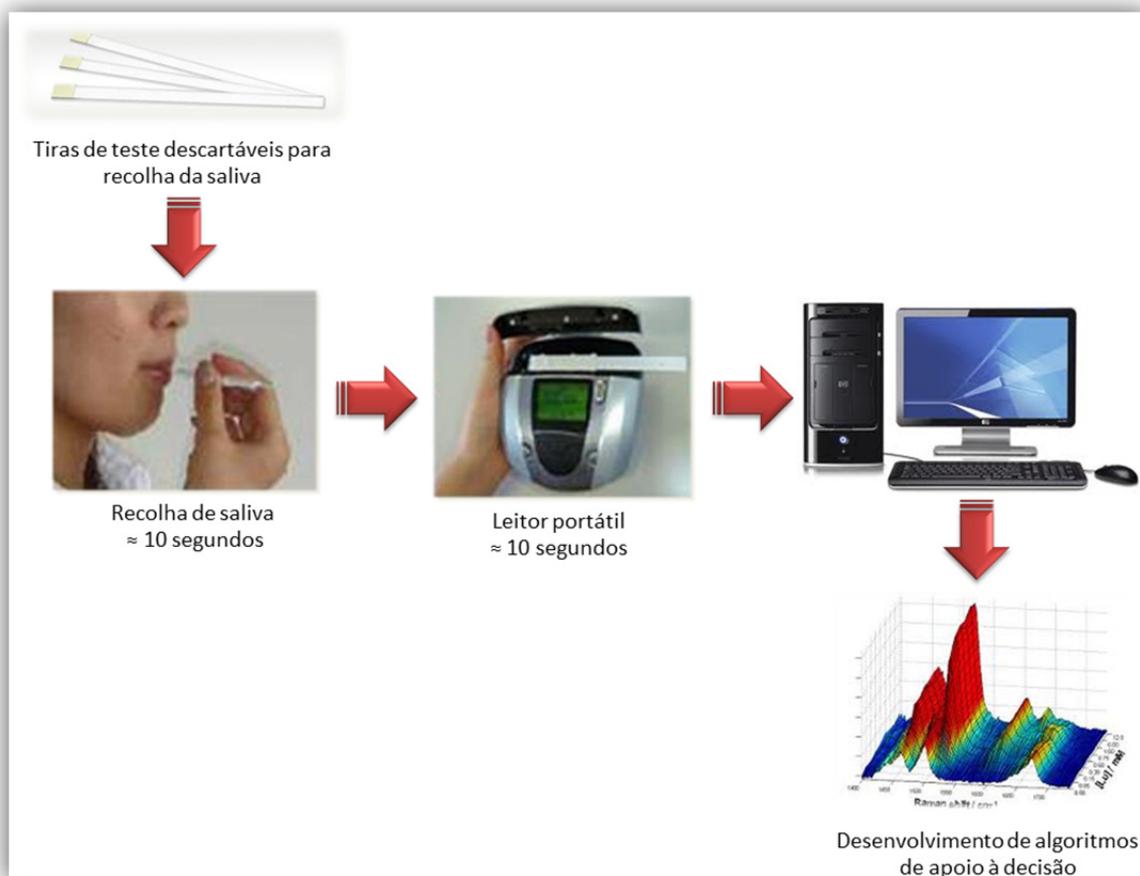


Figura 1. 14 - Biossensor para diagnóstico salivar que permite detectar rápida e simultaneamente várias proteínas salivares, utilizadas como marcadores de doenças.

Os dados gerados até ao momento fornecem informação suficiente para construir uma rede rudimentar de moléculas sinalizadoras, factores de transcrição e os seus alvos, para alguns dos processos biológicos que ocorrem na cavidade oral. Está assim lançada a pedra basilar para a construção de uma nova medicina dentária molecular. As potencialidades da biologia de sistemas e das ferramentas bioinformáticas que a assistem, permitirão fazer a transposição dos genomas e proteomas orais até ao fisioma oral (OralOma), culminando na construção de simuladores da cavidade oral para assistir na prática e ensino da medicina dentária.

2. Objectivos

O presente trabalho pretende contribuir para o aumento do conhecimento sobre o complexo sistema biológico que é a cavidade oral, compilando a informação resultante dos diversos estudos de proteómica oral, identificando novas metodologias de estudo e auxiliando no desenvolvimento de uma nova ferramenta bioinformática que facilite a transposição dos dados de proteómica para informação útil do ponto de vista biológico e clínico. Deste modo, os principais objectivos deste trabalho consistiram:

- 1) Compilar e rever o proteoma da cavidade oral e, desta forma, contribuir para a construção e desenvolvimento da base de dados OralOme;
- 2) Contribuir para o desenho e construção de uma ferramenta bioinformática, o OralCard, dirigida à medicina dentária, que permita a actualização, integração e visualização dos dados armazenados no OralOme;
- 3) Caracterizar as funções moleculares das proteínas produzidas pelos vários sub-compartimentos da cavidade oral e, deste modo, esclarecer o papel de cada um destes sub-compartimentos nas funções da saliva.
- 4) Contribuir para o desenvolvimento e validação de metodologias de análise bioinformática de dados de proteómica e interactómica, provenientes de amostras de saliva que possam ser aplicados no esclarecimento molecular de diversas patologias;
- 5) Identificar a relação das proteínas salivares com os estados de saúde oral e sistémica e, conseqüentemente, avaliar o potencial da saliva como fluido de diagnóstico;
- 6) Testar as diversas funcionalidades do OralCard na análise de dados de proteómica da cavidade oral, de modo a definir actualizações futuras.

3. Material e Métodos

A cavidade oral é um sistema biológico extremamente complexo onde os processos que nele ocorrem são consequência de intrincadas interações moleculares. Para esclarecer a biologia da cavidade oral é necessário compilar toda a informação existente sobre os intervenientes neste sistema, tanto em condições fisiológicas como em condições de alterações patológicas, e desenhar estratégias e ferramentas que possibilitem a interpretação dessa informação. Apresentamos nesta secção as metodologias realizadas no decurso do trabalho de modo a responder a estes desafios.

3.1. COMPILAÇÃO E REVISÃO DO PROTEOMA ORAL HUMANO

Na última década foram publicados 45 trabalhos de proteómica da cavidade oral o que originou uma enorme quantidade de dados. Porém, estes dados continuam dispersos pelas diferentes publicações, dificultando a integração da informação produzida. O primeiro passo para a definição do OralOma humano consistiu na compilação dos diferentes proteomas parciais da cavidade oral obtidos de diferentes fontes, tanto em indivíduos saudáveis como em indivíduos com diferentes patologias orais e sistémicas. Com este objectivo pesquisou-se e analisou-se a bibliografia referente a estudos de proteómica da cavidade oral, incluindo estudos que envolviam amostras provenientes das glândulas salivares (parótidas (incluindo o exossoma das parótidas); submandibulares/sublinguais (SM/SL); glândulas salivares menores), fluido crevicular gengival (FCG), mucosas orais (língua e outras mucosas orais), saliva total e plasma sanguíneo. Na tabela 3.1 podemos ver a lista de todos os estudos analisados, com indicação da fonte de obtenção das amostras. O proteoma plasmático (tabela 3.1*) permitiu uma comparação com todas as proteínas obtidas a partir de amostras da cavidade oral no sentido de se identificarem as proteínas comuns entre estes dois ambientes. Ao conjunto de proteínas plasmáticas que também estavam presentes em amostras da

cavidade oral foi atribuída a designação de “plasma oral”. Apenas estas proteínas do plasma foram consideradas como fazendo parte do OralOma. Neste trabalho, designam-se por proteínas da “saliva” o conjunto de proteínas identificadas por técnicas de proteómica a partir de amostras específicas das glândulas salivares, fluido crevicular gengival e de saliva total. Por outro lado, ao grupo de proteínas obtido a partir de amostras de saliva total (cuja fonte não se encontrava identificada no trabalho publicado sobre o assunto) foi atribuída a designação de “saliva total” (ver Figura 4.2).

Tabela 3. 1 - Lista de trabalhos de proteómica da cavidade oral por origem das amostras, analisados neste trabalho

Origem das amostras	Referência	Nº proteínas identificadas		Condição (nº proteínas)
		Saúde	Doença	
Glândulas salivares				
Parótidas	Gonzalez-Begne <i>et al.</i> 2009 ^[168]	431		
	Preza <i>et al.</i> 2009 ^[169]	69	69	Caries dentárias
	Siqueira <i>et al.</i> 2008 ^[170]	46		
	Denny <i>et al.</i> 2008 ^[70]	989		
	Ryu <i>et al.</i> 2006 ^[171]	10	10	Síndrome de Sjögren
	Walz <i>et al.</i> 2006 ^[172]	13		
	Hardt <i>et al.</i> 2005 ^[173]	6		Variação diurna
	Hardt <i>et al.</i> 2005 ^[174]	16		
SM/SL	Siqueira <i>et al.</i> 2008 ^[170]	46		
	Denny <i>et al.</i> 2008 ^[70]	963		
	Walz <i>et al.</i> 2006 ^[172]	14		
Minor	Hjelmervik <i>et al.</i> 2009 ^[175]	365	431	Síndrome de Sjögren
	Siqueira <i>et al.</i> 2008 ^[170]	56		
Fluido Crevicular gengival				
	Bostanci <i>et al.</i> 2010 ^[176]	66	76	Periodontite crónica (41) Periodontite agressiva (35)
Mucosas Oraís				
Língua	Negishi <i>et al.</i> 2009 ^[177]	5	5	Carcinoma das células escamosas, cabeça e pescoço
	He <i>et al.</i> 2004 ^[178]	12	12	Carcinoma das células escamosas, cabeça e pescoço
Outras mucosas	Chi <i>et al.</i> 2009 ^[179]	962	80	Carcinoma das células escamosas, cabeça e pescoço
	Lo <i>et al.</i> 2007 ^[180]		11	Carcinoma das células escamosas, cabeça e pescoço
	Turhani <i>et al.</i> 2006 ^[181]	20	20	Carcinoma das células

				escamosas, cabeça e pescoço
Saliva Total				
	Brinkmann <i>et al.</i> 2011 ^[182]	7	7	Carcinoma das células escamosas, cabeça e pescoço
	Haigh <i>et al.</i> 2010 ^[183]	10	10	Periodontite crónica
	Cabras <i>et al.</i> 2010 ^[184]	15	15	Diabetes tipo 1
	Loo <i>et al.</i> 2010 ^[185]	2290		
	Gonçalves <i>et al.</i> 2010 ^[186]	25	25	Periodontite crónica
	Jou <i>et al.</i> 2010 ^[187]	8	8	Carcinoma das células escamosas, cabeça e pescoço
	Costa <i>et al.</i> 2010 ^[188]	3	3	Periodontite crónica (1) Diabetes tipo 2 (2)
	Castagnola <i>et al.</i> 2010 ^[189]	15		Bebés prematuros
	Streckfus <i>et al.</i> 2009 ^[190]	158	158	Cancro da mama
	Fleissig <i>et al.</i> 2009 ^[191]	16	16	Síndrome de Sjögren
	Wu <i>et al.</i> 2009 ^[192]	11	11	Periodontite agressiva
	Quintana <i>et al.</i> 2009 ^[193]	12		Variabilidade inter-indivíduos
	Ito <i>et al.</i> 2009 ^[194]	1	1	Síndrome de Sjögren
	Rao <i>et al.</i> 2009 ^[195]	491	61	Diabetes tipo 2
	Yan <i>et al.</i> 2009 ^[196]	140		
	Dowling <i>et al.</i> 2008 ^[197]	6	6	Carcinoma das células escamosas, cabeça e pescoço
	Hu <i>et al.</i> 2008 ^[71]	39	60	Carcinoma das células escamosas, cabeça e pescoço
	Fang <i>et al.</i> 2007 ^[198]	1479		
	Giusti <i>et al.</i> 2007 ^[199]	18	9	Síndrome de Sjögren
	Hu <i>et al.</i> 2007 ^[72]	26	28	Síndrome de Sjögren
	Giusti <i>et al.</i> 2007 ^[200]		9	Esclerose sistémica difusa
	Yang <i>et al.</i> 2006 ^[201]	2	2	<i>Lichen planus</i>
	Walz <i>et al.</i> 2006 ^[172]	29		
	Xie <i>et al.</i> 2005 ^[202]	423		
	Hu <i>et al.</i> 2005 ^[203]	266		
	Vitorino <i>et al.</i> 2004 ^[204]	34		
	Messana <i>et al.</i> 2004 ^[205]	7		
	Huang 2004 ^[206]	25	10	Sangramento na cavidade oral
	Wilmarth <i>et al.</i> 2004 ^[207]	90		
Plasma*				
	Saha <i>et al.</i> 2008 ^[208]	10276		
	Nissum <i>et al.</i> 2007 ^[209]	115		

Tendo por base os trabalhos de proteómica analisados (Tabela 3.1), anotaram-se os identificadores das proteínas utilizados nesses trabalhos, compararam-se manualmente as proteínas identificadas entre os diferentes estudos e eliminaram-se as entradas repetidas para a mesma fonte. Todas as proteínas identificadas nos estudos de proteómica como sofrendo alterações de expressão em determinadas doenças em relação a pacientes saudáveis, foram anotadas com a indicação de aumento de expressão, diminuição da expressão ou ocorrência exclusiva nessa doença, consoante o caso. As doenças foram identificadas com o código OMIM (*Online Mendelian Inheritance in Man*) ou, na ausência deste, de acordo com o código da “*Disease database*”. Uma vez que podem existir diferenças na expressão de proteínas com a idade (ver secção 1.1.2.1), sempre que essa informação estava disponível, foi anotada a faixa etária dos dadores das amostras. A totalidade dos tópicos de informação registada para cada uma das proteínas identificadas neste trabalho pode ser consultada na Figura 3.1.

UniProtKB AC	Source											Regulation	Age group	Citation (NCBI ID)
	Parotid	Parotid Exosome	SM/SL	Minor	Whole Saliva	Crevicular Fluid	Mucosa	Tongue	Plasma	Health	Disease (OMIM ID or Diseases Database)			
A2NJV5		x								x			Adult	19199708
A2RTY6					x						125853	+	Adult	19118452
A2RUI4					x					x			Adult	19118452
P54578							x		x	x				18439290
P54652					x	x	x	x	x		170650	+	Adult	20205380
Q99623				x							270150		Adult	19364392
P14780					x					x	270150	+	Adult	19302990
O00148				x							270150		Adult	19364392
Q99878	x									x			Adult	18361515
Q99879					x					x			Adult	17614365
Q99880	x									x			Adult	18361515
Q9BR76		x			x				x	x			Adult	17614365
Q9HC84	x		x	x	x				x		114480	-	Adult	20052393
Q9HCC1	x		x						x	x			Adult	18361515
Q9HCY8	x	x	x		x		x		x	x			Adult	18361515

Figura 3. 1 - Organização da informação recolhida dos diferentes estudos de proteómica da cavidade oral. Cada uma das proteínas foi identificada com a sua origem (glândulas salivares, saliva total, fluido crevicular gengival, mucosas e plasma), a situação em que foram identificadas (saúde/doença), o nível de expressão (aumento/diminuição), a faixa etária dos dadores e a referência do trabalho que levou à sua identificação.

Desde a publicação dos primeiros proteomas salivares, muitas das proteínas identificadas originalmente e catalogadas em bases de dados biológicas como entradas diferentes foram entretanto fundidas noutras já existentes, enquanto outras foram apagadas por estarem repetidas ou obsoletas ou ainda devido a erros de identificação. Por esta razão, todas as entradas de proteínas identificadas nos diferentes trabalhos de proteómica foram sujeitas a uma revisão manual e a sua informação actualizada à data de Fevereiro de 2011. Pode consultar a lista de todas as revisões efectuadas na secção Anexos – Tabela ii). A actualização das entradas identificadas nos estudos originais com o código IPI (*International Protein Index*) foi feita com recurso à ferramenta “IPI History Search” (<http://www.ebi.ac.uk/IPI/IPIhelp.html>)^[210] (Figura 3.2).

The screenshot shows the 'IPI Quick Search' interface. At the top, there is a search bar with 'Human' selected in the first dropdown, 'IPI History' in the second, and 'IPI00027500' in the text input field. A 'Go!' button is to the right. Below the search bar, there are two paragraphs of text: 'IPI search: type in a database identifier or protein name (e.g. IPI00015171, P50238, ENSP00000332449, TFR2, etc.) to retrieve matching entries from one or all of the current IPI dataset's.' and 'IPI History search: track deleted and secondary identifiers (e.g. IPI00030830) by searching the IPI history database (more information available [here](#)).' Below this is a table with the following data:

IPI History	AccNumber	CreatedVersion	DeletedVersion	SuccessorID	Comment
IPIHISTORY: IPI00027500	IPI00027500	v2.00	v3.36	IPI00478231	Propagated

Figura 3. 2 - Exemplo da utilização da ferramenta “IPI History Search” para determinar alterações na identificação de uma determinada proteína. Podemos ver que a proteína identificada originalmente com o código IPI00027500 passou a ser identificada com o código IPI00478231.

Todas as outras actualizações foram realizadas de acordo com a base de dados UniProt (<http://www.uniprot.org/>)^[120,211] (Figura 3.3).

UniProt | UniParc | Downloads | Contact | Docu

Search | Blast | Align | Retrieve | ID Mapping *

Search in: Sequence Archive (UniParc) | Query: IPI00037070 | Search | Advanced Search | Clear

3 results for IPI00037070 in UniParc sorted by score descending

Results [Customize](#)

Repeat search in UniProtKB (3)

Accession	Organisms	UniProtKB	First seen	Last seen
<input type="checkbox"/> UPI00002AB61	Homo sapiens (Human) Canis familiaris (Dog) (Canis lupus familiaris) Nomascus leucogenys (Northern white-cheeked gibbon) (Hylobates leucogenys) Pan troglodytes (Chimpanzee)	Q9H3R6.1 P11142.2	2001-03-01	2011-07-27
<input type="checkbox"/> UPI000013DBA1			2003-03-14	2006-07-30
<input type="checkbox"/> UPI00015E00A1	Homo sapiens (Human) ← Pan troglodytes (Chimpanzee)	E7ET08	2007-10-21	2011-07-27

Figura 3. 3 - Exemplo da utilização do UniProt para determinar alterações na identificação de uma determinada proteína. Podemos ver que a proteína originalmente identificada com o código IPI00037070 foi fundida com a proteína já depositada no UniProt com o código E7ET08.

3.2. O ORALOME E O ORALCARD

Como resultado da compilação dos diversos proteomas da cavidade oral, surgiu a necessidade de criar uma ferramenta que permitisse armazenar, integrar e visualizar os dados de forma interpretativa. Para o efeito, foi desenvolvida a ferramenta OralCard – *Web Information System for Oral Health* (<http://bioinformatics.ua.pt/OralCard/>)^[212].

Esta ferramenta foi desenvolvida em parceria com o grupo de bioinformática do Departamento de Electrónica, Telecomunicações e Informática (DETI) da Universidade de Aveiro. O nosso grupo contribuiu com os dados resultantes da compilação dos diversos proteomas orais e com os resultados da análise de requisitos da ferramenta. O grupo de Aveiro ficou responsável pela parte técnica de informática para o desenvolvimento da ferramenta, incluindo a base de dados (OralOme) e o portal web (OralCard) (Figura 3.4).

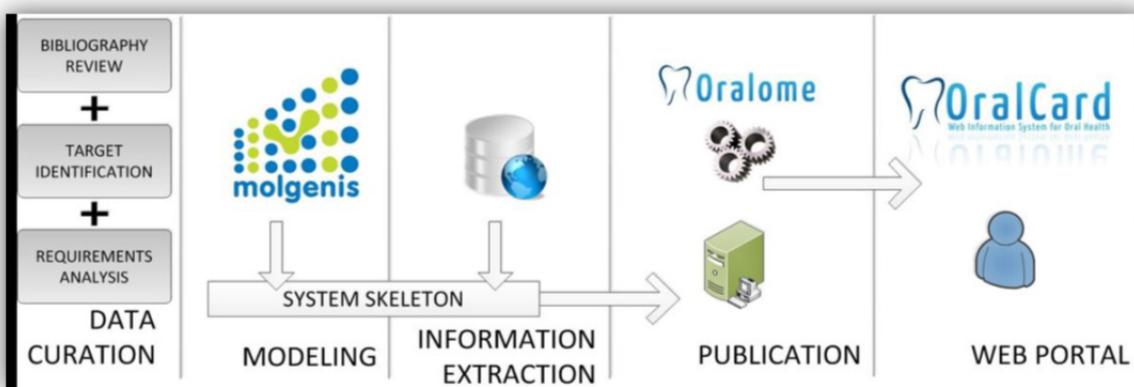


Figura 3. 4 - Esquema representativo do desenvolvimento do OralCard como ferramenta de integração de dados biomédicos na biologia oral. Adaptado de Melo *et al.* 2011^[212].

3.3. CARACTERIZAÇÃO DO PROTEOMA SALIVAR HUMANO

Com o objectivo de integrar a informação resultante dos diferentes proteomas parciais orais e, fazer uma caracterização sumária do proteoma oral humano, depositado no OralCard, procedeu-se à catalogação das proteínas identificadas abordando diversos aspectos.

3.3.1. Caracterização segundo ontologias génicas

As proteínas depositadas no OralCard foram classificadas de acordo com a sua função molecular, processo biológico em que intervêm e componente celular de onde provêm. Esta classificação foi realizada com recurso à base de dados PANTHER - Protein ANalysis THrough Evolutionary Relationships (<http://www.pantherdb.org/>)^[115,213]. O PANTHER é um centro de recursos que classifica genes e proteínas de acordo com as suas funções, utilizando evidências científicas experimentais publicadas e relações evolutivas inferidas por revisores especializados, com o objectivo de prever funções mesmo na ausência de evidências experimentais directas. O PANTHER utiliza tanto ferramentas computacionais como revisão manual para tornar estas inferências o mais exactas e actualizadas possível à medida que os dados experimentais vão sendo gerados e acumulados. Para levar a cabo esta tarefa foi realizada uma pesquisa das proteínas (foram utilizados os códigos de identificação de proteínas do UniProtKB) com a ferramenta de classificação do PANTHER (foi utilizado o sistema de análise em grupo) para cada grupo de proteínas estudado. Os critérios de pesquisa utilizados são os apresentados na figura 3.5. Nesta abordagem não foram utilizados os códigos de isoformas identificadas nos diferentes trabalhos de proteómica porque o sistema de classificação do PANTHER não discrimina entre diferentes isoformas de uma mesma proteína. Desta forma, sempre que uma dada proteína se encontrava identificada até à isoforma, foi retirado o sufixo correspondente à identificação da isoforma e a proteína foi analisada de forma genérica.

PANTHER
Classification System

LOGIN REGISTER CONTACT US HELP

Home Browse **Genes and orthologs** Trees and HMMs Pathways Ontologies Tools Workspace

Keyword Search | Batch ID Search |

Search

Genes and orthologs

Go

Quick links

[Whole genome function views](#)

[Gene expression tools](#)

[cSNP tools](#)

[Upload multiple gene IDs](#)

[Community Curation](#)

[My Workspace](#)

[HMM scoring](#)

[Downloads](#)

[Genome statistics](#)

[Site map](#)

Newsletter subscription

Enter your Email:

Subscribe

Find PANTHER-classified genes, transcripts, and proteins by uploading a list of IDs

Batch ID Search

Enter IDs: A2MYD4
A2N0U4
A2NJV5
A2RTY8

Upload IDs: Browse...

separate IDs by a space or comma - [supported IDs](#)

- [file format](#)

Select File Type:

ID List

Previously exported text search results

Result page: Genes Transcripts/Proteins

Select datasets:

<input checked="" type="checkbox"/> Homo sapiens	<input type="checkbox"/> Mus musculus	<input type="checkbox"/> Rattus norvegicus
<input type="checkbox"/> Gallus gallus	<input type="checkbox"/> Danio rerio	<input type="checkbox"/> Drosophila melanogaster
<input type="checkbox"/> Caenorhabditis elegans	<input type="checkbox"/> Saccharomyces cerevisiae	<input type="checkbox"/> Schizosaccharomyces pombe
<input type="checkbox"/> Dictyostelium discoideum	<input type="checkbox"/> Arabidopsis thaliana	<input type="checkbox"/> Escherichia coli

Search

Figura 3. 5 - Sistema de análise em grupo da ferramenta de classificação do PANTHER. As opções seleccionadas correspondem às definições utilizadas para analisar os conjuntos de proteínas estudados.

Também foi utilizada a ferramenta de análise de dados de expressão génica do PANTHER para comparar conjuntos de proteínas com uma lista de referência que, neste caso, correspondeu à totalidade de proteínas humanas depositadas na base de dados do PANTHER. O objectivo desta análise foi determinar estatisticamente se as diferentes ontologias resultantes da classificação se encontravam acima ou abaixo do esperado (em termos de percentagem de proteínas em cada uma) em relação à lista de referência. Com esta ferramenta do PANTHER, cada lista de proteínas é comparada com a lista de referência através da aplicação de um teste binomial para cada uma das ontologias (componente celular, função molecular e processo biológico). Na figura 3.6 é exemplificado o procedimento para comparar a totalidade das proteínas que constituem o OralOma com o total de proteínas humanas depositadas no PANTHER. Para fazer esta análise primeiro escolhe-se a lista de proteínas que se quer analisar (Figura 3.6a*). Neste caso foi escolhido o

total de proteínas humanas depositadas no OralCard. De seguida escolhemos a lista de proteínas que serve de referência (Figura 3.6a**). Neste caso foi escolhido o total de proteínas humanas depositadas no PANTHER. E por fim, escolhe-se a ontologia que será utilizada na classificação (Figura 3.6a***). Neste caso a classificação foi feita tendo em conta as vias de sinalização em que participam as proteínas. Com isto obtém-se uma lista de vias de sinalização em que participam as proteínas analisadas, com indicação da variação em relação ao esperado (lista de referência) (Figura 3.6b).

a)

Compare Classifications of Lists ?
 Map lists of genes to a PANTHER ontology. For pathways, you can then view the gene expression values overlaid on top of a pathway diagram, where genes will be colored differently for different clusters of genes.

Use the binomial statistics tool to compare classifications of multiple clusters of lists to a reference list to statistically determine over- or under- representation of PANTHER classification categories. Each list is compared to the reference list using the binomial test (Cho & Campbell, TIGs 2000) for each molecular function, biological process, or pathway term in PANTHER.

Steps:

1. Select list(s) to analyze
2. Select reference list

1. Select Lists to Compare to a Reference List
 For example, each selected list may be a cluster of co-expressed genes under a particular set of conditions.
 * **Select list(s)** selected: ORALOMA Final

2. Select Reference List
 For example, the reference list may be the set of all genes in the experiment, or the set of all genes in the genome being analyzed.
 ** **Select reference list** selected: Homo sapiens genes

Search options ***
 PANTHER Ontology:
 Pathways

b)

	Homo sapiens genes (REF)	ORALOMA Final			
	#	#	expected	+/-	▲ P value
Pathways					
Chorismate biosynthesis	0	1	.00	+	0.00E00
Unclassified	17337	2035	2217.74	-	3.26E-24
Integrin signalling pathway	181	81	23.15	+	3.73E-21
Cytoskeletal regulation by Rho GTPase	98	58	12.54	+	6.40E-21
Huntington disease	167	67	21.36	+	1.70E-15
Inflammation mediated by chemokine and cytokine signaling pathway	283	84	36.20	+	5.38E-12
Nicotinic acetylcholine receptor signaling pathway	97	43	12.41	+	8.38E-12

Figura 3. 6 - Ferramenta de análise de dados de expressão génica do PANTHER. a) página de escolha das listas de proteínas a analisar (*), da lista de proteínas a usar como referência (**) e da ontologia utilizada na classificação (***); b) página com lista de resultados.

3.3.2. Catalogação das proteínas orais segundo a associação a doenças

Tanto as proteínas salivares humanas, identificadas neste trabalho, como as proteínas plasmáticas humanas foram organizadas de acordo com o seu envolvimento em doenças e agrupadas nas correspondentes classes de doenças, utilizando a ferramenta DAVID - the Database for Annotation, Visualization and Integrated Discovery (<http://david.abcc.ncifcrf.gov/>)^[116]. Os recursos bioinformáticos de DAVID consistem numa base de dados e numa série de ferramentas de análise orientadas para extrair sistematicamente informação biológica de listas extensas de genes/proteínas. Para realizar esta tarefa, as proteínas da saliva, do plasma salivar (proteínas plasmáticas encontradas na saliva) e do plasma total (totalidade das proteínas encontradas no plasma sanguíneo humano) foram sujeitas à ferramenta de anotação funcional de DAVID. Na figura 3.7 estão indicados os passos necessários para realizar esta análise. Primeiro, inseriu-se uma lista de proteínas (Figura 3.7-1), escolhendo-se como identificadores dessas proteínas os códigos de acesso do UniProtKB (Figura 3.7-2). Posteriormente, escolheu-se o tipo de lista inserida (Figura 3.7-3) e submeteu-se à ferramenta de anotação (Figura 3.7-4). Neste processo as proteínas foram anotadas de acordo com a “*genetic association database*”^[214], agrupadas em classes de doenças e os resultados apresentados graficamente. Para evitar a contagem de genes duplicados, a ferramenta calcula os parâmetros estatísticos pelo teste exacto de Fisher utilizando os identificadores internos da base de dados DAVID correspondentes aos identificadores originais fornecidos pelo utilizador. Desta forma, todas as redundâncias dos dados originais são eliminadas. Todos os resultados calculados têm de passar os critérios de selecção (por defeito, Max.Prob. ≤ 0.1 e Min.Count ≥ 2) estabelecidos nas opções do gráfico, de modo a assegurar que são exibidos apenas os estatisticamente significativos.

Functional Annotation Tool
DAVID Bioinformatics Resources 6.7, NIAID/NIH

Home
Start Analysis
Shortcut to DAVID Tools
Technical Center
Downloads & APIs
Term of Service
Why DAVID?

Upload | **List**
Background

Upload Gene List

[Demolist 1](#) [Demolist 2](#)

[Upload Help](#)

Step 1: Enter Gene List 1

A: Paste a list

Q10471

P01817

P01824

Q50G13

Q90G43

Or

B: Choose From a File

Multi-List File ?

Step 2: Select Identifier 2

UNIPROT_ACCESSION

Step 3: List Type 3

Gene List

Background

Step 4: Submit List

4

Functional Annotation Tool

← Submit your gene list to start the tool!

[Tell us how you like the tool!](#)
[Read technical notes of the tool!](#)
[Contact us for questions!](#)

Key Concepts:

The DAVID Gene Concept

DAVID 6.7 is designed around the "DAVID Gene Concept", a graph theory evidence-based method to agglomerate species-specific gene/protein identifiers from a variety of public genomic resources including NCBI, PIR and Uniprot/SwissProt. The DAVID Gene Concept method groups tens of million of identifiers from over 65,000 species into 1.5 million unique protein/gene records. [More](#)

Term/ Gene Co-Occurrence Probability

Ranking functional categories based on co-occurrence with sets of genes in a gene list can rapidly aid in unraveling new biological processes associated with cellular functions and pathways. DAVID 6.7 allows investigators to sort gene categories from dozens of annotation systems. Sorting can be based either the number of genes within each category or by the EASE-score. [More](#)

Gene Similarity Search

Any given gene is associating with a set of annotation terms. If genes share similar set of those terms, they are most likely involved in similar biological mechanisms. The algorithm tries to group those related genes based on the agreement of sharing similar annotation terms by Kappa statistics. [More](#)

Term Similarity Search

Typically, a biological process/term is done by a corporation of a set of genes. If two or more biological processes are done by similar set of genes, the processes might be related in the biological network somehow. This search function is to identify the related biological processes/terms by quantitatively measuring the degree of the agreement how terms share the similar participating genes. [More](#)

Integrated Solutions

Functional Annotation	Numerous public sources of protein and gene annotation have been parsed and integrated into DAVID 6.7. DAVID 6.7 contains information on over 1.5 million genes from more than 65,000 species. A list of protein or gene identifiers can be uploaded all at once to extract and summarize functional annotation associated with group of genes or with each individual gene. Data can be displayed in chart or table format or downloaded to the user's hard drive.
Numerous Data Sources	
Co-occurrence Probability	
Use Homolog Annotation	
Dynamic Pathway Maps	
Disease Associations	

Figura 3.7 - Página da ferramenta DAVID destinada à análise funcional de proteínas dirigida para a classificação em classes de doenças. 1) local para introdução da lista de proteínas a analisar; 2) opção de escolha do identificador submetido; 3) opção de escolha do tipo de lista; 4) botão para inicia a análise.

3.4. ESTUDOS DE INTERACTÓMICA

Ao longo deste trabalho foi necessário realizar vários estudos de interactómica. Os estudos que implicaram a determinação de interacções proteína-proteína (PPI) em torno de uma única proteína foram realizados com recurso à ferramenta OralCard (Figura 3.8). Presentemente, o OralCard permite definir para cada rede de interacções o índice de confiança nessa interacção (Figura 3.8-1), o tipo de informação a apresentar relativamente à interacção (mostrar a evidência da interacção; mostrar o índice de confiança na interacção e mostrar o tipo de acções entre as moléculas que interagem) (Figura 3.8-2) e o número de proteínas que interagem com a proteína escolhida (Figura 3.8-3).

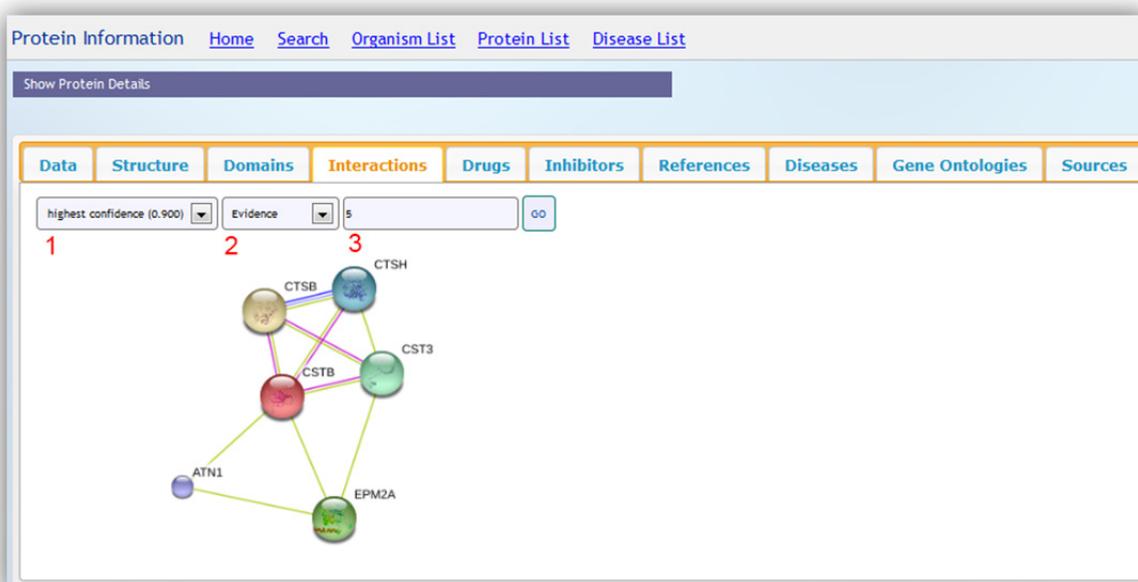


Figura 3. 8 - Página do OralCard para gerar redes de interacções em torno de uma proteína escolhida. 1) opção de selecção do índice de confiança; 2) opção de selecção do tipo de informação sobre a interacção; 3) opção de selecção do número de proteínas a interagir com a proteína escolhida.

Os estudos de interactómica que implicaram a análise de conjuntos de proteínas foram feitos recorrendo à ferramenta STRING - Search Tool for the Retrieval of Interacting Genes (<http://string-db.org/>)^[134,135], visto o OralCard não permitir, ainda, estas análises de conjuntos pré-definidos de proteínas. O STRING é uma ferramenta que assenta numa base de dados de PPI

conhecidas e previstas fazendo recurso a algoritmos. As interações incluem associações directas (físicas) e indirectas (funcionais) e podem ter quatro origens: i) contexto genómico; ii) técnicas experimentais de alto rendimento; iii) coexpressão (conservadas); iv) conhecimento prévio (outras bases de dados). A base de dados STRING integra quantitativamente as interações obtidas destas fontes para um elevado número de organismos e, quando aplicável, transfere a informação entre diferentes organismos. A todas as interações apresentadas na STRING é associado um índice que traduz a confiança na existência dessa interacção. Estes índices de confiança finais são calculados pela combinação das probabilidades obtidas de cada uma das fontes de evidência, corrigidas para a probabilidade de observar uma interacção de forma aleatória. A partir das redes de interações é possível aceder a informação específica de cada uma das proteínas (domínios funcionais, estruturas 3D, etc.) bem como das evidências de cada uma das interações apresentadas. Esta base de dados cobre, actualmente, 5214234 proteínas de 1133 organismos.

Para determinar redes de interacção para conjuntos de proteínas, no STRING, deve-se escolher a opção “*multiple names*” (Figura 3.9-1), inserir a lista de identificadores das proteínas a analisar (Figura 3.9-2) e escolher o organismo a que pertencem (Figura 3.9-3).

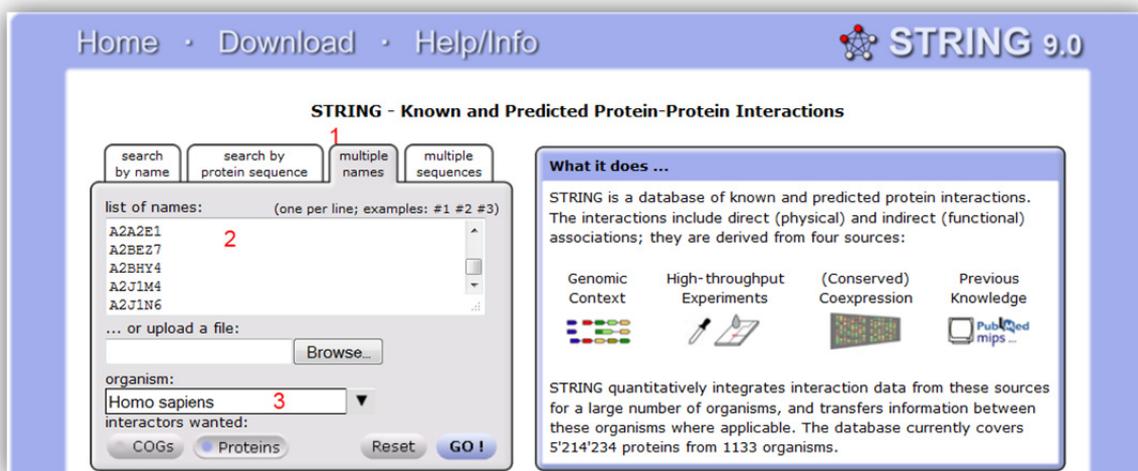


Figura 3. 9 - Página de rosto da ferramenta STRING. 1) separador de análise simultânea de conjuntos de proteínas; 2) janela de inserção da lista dos identificadores das proteínas a analisar; 3) opção de escolha do organismo a que correspondem as proteínas.

Os resultados da análise são apresentados sob a forma de uma rede interactiva em que as esferas representam as proteínas e os traços entre elas, representam as interacções identificadas (Figura 3.10). Cada uma das interacções é representada por cores diferentes, consoante o método que foi utilizado para a sua determinação. A partir do gráfico é possível aceder a informação sobre cada uma das proteínas. O tamanho das esferas é directamente proporcional à quantidade de informação disponível sobre a proteína. Por exemplo, proteínas cuja estrutura tridimensional já foi determinada experimentalmente, são representadas com um tamanho maior do que as que não têm essa informação, para além de conterem uma representação esquemática da estrutura

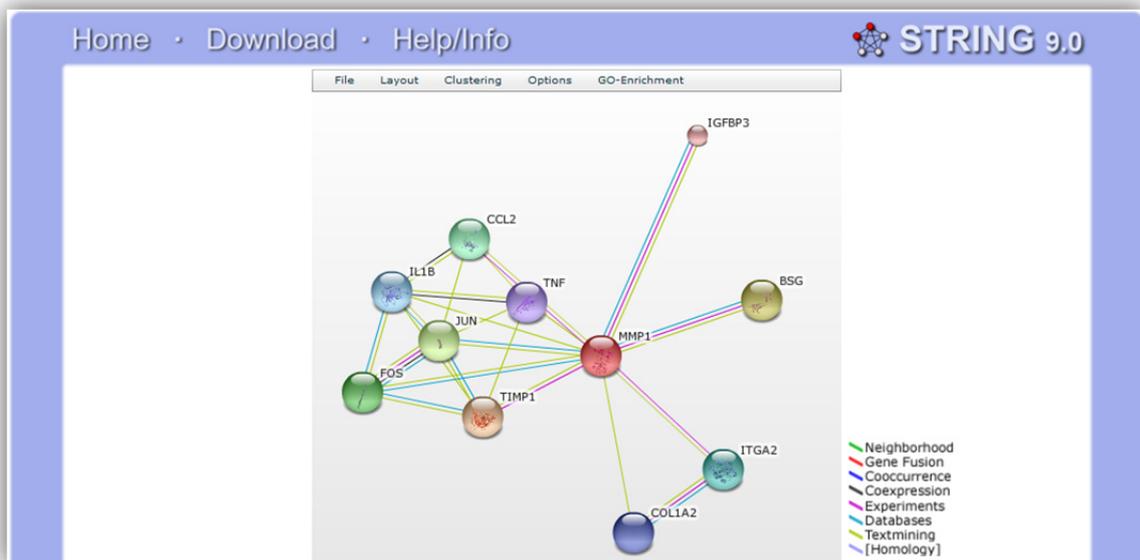


Figura 3. 10 - Página do STRING apresentando uma rede de interacções moleculares. As esferas representam proteínas. As interacções entre as proteínas são representadas por traços que apresentam cor diferente consoante o método de determinação da interacção.

O STRING permite definir vários parâmetros relativos à rede de interacções gerada (Figura 3.11). É possível escolher os métodos a utilizar na previsão das interacções, o grau de confiança mínimo para que uma interacção seja apresentada na rede molecular e o número de proteínas máximo a incluir em cada rede. Além disso, é possível adicionar nós adicionais à rede gerada. Estes nós, representam proteínas que interagem indirectamente (a um segundo nível) com as proteínas submetidas a análise, permitindo analisar a rede de interacções com maior profundidade e assim identificar outras proteínas implicadas na rede de funcionamento da proteína em estudo.

Info & Parameters ...

Network Display - Nodes are either colored (if they are directly linked to the input - as in the table) or white (nodes of a higher iteration/depth). Edges, i.e. predicted functional links, consist of up to eight lines: one color for each type of evidence. Hover or click to reveal more information about the node/edge.

Active Prediction Methods:

Neighborhood Gene Fusion Co-occurrence
 Co-expression Experiments Databases Textmining

required confidence (score): interactors shown:
highest confidence (0.900) no more than 10 interactors
or custom value: or custom limit:

additional (white) nodes

Figura 3. 11 - Janela do STRING com os parâmetros de definição das redes geradas. É possível escolher o índice de confiança, os métodos de previsão de interacções e o número de proteínas que são apresentadas na rede molecular.

4. Resultados e Discussão

O conceito do OralOma foi sugerido pela primeira vez no âmbito deste trabalho, como sendo o fisioma da cavidade oral. No sentido de definir o OralOma foi necessário proceder à compilação dos diversos proteomas da cavidade oral já publicados e realizar uma revisão da informação disponibilizada sobre as proteínas que os constituem. A vasta quantidade de informação reunida levou ao desenvolvimento de uma base de dados e de uma ferramenta, o OralCard, capaz de pesquisar, integrar e visualizar os dados armazenados. Posteriormente, as proteínas depositadas no OralCard foram caracterizadas de acordo com diversas ontologias génicas e discutidas à luz das funções conhecidas da saliva. Utilizando a informação disponível no OralCard, foram definidas estratégias para a análise de alterações moleculares em processos patológicos. A definição destas estratégias facilita a interpretação de dados de proteómica, de forma sistemática, de modo a esclarecer a fisiopatologia de diversas doenças. A análise das classes de doenças em que estão envolvidas as proteínas depositadas no OralCard permitiu evidenciar as potencialidades dos fluidos orais como fluido de diagnóstico tanto em patologias orais como sistémicas. Por fim, para exemplificar e testar as potencialidades analíticas do OralCard, foram realizados três casos de estudo. Na figura 4.1 está esquematizada a organização dos resultados obtidos no decorrer deste trabalho.



Figura 4. 1 - Esquema geral dos resultados obtidos no presente trabalho. * Etapas do desenvolvimento do OralCard para as quais contribuiu a análise dos casos de estudo.

4.1. COMPILAÇÃO E REVISÃO DO PROTEOMA ORAL HUMANO

Esta tarefa teve como principal objectivo a compilação dos diversos proteomas orais parciais dispersos na bibliografia e revê-los à luz do conhecimento actual depositado em bases de dados dedicadas a informação biológica. Uma das dificuldades que surgiu na compilação dos diversos proteomas orais prendeu-se com a falta de uniformização dos dados de proteómica publicados. Esta heterogeneidade dos dados é resultado da utilização de diferentes códigos de identificação das proteínas, o que dificulta a tarefa de reunir os dados provenientes de diferentes trabalhos e a eliminação de redundâncias. Muitos dos principais trabalhos de proteómica da cavidade oral (por exemplo o trabalho de Denny *et al.* 2008^[70]) identificaram as proteínas com o código IPI (*International Protein Index*) que, entretanto, caiu em desuso, sendo mesmo abandonado em finais de 2010. Isto obrigou a uma tarefa adicional na transposição daqueles identificadores para os identificadores cuja utilização é, actualmente, mais aceite pela comunidade científica de forma generalizada, que é o código UniProtKB AC. Outra das dificuldades prende-se com a constante actualização da informação depositada em bases de dados. Uma determinada sequência de aminoácidos que serviu para identificação de um perfil de péptidos obtidos num trabalho de proteómica, pode ter sido entretanto substituída por outra sequência, fundida noutra proteína pré-existente ou, pura e simplesmente, eliminada devido a erros experimentais. Isto obrigou a que, em muitos casos, tivessem de ser feitas novas identificações dos perfis de péptidos obtidos por proteómica (desde que disponibilizados pelos autores). Todas estas dificuldades obrigaram a uma revisão manual, cuidada e exaustiva de todas as proteínas identificadas nos trabalhos de proteómica da cavidade oral. Da totalidade de proteínas identificadas, 958 necessitaram de uma revisão e actualização de informação a vários níveis (ver Anexos, Tabela ii).

Deste trabalho resultou a documentação de 3388 proteínas não redundantes que podem ser encontradas na cavidade oral, provenientes de diversas origens (Anexos, Tabela i). Do total de proteínas identificadas, 3106 foram obtidas de amostras de saliva e 990 de amostras de mucosa oral (17 da

mucosa da língua e 984 de outras mucosas orais). Para além disso, 1929 proteínas identificadas são proteínas plasmáticas encontradas também na cavidade oral (designado aqui por plasma salivar) (Figura 4.2a). A maioria das proteínas salivares foi obtida a partir de amostras recolhidas das glândulas salivares parótidas num total de 1191 (incluindo 431 do exossoma das parótidas) e das glândulas SM/SL (992), sendo que 701 dessas proteínas foram encontradas em ambas. As glândulas salivares menores (554) e o FCG (100) contribuíram para o proteoma oral com um número mais reduzido de proteínas (Figura 4.2c).

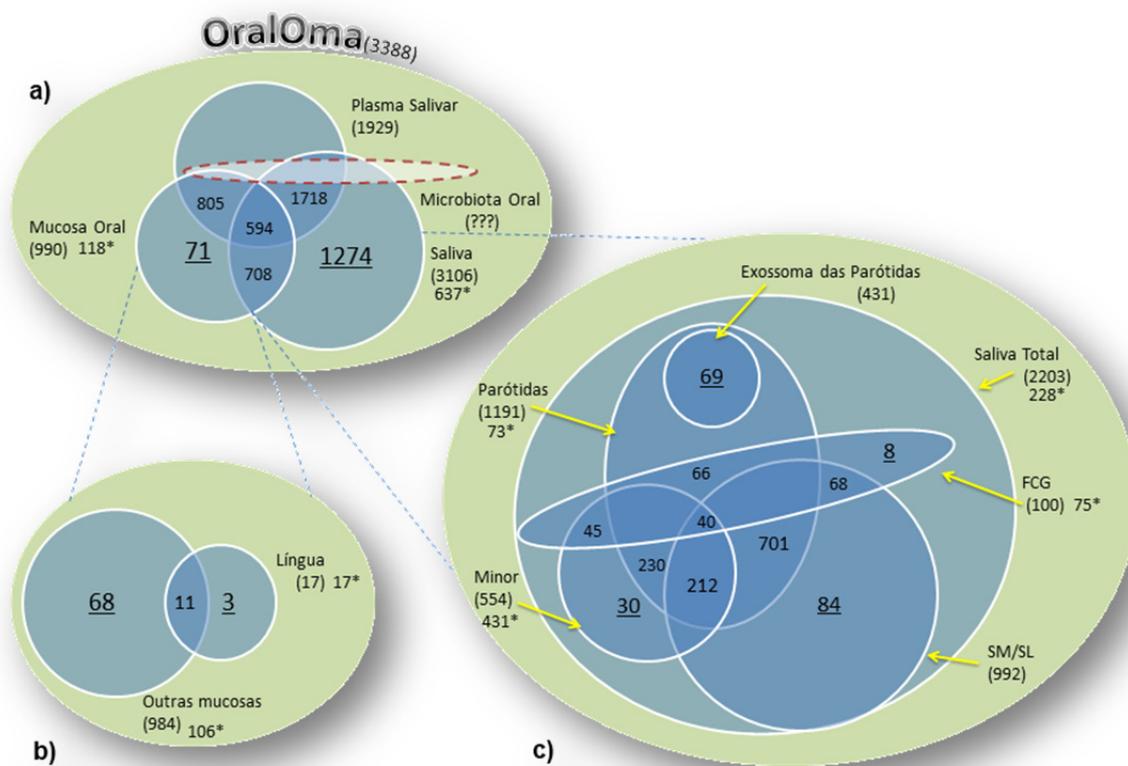


Figura 4. 2 – Identificação das diferentes origens das proteínas da cavidade oral e respectivo número de proteínas identificadas em cada uma delas, constituindo o OralOma. a) Número de proteínas que integram os sub-compartimentos que compõem o OralOma; b) origens das proteínas das mucosas orais; c) origens das proteínas da saliva. Os números entre parêntesis representam o total de proteínas obtidas de uma origem particular. Os números sublinhados representam proteínas exclusivas de uma origem particular em relação ao total de proteínas do OralOma. Os números situados nas intercepções representam proteínas comuns aos grupos interceptados. Os números com asterisco (*) representam o número de proteínas obtidas de dadores portadores de patologias.

Os números marcados com asterisco (*) na Figura 4.2 representam proteínas identificadas em amostras recolhidas da cavidade oral de pacientes

com várias doenças orais (cáries dentárias, *lichen planus* oral, periodontite agressiva, periodontite crónica, gengivite, cancro da cabeça e pescoço) e/ou sistémicas (cancro da mama, diabetes tipo 1, diabetes tipo 2, síndrome de Sjögren e esclerose sistémica). Nestas condições foram identificadas 707 proteínas, sendo que 637 foram obtidas de amostras de saliva (73 das glândulas parótidas, 431 das glândulas minor, 75 do FCG e 228 de amostras de saliva total) e 118 de amostras de mucosas orais (17 da mucosa lingual e 106 de outras mucosas orais). Cinquenta e uma destas proteínas foram identificadas exclusivamente nestas situações patológicas.

Em todas as origens de proteínas da cavidade oral foram identificadas proteínas exclusivas dessa origem (Figura 4.2 – números sublinhados). A existência dessas proteínas exclusivas poderá indicar que o sub-compartimento da cavidade oral onde elas foram identificadas desempenha funções específicas e, conseqüentemente, um papel particular de determinada fonte na fisiologia da cavidade oral. Entre todas as fontes de saliva pode-se constatar que as glândulas parótidas segregam uma percentagem maior (15,3%) de proteínas exclusivas do que as glândulas SM/SL (8,5%), glândulas menores (5,4%) e FCG (8%). Este facto parece sugerir uma participação maior por parte das glândulas parótidas para uma contribuição específica relativamente a determinadas funções da saliva. De notar a existência de 1274 proteínas (41%) que aparecem apenas em amostras de saliva, não aparecendo em amostras de plasma nem de mucosas orais. Estas proteínas poderão estar envolvidas nas funções características e específicas da saliva. De todas as proteínas identificadas em amostras de saliva, 461 não foram encontradas em amostras obtidas directamente das glândulas salivares, nem do FCG nem das mucosas orais. Uma vez que os canais das glândulas salivares são revestidos por epitélio permeável a macromoléculas, muitas destas proteínas podem passar para a saliva, por difusão a partir do plasma através dos complexos juncionais estreitos^[24], constituindo uma parte integrante do que é designado neste trabalho por “plasma salivar”.

Como referido anteriormente, para esclarecer o OralOma não basta conhecer as proteínas humanas presentes na cavidade oral. É igualmente necessário estudar as proteínas do microbiota oral e as interacções destas com

as proteínas do hospedeiro. Este trabalho está actualmente a ser desenvolvido pelo nosso grupo de investigação. Neste sentido, foi já identificada uma lista de proteínas produzidas por microrganismos orais a partir da base de dados HOMD^[117], que foram, após revisão, incluídas na base de dados OralCard, juntamente com as proteínas humanas.

4.2. DESENVOLVIMENTO DO ORALCARD

A compilação dos diversos proteomas da cavidade oral não só deu origem a uma vasta colecção de dados, como esses dados carecem de permanente actualização. Deste modo, surgiu a necessidade de desenvolver uma ferramenta bioinformática que permitisse, não só armazenar a informação, mas também, actualizá-la, integrá-la e visualizá-la de forma interpretativa.

A ferramenta, designada de OralCard, foi desenvolvida em cooperação com o grupo de bioinformática da Universidade de Aveiro tendo sido feita a sua apresentação à comunidade científica nos artigos científicos referenciados como ^[212,215] e integrado uma tese de Mestrado^[216].

Esta ferramenta tem como objectivo integrar os diferentes dados gerados pelas ciências “ómicas” dedicadas à cavidade oral, tratar esses dados à luz da bibliografia da cavidade oral e apresenta-los de forma mais inteligível, de modo a facilitar a interpretação da fisiologia e patologia deste sistema biológico e, desta forma, permitir a caracterização do OralOma humano. Com o OralCard, será facilitada a tarefa da análise dos resultados de proteómica da saliva, dedicados ao desenvolvimento de novos métodos de diagnóstico e de prognóstico e de auxílio à pesquisa de novos agentes terapêuticos.

4.2.1. Motivações para o desenvolvimento do OralCard

A quantidade de informação biológica disponível nos recursos *online* aumenta de forma galopante. Esta informação deve poder ser armazenada e processada recorrendo a ferramentas que sejam capazes de fornecer ao utilizador a capacidade de ele próprio armazenar, actualizar, recuperar e pesquisar os dados resultantes da sua pesquisa individual. Estas ferramentas são designadas de bases de dados ou, mais correctamente, sistemas de gestão de dados^[217]. Como referido na secção 1.2.3.1, actualmente existe uma enorme variedade de bases de dados. Porquê desenvolver mais uma? A

maioria das bases de dados existentes centra-se num único organismo ou num único interesse de investigação (por exemplo a determinação de interações proteína-proteína - PPI). Outras funcionam como grandes centros de informação biomolecular, armazenando dados de vários assuntos e de vários organismos (como é o caso do UniProt). Apesar do inegável sucesso deste tipo de base de dados, no entanto, se se pretender esclarecer um dado sistema biológico têm de ser desenvolvidas ferramentas mais específicas e dirigidas para esse sistema biológico. Só assim se pode lidar com problemas como a dispersão e falta de uniformização dos dados ou com a redundância provocada pelas dificuldades de revisão manual inerentes a bases de dados de grandes dimensões. Além disso, torna-se contraproducente armazenar dados que não digam respeito ao sistema biológico em estudo uma vez que isso poderá dificultar as interpretações fenotípicas. A saúde oral é uma área em que estes problemas adquirem especial relevância. Sendo uma área bastante específica e de índole manifestamente clínica, os investigadores deparam-se com vários problemas na obtenção de informação molecular clinicamente relevante no que concerne à cavidade oral, de forma rápida e transparente. Por esta razão, o OralCard deverá ser uma ferramenta específica para o sistema oral, dirigida para interpretações com aplicação clínica, de fácil utilização e que permita uma interpretação dos dados de forma visualmente apelativa.

4.2.2. Conceção do OralCard

Todo o processo de desenvolvimento do OralCard foi impelido pela necessidade de compilar e integrar informação relativa à cavidade oral e de interpretação dessa informação com impacto na compreensão dos mecanismos moleculares e funcionais deste sistema biológico e, em última instância, na prática clínica associada a ele. Assim, a concepção do OralCard esteve sempre associada à identificação do tipo de informação que seria necessário recolher e das funcionalidades a implementar de modo a tirar proveito dessa informação. Nesse sentido, foram idealizados e orientados 3 casos de estudo, no âmbito deste trabalho, que tiveram como propósito

principal fazer uma análise de requisitos da ferramenta bem como avaliar a sua funcionalidade quando aplicada à análise de problemas concretos da cavidade oral. Estes casos de estudo serão apresentados na secção 4.6.

Numa primeira fase, deu-se especial relevo ao tipo de informação que deveria ser recolhida, armazenada e integrada nesta ferramenta. Tornou-se clara a necessidade de identificar todos os intervenientes moleculares da cavidade oral, recolhendo toda a informação disponível de proteómica dirigida a este sistema biológico, e identificar a rede de interacções estabelecidas entre as proteínas pertencentes a este sistema, ou seja, o interactoma da cavidade oral. Para isso, foi recolhida diversa informação que incluía diferentes elementos identificadores das proteínas e da sua origem (Figura 4.3a), a sua classificação estrutural (Figura 4.3b), a sua classificação funcional (Figura 4.3c), o seu envolvimento em vias de sinalização e associação com doenças (Figura 4.3d) e uma lista de outras proteínas que com elas interagem (Figura 4.3e). Nesta fase, a recolha da informação foi feita manualmente de modo a identificar as fontes de informação mais completas e abrangentes. Deste modo, os elementos identificadores das proteínas foram atribuídos de acordo com a UniProtKB, a origem das proteínas foi atribuída de acordo com os trabalhos de proteómica pelos quais foram identificadas, a localização celular (*Cellular Component*) de acordo com o UniProtKB, a classificação estrutural de acordo com o Superfamily e com o BRENDA (no caso de serem enzimas), a classificação funcional de acordo com o PANTHER, a associação a vias de sinalização de acordo com o KEGG, a associação a doenças de acordo com o UniProtKB e a lista de interacções foi determinada de acordo com o UniHI.

Este sistema deveria incluir a possibilidade de pesquisar por sinais e sintomas, para além do nome da doença; 3) por fenómenos/processos biológicos. Esta funcionalidade deveria permitir encontrar todas as proteínas identificadas na cavidade oral, envolvidas num determinado processo, como por exemplo a remineralização dos dentes; 4) por estrutura anatómica. Neste ponto, deveria ser possível encontrar todas as proteínas, doenças e/ou processos relacionados com determinada estrutura anatómica da cavidade oral.

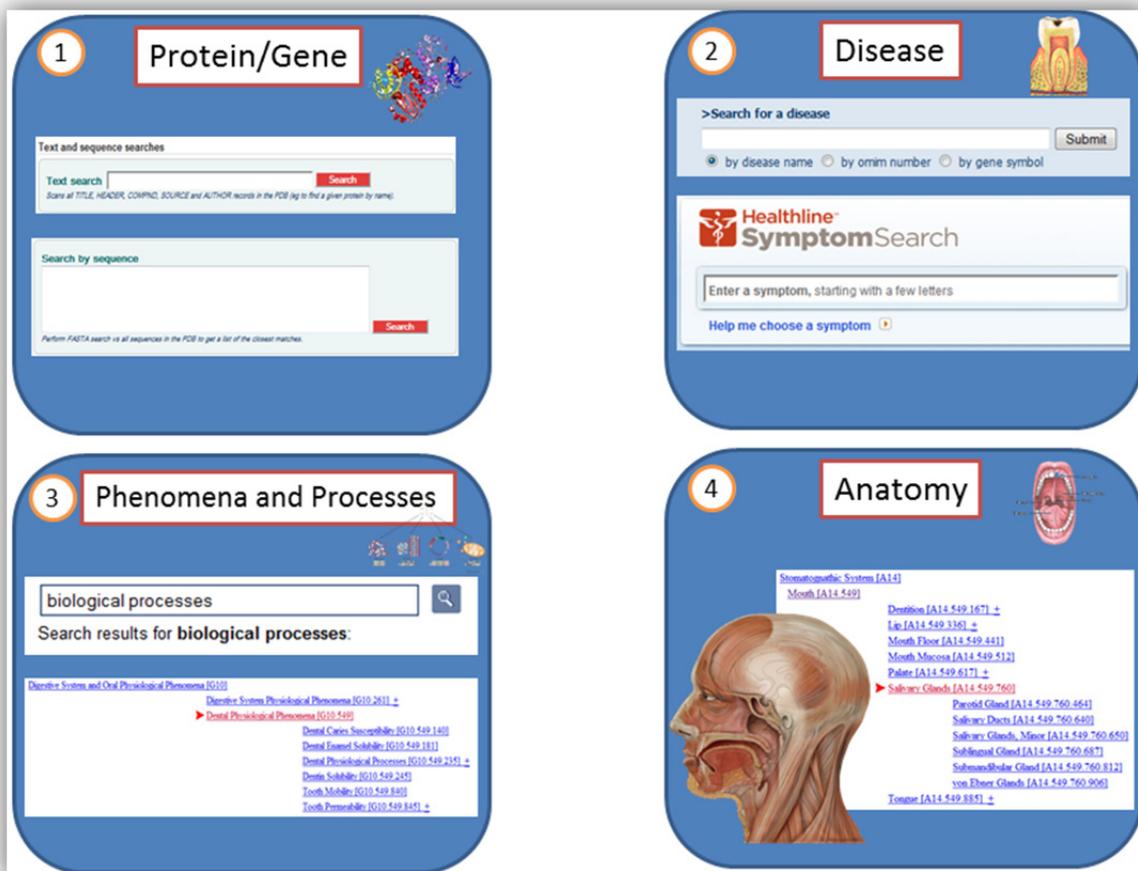


Figura 4. 4 – Representação conceptual do sistema de pesquisa do OralCard. 1) pesquisa por proteína/gene; 2) sistema de pesquisa por doença; 3) sistema de pesquisa por fenómeno/processo biológico; 4) sistema de pesquisa por estrutura anatómica.

Com a análise de requisitos levada a cabo nos casos de estudo, chegou-se à conclusão que, para cada uma das proteínas armazenadas, seria imprescindível apresentar um pequeno resumo sobre a sua função (obtido do *Entrez Genes*), os diferentes níveis estruturais conhecidos para cada proteína (obtidas do PDB), a composição em domínios estruturais (obtida do SMART), as redes de interações moleculares (obtidas do STRING) e os

fármacos/inibidores associados a cada proteína (obtidos do PharmGKB e do BRENDA) (Figura 4.5).

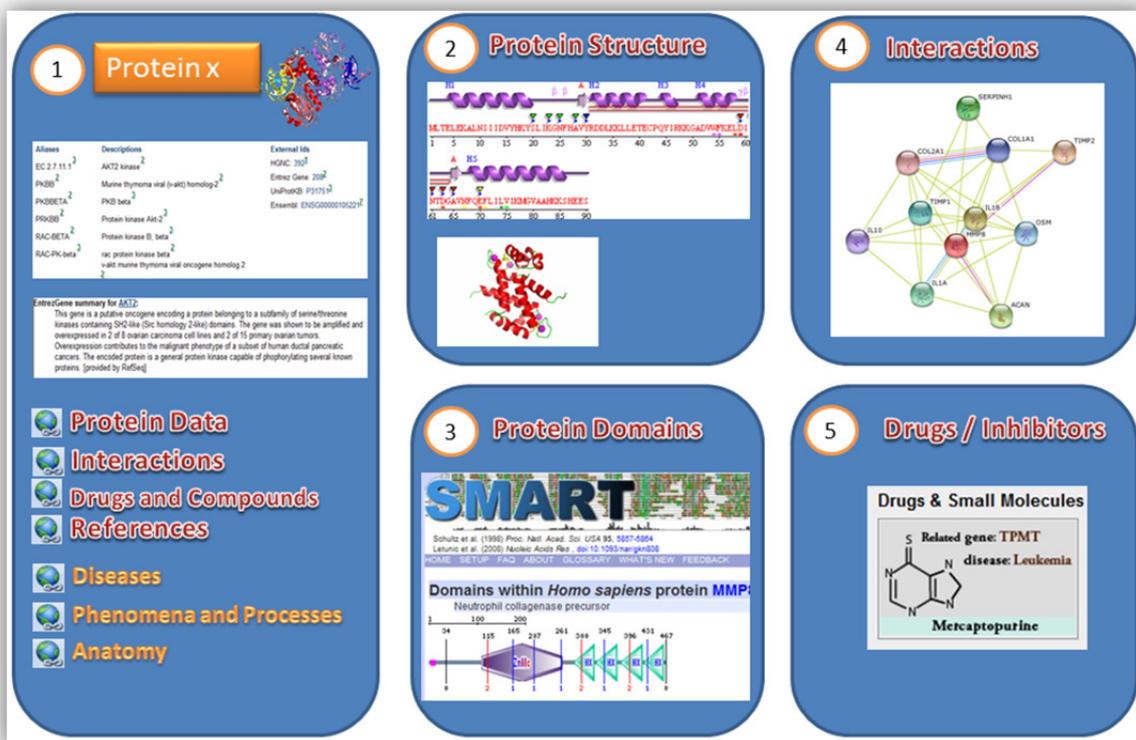
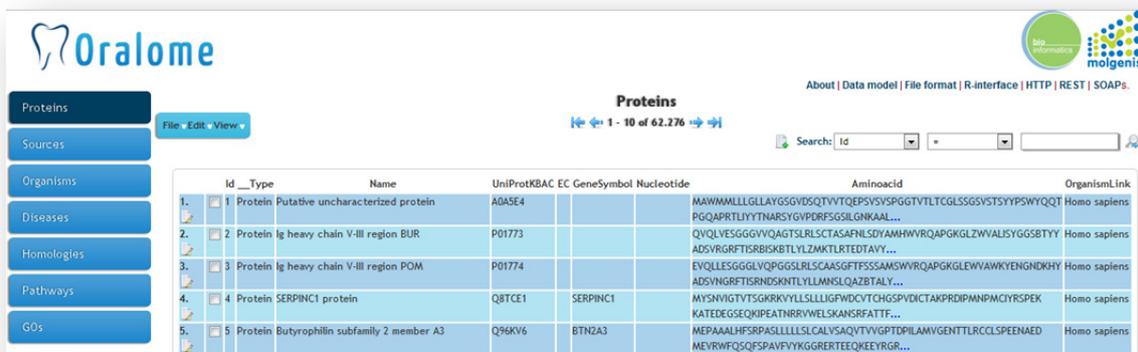


Figura 4. 5 – Representação conceptual dos níveis de informação sobre cada proteína armazenada no OralCard. 1) resumo da informação; 2) estruturas; 3) domínios estruturais; 4) rede de interações moleculares; 5) fármacos e/ou inibidores associados.

Este modelo propunha a integração dos dados entre os diferentes níveis de informação. Isto significa que o utilizador poderia pesquisar uma dada proteína e a partir dela podia aceder às doenças e/ou processos biológicos em que essa proteína estava envolvida. Ou alternativamente, poderia partir de uma estrutura anatómica da cavidade oral e ver quais as doenças que afectam essa estrutura e, posteriormente, identificar quais as proteínas alteradas nesse processo. Para as doenças e para os fenómenos/processos biológicos, seria ainda possível apresentar uma lista de mapas de sinalização que representassem essa situação do ponto de vista molecular (obtidos do KEGG, Reactome, PID, BioCarta, Invitrogen (iPath), Applied Biosystems (GeneAssist Pathway Atlas), Cell Signaling Technology e da Sigma-Aldrich (Cell Signaling Pathways)).

4.2.3. Estado actual

O desenvolvimento do OralCard procurou seguir a concepção inicial apresentada na secção anterior. No entanto, devido às contingências normais que ocorrem no percurso desde a concepção ao desenvolvimento efectivo de uma ferramenta deste género, o estado actual do OralCard difere em alguns aspectos do modelo conceptual. A primeira fase da construção do OralCard consistiu no desenvolvimento de uma base de dados que permitisse armazenar a informação gerada a partir dos proteomas orais. Essa base de dados foi designada de OralOme (Figura 4.6). Neste momento, encontram-se depositadas um total de 66218 proteínas, das quais 3388 são proteínas humanas obtidas directamente de trabalhos experimentais de proteómica da cavidade oral, compiladas e revistas durante o trabalho realizado no âmbito desta dissertação e as restantes são proteínas do microbiota oral, identificadas a partir da base de dados HOMD. A informação sobre todas as proteínas foi importada das bases de dados do NCBI e UniprotKB.



The screenshot shows the Oralome web application interface. On the left, there is a navigation menu with buttons for Proteins, Sources, Organisms, Diseases, Homologies, Pathways, and GOs. The main area displays a table of proteins. The table has columns for Id, Type, Name, UniProtKBAC, EC, GeneSymbol, Nucleotide, Aminoacid, and OrganismLink. The first five rows of the table are visible, showing protein details such as 'Putative uncharacterized protein', 'Ig heavy chain V-III region BUR', 'Ig heavy chain V-III region POM', 'SERPINC1 protein', and 'Butyrophilin subfamily 2 member A3'.

Id	Type	Name	UniProtKBAC	EC	GeneSymbol	Nucleotide	Aminoacid	OrganismLink
1.	1	Protein Putative uncharacterized protein	A0ASE4				MAWMMLLGLLAYGSGVDQTYVTQEPSVSPGGTVTLTCLGSSGVSSTYPSWYQQT PGQAPRTLIIYTNARSYGVPDRFSGSILGNKAAL...	Homo sapiens
2.	2	Protein Ig heavy chain V-III region BUR	P01773				QVQLVESGGGVVQAGTSLRSLCTASAFNLSDYAMHWVRQAPGKGLZVWALISYGGSBTYT ADSVRGRFTISRBSIKBTLYLZMKTLRTEDTAVY...	Homo sapiens
3.	3	Protein Ig heavy chain V-III region POM	P01774				EVQLLESGGGLVQPGGSLRSLCAAGFTSSAMSWSVRQAPGKLEWVAWKYENGDKHY ADSVNDRFTISRNDKNTLLYLLMNSLQAZBTALY...	Homo sapiens
4.	4	Protein SERPINC1 protein	Q8TCE1		SERPINC1		MYSNVIGTVTSGRKRYVLLSLLIGFWDVTCGHSVDICTAKPRDIPMPNPMCIYRSEPK KATEDEGESEKQIPKATNRRVWELSKANSRFATTF...	Homo sapiens
5.	5	Protein Butyrophilin subfamily 2 member A3	Q96KV6		BTN3A3		MEPAAALHFSRPASLLLLSLCALVSAQTVVVGTPDILAMVGENTLRLCCLSPENAE MEVRFQSQFSPAIVFYKGRRETEEQEYRGR...	Homo sapiens

Figura 4. 6 - Vista geral da base de dados OralOme desenvolvida para armazenar as proteínas humanas e microbianas identificadas na cavidade oral

Esta base de dados está dotada de sistemas de pesquisa simples que permitem localizar proteínas de interesse. Também permite consultar alguma informação sobre as proteínas armazenadas como sejam o nome, a origem e a sequência de aminoácidos. Uma vez que este trabalho está sujeito a constantes actualizações e revisões, implementou-se um sistema de inserção e edição manual de dados.

A segunda fase da construção do OralCard consistiu no desenvolvimento de um portal web que permite a interacção do utilizador com a base de dados, de modo a retirar o maior proveito da informação armazenada. Uma vez que o OralCard deve permitir a pesquisa de qualquer das entidades nele armazenadas, foi criada uma página de rosto com um sistema de pesquisa bastante intuitivo, que permite pesquisar por proteína, doença ou qualquer ontologia génica (função molecular, componente celular, processo biológico) (Figura 4.7).

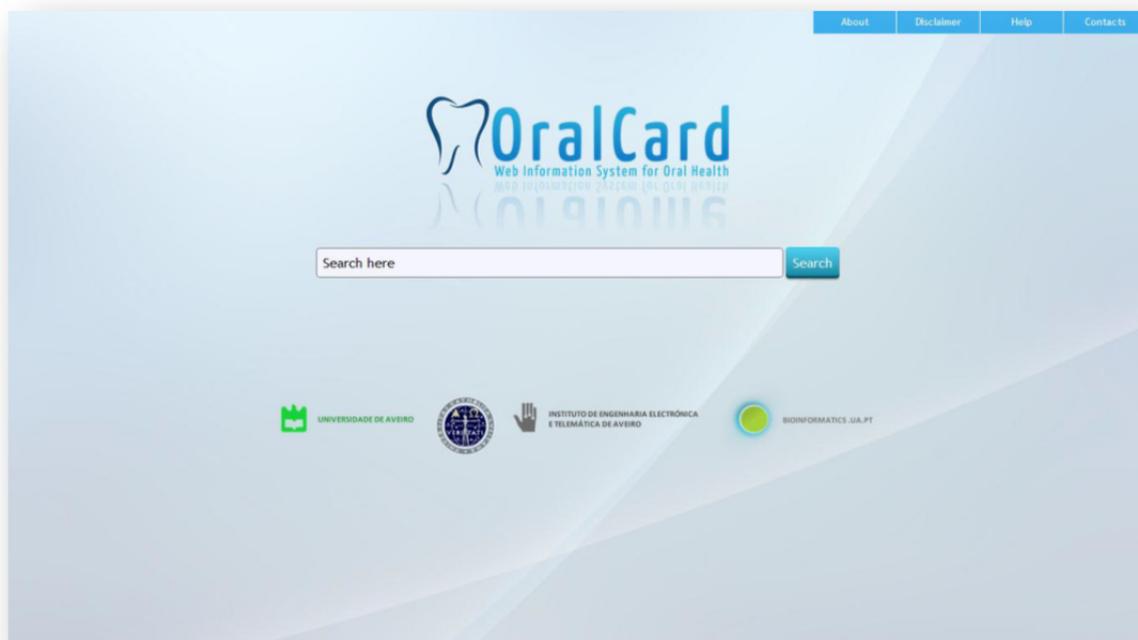


Figura 4. 7 - Página de rosto do OralCard, evidenciando o sistema de pesquisa

Para além da página de rosto, foram criadas páginas para cada uma das entidades armazenadas. Páginas, estas, que possuem sistemas de pesquisa próprios, dirigidos para o tipo de informação que contém. Na figura 4.8 podemos ver a página para a entidade “proteína” e a forma como permite pesquisar e seleccionar informação.

Global Search Home Search Organism List Protein List Disease List

Search: mmp

Show 10 entries

Type	Id	Name	Action
Disease	120353	MATRIX METALLOPROTEINASE 1; MMP1	View
Disease	604871	MATRIX METALLOPROTEINASE 24; MMP24	View
Disease	608482	MATRIX METALLOPROTEINASE 25; MMP25	View
Disease	608417	MATRIX METALLOPROTEINASE 28; MMP28	View
Disease	601046	MATRIX METALLOPROTEINASE 12; MMP12	View
Disease	178990	MATRIX METALLOPROTEINASE 7; MMP7	View
Disease	185260	MATRIX METALLOPROTEINASE 10; MMP10	View
Disease	604629	MATRIX METALLOPROTEINASE 20; MMP20	View
Disease	120355	MATRIX METALLOPROTEINASE 8; MMP8	View
Disease	600754	MATRIX METALLOPROTEINASE 14; MMP14	View

First Previous 1 2 3 4 Next Last

Figura 4. 8 - Janela do OralCard destinada à pesquisa de proteínas, exibindo o resultado de uma pesquisa e as opções de selecção atribuídas a cada um dos resultados encontrados

Na página de pesquisa de proteínas, podemos ver os detalhes da proteína seleccionada, seguindo a hiperligação *View*. Para cada uma das proteínas foi incluído um resumo da informação mais relevante e um menu com hiperligações para diversos tipos de informação: *Data*, *Structure*, *Domains*, *Interactions*, *Drugs*, *Inhibitors*, *References*, *Diseases*, *Gene Ontologies*, e *Sources* (Figura 4.9).

Protein Information Home Search Organism List Protein List Disease List

Show Protein Details

Name: Protein S100-A8
 Uniprot: [P05109](#)
 Gene Name Primary: S100A8
 Gene Name Synonym: CAGA; CFAG; MRP8
 HGNC: [10498](#)
 Ensembl: [ENSG00000143546](#)
 Enzyme Commission:
 Entrez Gene: [6279](#)

Entrez Gene Summary:
 The protein encoded by this gene is a member of the S100 family of proteins containing 2 EF-hand calcium-binding motifs. S100 proteins are localized in the cytoplasm and/or nucleus of a wide range of cells, and involved in the regulation of a number of cellular processes such as cell cycle progression and differentiation. S100 genes include at least 13 members which are located as a cluster on chromosome 1q21. This protein may function in the inhibition of casein kinase and as a cytokine. Altered expression of this protein is associated with the disease cystic fibrosis. [provided by RefSeq, Jul 2008]

Data Structure Domains Interactions Drugs Inhibitors References Diseases Gene Ontologies Sources

Figura 4. 9 - Janela com detalhes para cada uma das proteínas armazenadas no OralCard. Está disponível um resumo sobre a proteína escolhida e um menu onde se podem escolher os diferentes tipos de informação disponíveis para consulta.

O primeiro separador, *Data*, contém uma janela com informação base e classificação da proteína de acordo com as ontologias do PANTHER (Figura 4.10). Esta funcionalidade permite-nos avaliar rapidamente que tipo de proteína estamos a analisar e quais as principais funções que lhe estão atribuídas.

The screenshot displays the PANTHER Classification System interface. At the top, there is a navigation bar with tabs for Data, Structure, Domains, Interactions, Drugs, Inhibitors, References, Diseases, Gene Ontologies, and Sources. Below this is a search bar and a navigation menu with options like Home, Browse, Genes and orthologs, Trees and HMMs, Pathways, Ontologies, Tools, and Workspace. The main content area is titled 'PANTHER GENE INFORMATION' and provides detailed data for the gene S100AB. It includes fields for Gene ID (ENSG00000143546), Protein ID (P05109), Gene Name (Protein S100-AB), Gene Symbol(s) (S100AB), and Organism (Homo sapiens). A table of alternate IDs lists various identifiers from UniProt, Ensembl, and HGNC. Below this, the 'PANTHER CLASSIFICATION' section shows the family (FAMILY NOT NAMED) and subfamily (S100 CALCIUM-BINDING PROTEIN AB (CALGRANULIN A)). It also lists GO Molecular Functions such as binding, calcium ion binding, and protein binding, and GO Biological Processes like immune system process, immune response, and cell cycle.

Figura 4. 10 - Janela do OralCard com informação base e classificação da proteína de acordo com as ontologias do PANTHER.

O segundo separador, designado *Structure*, apresenta uma lista das estruturas tridimensionais já determinadas experimentalmente para a proteína escolhida e uma ferramenta de visualização dessas estruturas (Figura 4.11). Nesta janela podemos escolher a estrutura de interesse numa determinada situação e visualizá-la de forma estática. Se pretendermos estudar com mais detalhe a estrutura, de forma interactiva, podemos descarregar o ficheiro .pdb, que apresenta as coordenadas de todos os aminoácidos que constituem a molécula, e explorá-la num programa específico para o efeito, como o PyMOL^[156]. A visualização das estruturas tridimensionais das proteínas é extremamente importante para perceber a função dessa proteína. A partir da análise da estrutura podemos estudar interacções entre moléculas (por exemplo para estudos de *docking* para desenhar novos fármacos), determinar alterações da função provocadas por glicosilações, etc. Nesta janela podemos,

ainda aceder a uma representação esquemática das estruturas secundárias da proteína e de locais de modificação pós-tradução.

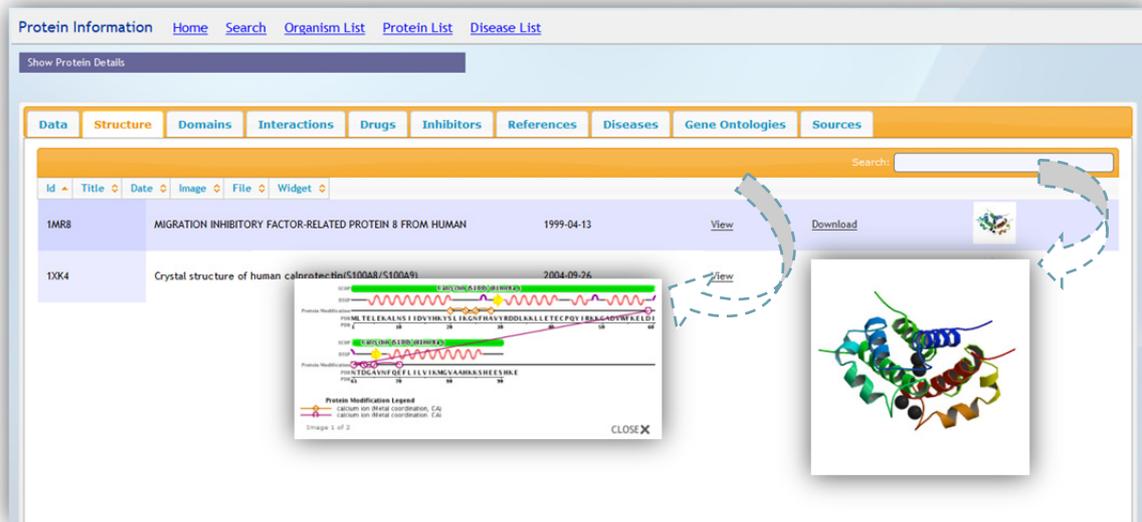


Figura 4. 11 - Janela do OralCard com a lista de estruturas associadas a uma dada proteína. A partir desta página é possível visualizar a estrutura secundária e tridimensional da proteína ou então descarregar o ficheiro com as coordenadas da molécula de modo a visualizá-la num programa específico como o PyMOL.

O separador *Domains*, inclui uma janela com a ferramenta SMART, que permite explorar os diferentes domínios identificados na proteína em questão (Figura 4.12). Esta funcionalidade foi implementada no OralCard para permitir, de forma rápida, determinar possíveis novas funções de uma determinada proteína de acordo com a sua constituição em domínios funcionais. O conhecimento dos domínios funcionais de uma proteína permite, ainda, avaliar a possibilidade de interacção entre moléculas, por exemplo quando se tratam de enzimas e respectivos inibidores.



Figura 4. 12 - Janela do OralCard com a constituição em domínios estruturais da proteína TEC segundo a ferramenta SMART.

No separador *Interactions*, o utilizador pode gerar uma rede de interacções centrada na proteína escolhida (Figura 4.13). Para gerar estas redes é utilizada a ferramenta STRING que permite escolher o grau de confiança nas interacções apresentadas, o tipo de evidência e o número máximo de proteínas a incluir na rede.

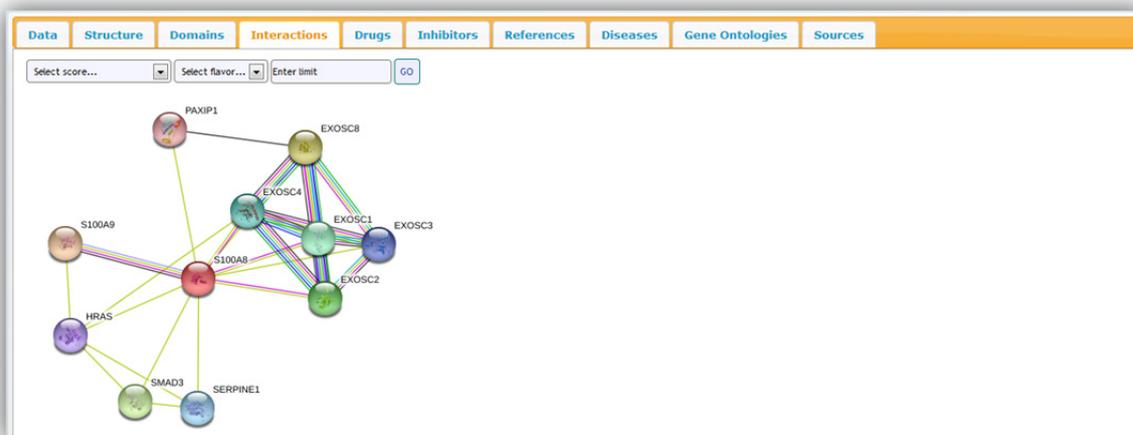


Figura 4. 13 – Janela do OralCard com a rede de interacções moleculares em que está envolvida a proteína S100A8 presente no proteoma oral. Rede de interacções gerada pela ferramenta STRING.

Estas redes de interacções são essenciais para o esclarecimento do papel que determinada proteína desempenha num dado mecanismo molecular. Uma vez que estas redes são geradas considerando diversas fontes de evidência (experimental, bibliográfica, co-expressão, por homologia e informação obtida de outras bases de dados), permitem ajudar a completar mapas de sinalização cujos intervenientes moleculares não sejam na totalidade conhecidos.

No separador *Drugs*, é apresentada uma lista de fármacos associados à proteína escolhida, de acordo com a base de dados PharmGKB^[218], enquanto o separador *Inhibitors* mostra a informação mais relevante sobre enzimas, nomeadamente os seus inibidores e substratos, segundo a base de dados BRENDA^[219]. A informação disponibilizada nestes dois separadores é importante na pesquisa de agentes terapêuticos para determinadas condições patológicas em que proteínas orais intervenham e na identificação de alvos terapêuticos para essas patologias. Já o separador *References* apresenta uma lista das referências bibliográficas relacionadas com a proteína escolhida.

Quanto aos separadores *Diseases* e *Gene Ontologies*, servem para fazer a interface da proteína escolhida com doenças e com diversas ontologias génicas, respectivamente. Qualquer uma destas duas entradas pode ser acedida através de uma página de pesquisa semelhante à das proteínas. Isto significa que podemos pesquisar o OralCard por proteínas, doenças ou ontologias génicas. No caso de pesquisarmos por doenças, é-nos dada uma lista de proteínas associadas a essa doença (Figura 4.14).

The screenshot shows the 'Disease Information' page for 'BREAST CANCER'. The page includes a navigation bar with 'Home', 'Search', 'Organism List', 'Protein List', and 'Disease List'. Below the navigation bar, there is a 'Show Disease Details' section with the following information:

- Name: BREAST CANCER
- OMIM: 114480
- Description:
- Link: [NCBI Link](#)

Below the details section, there are two tabs: 'Proteins' (selected) and 'KEGG Pathways'. The 'Proteins' tab displays a table of associated proteins. The table has columns for 'Uniprot', 'Name', 'Organism', and 'Action'. The table contains 10 entries, all from 'Homo sapiens'.

Uniprot	Name	Organism	Action
P00738	Haptoglobin	Homo sapiens	View
P00915	Carbonic anhydrase 1	Homo sapiens	View
P01023	Alpha-2-macroglobulin	Homo sapiens	View
P01024	Complement C3	Homo sapiens	View
P01034	Cystatin-C	Homo sapiens	View
P01036	Cystatin-S	Homo sapiens	View
P01037	Cystatin-SN	Homo sapiens	View
P01040	Cystatin-A	Homo sapiens	View
P01591	Immunoglobulin J chain	Homo sapiens	View
P01762	Ig heavy chain V-III region TRO	Homo sapiens	View

At the bottom of the table, there is a pagination control showing 'First', 'Previous', '1', '2', '3', '4', '5', 'Next', and 'Last'.

Figura 4. 14 - Página de pesquisa de doenças do OralCard apresentando a lista de proteínas presentes na cavidade oral envolvidas no cancro da mama.

Com esta informação podemos identificar quais as proteínas envolvidas em determinada doença que podem ser encontradas na saliva, permitindo identificar possíveis marcadores moleculares dessa doença na saliva.

Esta página de pesquisa por doença, permite-nos também obter uma lista de mapas de sinalização ilustrativos da doença seleccionada ou em que participam as proteínas nela envolvidas (Figura 4.15).

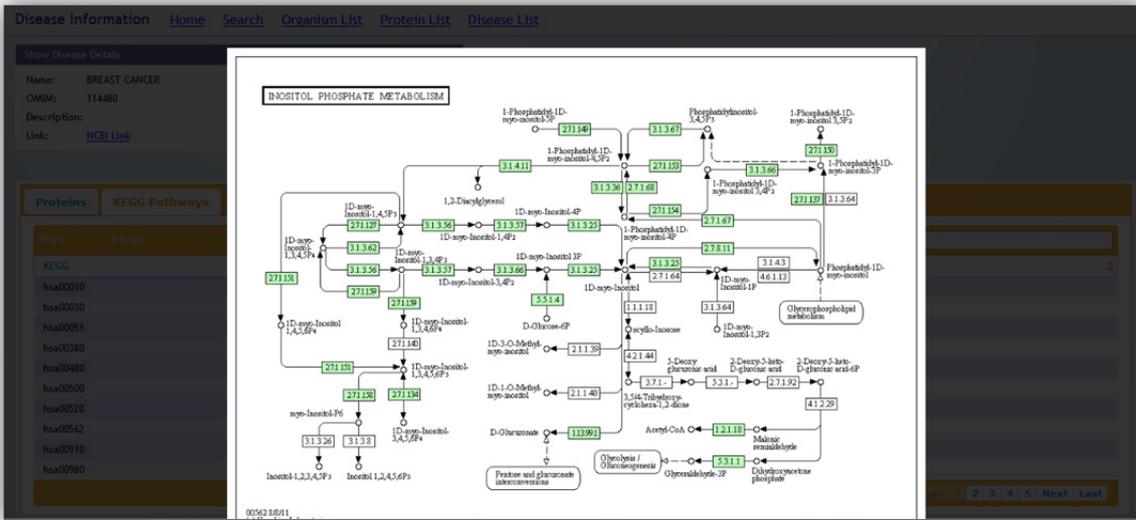


Figura 4. 15 - Janela de pesquisa de doenças do OralCard, apresentando um diagrama de um mapa de sinalização em que estão envolvidas proteínas do cancro da mama presentes na cavidade oral.

Esta informação é essencial para a compreensão e esclarecimento dos mecanismos moleculares envolvidos em doenças orais ou sistémicas cujas proteínas façam parte do proteoma oral.

Por fim, o último separador, designada por *Sources*, serve para listar as origens das proteínas depositadas no OralCard de acordo com os trabalhos de proteómica que levaram à sua identificação (Ver anexos, Tabela i). A informação apresentada inclui o nome da fonte da proteína, a condição em que foi obtida (saúde ou doença), uma hiperligação para a página de doenças relacionadas com essa proteína, os níveis de proteína detectados (aumento ou diminuição em relação ao normal), o tipo de evidência que lhe deu origem e a referência do PubMed que suporta esta informação (Figura 4.16).

Data	Structure	Domains	Interactions	Drugs	Inhibitors	References	Diseases	Gene Ontologies	Sources
Name	Condition	Disease	Regulation	Evidence	PubMed Id				
Whole Saliva	Disease	SQUAMOUS CELL CARCINOMA, HEAD AND NECK; HNSCC	-	Citation	18829504				
Whole Saliva	Disease	SQUAMOUS CELL CARCINOMA, HEAD AND NECK; HNSCC	Up	Citation	21035601				
Minor	Disease	SJOGREN SYNDROME	-	Citation	19364392				
Whole Saliva	Disease	SJOGREN SYNDROME	Up	Citation	18939961				
Whole Saliva	Disease	SJOGREN SYNDROME	Down	Citation	17968930				
Whole Saliva	Disease	PERIODONTITIS, CHRONIC	Up	Citation	20149214				
Whole Saliva	Disease	DIABETES MELLITUS, INSULIN-DEPENDENT; IDDM	-	Citation	20585025				
Whole Saliva	Disease	SCLERODERMA, FAMILIAL PROGRESSIVE	-	Citation	17722226				
Whole Saliva	Disease	BREAST CANCER	Down	Citation	20052393				
Whole Saliva	Disease	BREAST CANCER	Down	Citation	20052393				
Minor	Health		-	Citation	18361515;18434574				

Figura 4. 16 - Janela do OralCard relativa à informação relacionada com as origens da proteína S100A8 presente na cavidade oral.

Esta informação é particularmente relevante quando estão disponíveis dados relativos a alterações de expressão de proteínas salivares que ocorrem durante diversos estados patológicos. A figura 4.16 mostra que a proteína S100A8 foi previamente identificada na cavidade oral, tanto em indivíduos saudáveis como em indivíduos portadores de diversas doenças orais (periodontite, cancro oral) e sistémicas (diabetes, escleroderma, cancro da mama e síndrome de Sjögren). Além disso, os seus níveis estavam aumentados, por exemplo na periodontite. Já no síndrome de Sjögren, é visível que num estudo os seus níveis estavam aumentados^[191] enquanto noutro estudo^[72], ouve uma diminuição da sua quantidade nesta patologia. Esta discrepância pode ser devida a vários factores, nomeadamente a diferenças na faixa etária e no género dos pacientes bem como a diferenças nos métodos de proteómica utilizados. Para mais fácil interpretação deste tipo de resultados, de futuro serão também incluídas estas informações.

4.3. CARACTERIZAÇÃO DAS PROTEÍNAS DO PROTEOMA ORAL

As proteínas humanas presentes na cavidade oral podem ter várias origens. Podem ser produzidas e segregadas directamente pelas glândulas salivares, resultarem da descamação das mucosas orais ou entrarem na cavidade oral, a partir do plasma sanguíneo, por difusão através dos complexos juncionais estreitos (*tight junction complexes*) dos vasos que irrigam os tecidos limítrofes^[24]. De modo a compreender a complexa biologia do sistema oral é necessário entender a organização funcional das proteínas nele presentes. Para isso, é necessário caracterizar estas proteínas de acordo com diversas ontologias, nomeadamente componente celular, função molecular e processo biológico.

4.3.1. Função das proteínas da saliva, das mucosas orais e do plasma salivar

De modo a compreender qual a origem e a função das proteínas presentes em cada um dos sub-compartimentos da cavidade oral e de que forma a função dessas proteínas se reflecte na biologia oral, as proteínas foram anotadas de acordo com as ontologias “componente celular” (GO: 0005575 – “*The part of a cell or its extracellular environment in which a gene product is located*”) e “função molecular” (GO: 0003674 – “*Elemental activities, such as catalysis or binding, describing the actions of a gene product at the molecular level*”) (Figura 4.17). Quando as proteínas que integram os diferentes sub-compartimentos do OralOma são classificadas de acordo com o componente celular, podemos ver que a maioria das proteínas que aparece na cavidade oral é intracelular (Figura 4.17a). A maioria destas proteínas intracelulares é derivada das mucosas orais (60,2%) o que não surpreende, considerando que a saliva recolhe grande quantidade de proteínas resultantes dos processos de descamação que ocorrem, de forma contínua, no epitélio das mucosas e dos ductos salivares. Outra evidência que suporta esta hipótese é o facto de os

resultados apresentados neste trabalho indicarem que as mucosas contribuem para o proteoma oral com maior percentagem (12,4%) de complexos ribonucleoproteicos do que a saliva (5,9%) e o plasma salivar (7,7%), provavelmente, devido à lise celular aí observada. Está bem estabelecido que os ribossomas são abundantes na célula, estimando-se que a maioria do ARN celular eucariótico é ribossomal^[220]. Sendo assim, existirá uma grande contribuição, em termos de massa de complexos ribonucleoproteicos, para o conteúdo total da célula. Além disso, podemos ver que o OralOma tem uma grande percentagem de complexos proteicos (quase o dobro do que seria de esperar relativamente ao total de proteínas humanas) (Figura 4.17a). Talvez isto reflecta a grande quantidade de complexos supramoleculares existentes nos complexos sistemas membranares dos organelos e no retículo endoplasmático rugoso, uma vez que estas estruturas são intracelulares.

Na Figura 4.17b é apresentada uma comparação das funções moleculares das proteínas obtidas de diferentes origens na cavidade oral, utilizando o sistema de classificação do PANTHER. Observa-se que as proteínas com origem na saliva, nas mucosas orais e no plasma salivar estão envolvidas no mesmo tipo de funções moleculares. No entanto, cada um destes compartimentos contribui com uma quantidade e tipo de proteínas diferentes, apesar de participarem em funções comuns. Constata-se, também, que existe uma grande percentagem de proteínas presentes na cavidade oral envolvidas nas funções moleculares “actividade catalítica” e “ligação”. Uma vez que estas categorias podem não ser a única função desempenhada por cada uma das proteínas com função catalítica e de ligação, foi realizada uma análise de modo a identificar em que outras funções moleculares poderiam estar envolvidas. (Figura 4.17c). Com esta análise, confirmou-se que as categorias “actividade catalítica” e “ligação” são bastante amplas e redundantes, uma vez que as proteínas nelas incluídas integram também outras funções moleculares. De notar que muitas das proteínas com actividade catalítica apresentam também actividade de ligação. Da mesma forma, muitas das proteínas com actividade de ligação são também moléculas estruturais, reguladores enzimáticos ou apresentam, actividade catalítica, entre outras. Este é um bom exemplo das dificuldades que ainda se observam na catalogação de funções

moleculares de proteínas, assim como, na definição das diferentes ontologias, o que pode levar a interpretações erróneas de resultados.

A redundância destas categorias mais amplas faz com que a interpretação dos resultados não seja tão directa como nas categorias que, representando funções moleculares mais específicas, isso não acontece. Isso também justifica, em parte, as dificuldades em atribuir uma relação directa entre a quantidade de proteínas envolvidas numa determinada função e a importância dessa função na biologia oral. A função antioxidante que, apesar de ter um pequeno número de proteínas nela envolvidas, é uma função bastante importante da saliva com repercussões na saúde da cavidade oral (Ver secção 1.1.2.2). Na Figura 4.17b verifica-se que, apesar do pequeno número de proteínas com actividade antioxidante, todas as fontes de proteínas contribuem para esta importante função da saliva. Além disso, a cavidade oral apresenta uma maior percentagem de proteínas com esta função (3,31 vezes mais, $p \leq 0,05$) relativamente ao total de proteínas humanas (Figura 4.18). Isto deve-se, provavelmente, ao facto da cavidade oral estar particularmente exposta ao stresse oxidativo^[67]. A participação de cada um dos sub-compartimentos orais para a função antioxidante da saliva é praticamente a mesma (plasma salivar 35%, saliva 30% e mucosas orais 30%) (Figura 4.17b – gráfico circular). Ainda mais interessante é o facto de, entre as proteínas plasmáticas com função antioxidante, a esmagadora maioria aparecer na cavidade oral, fazendo parte da componente proteica da cavidade oral designada neste trabalho como plasma salivar, e apenas 5% serem exclusivas do plasma sanguíneo. Para além disso, constatou-se que algumas destas proteínas com função antioxidante (por exemplo a glutathione peroxidase e a superóxido dismutase [Cu-Zn] extracelular) são produzidas por todas as fontes de saliva excepto o fluido crevicular gengival (Figura 4.20b).

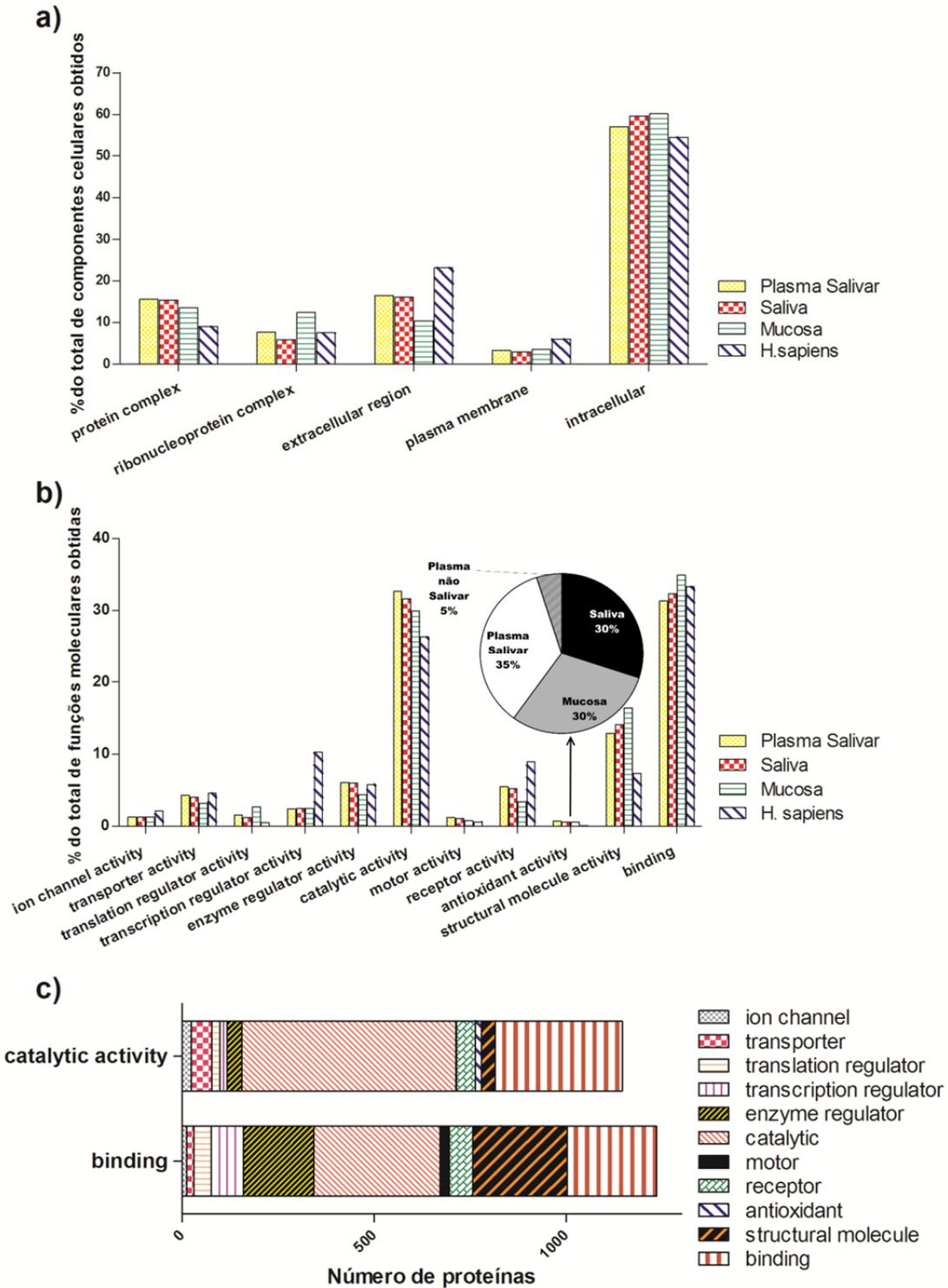


Figura 4. 17 - Classificação das proteínas da saliva, das mucosas orais, do plasma salivar e do total de proteínas humanas na base de dados PANTHER, de acordo com: a) componente celular (% de proteínas detectadas face ao # total de componentes celulares detectados); b) função molecular (% de proteínas detectadas face ao # total de funções moleculares detectadas) – o gráfico circular representa a função “antioxidant activity” em detalhe; c) número de proteínas com função catalítica e de ligação, que participam noutras funções moleculares. As análises foram realizadas com recurso à ferramenta de classificação do PANTHER.

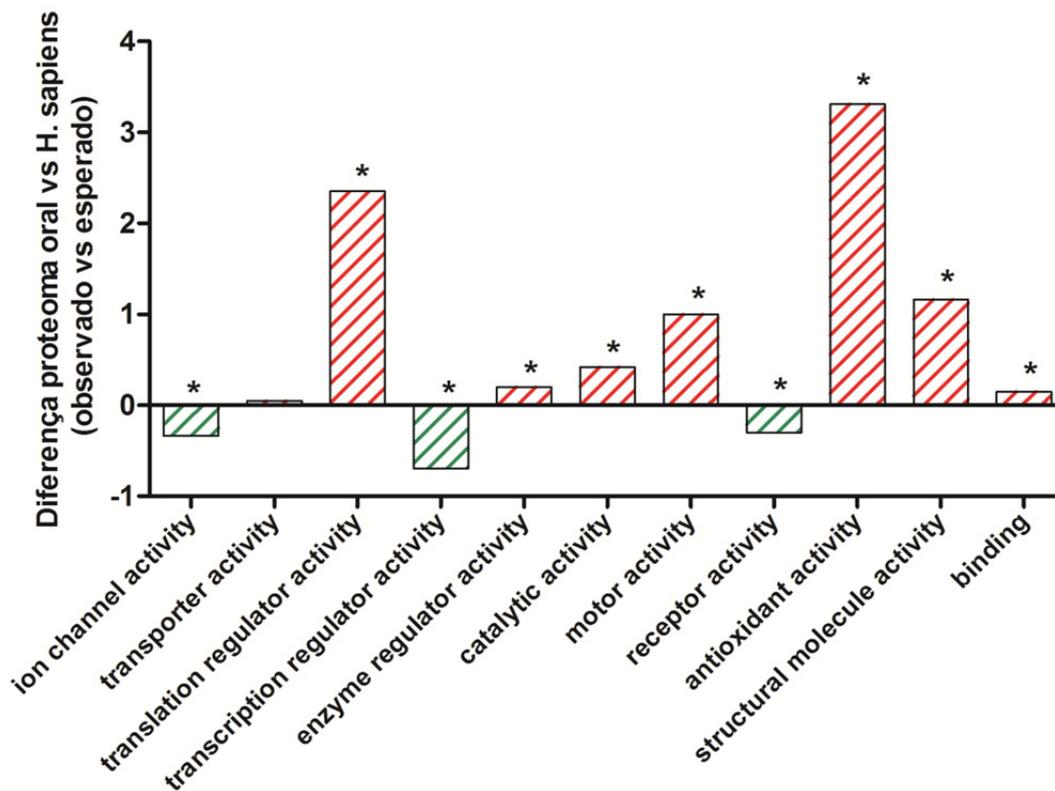


Figura 4. 18 - Diferenças observadas no número de proteínas do OralOma envolvidas em cada uma das funções moleculares, relativamente ao total de proteínas humanas (as categorias marcadas com * apresentam um valor de $P \leq 0.5$). As análises foram realizadas com recurso à ferramenta de análise de dados de expressão génica do PANTHER.

Como referido anteriormente, a maioria das proteínas da cavidade oral tem origem intracelular (Figura 4.17a). No entanto, a saliva resulta em grande parte de processos de secreção nos quais muitas proteínas são secretadas para o espaço extracelular. De modo a compreender as diferenças no contributo das proteínas intracelulares e das proteínas extracelulares para as funções da saliva, procedeu-se à sua caracterização de acordo com os processos biológicos em que estão envolvidas (Figura 4.19).

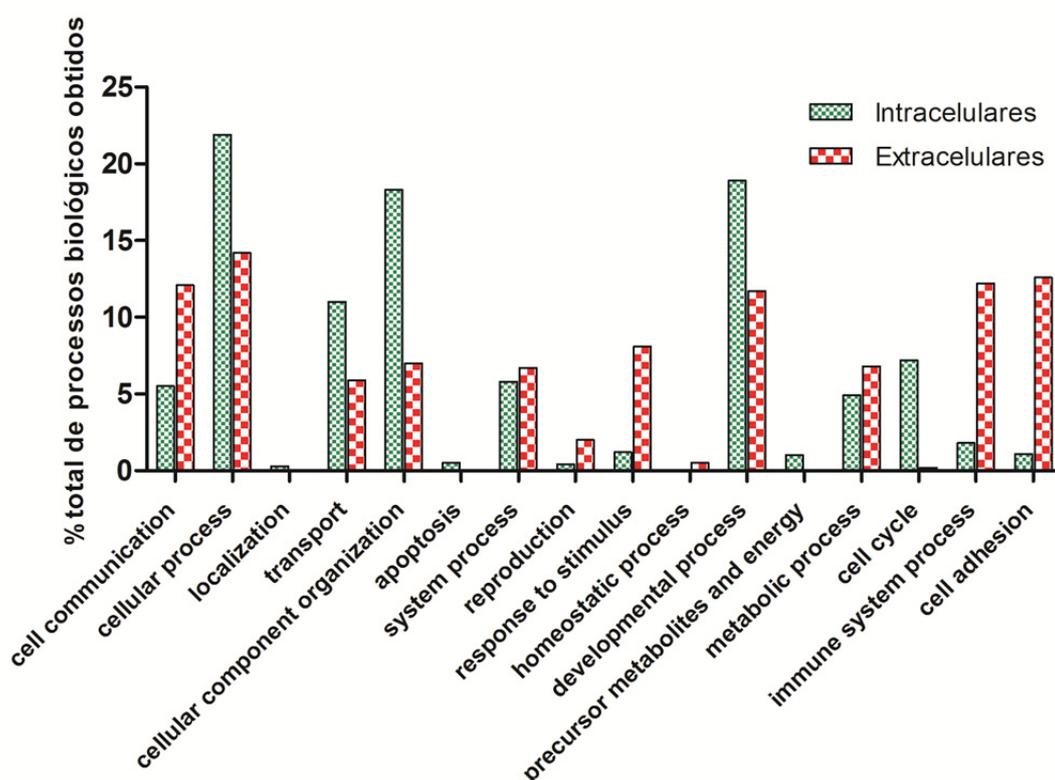


Figura 4. 19 - Classificação das proteínas orais intracelulares e extracelulares de acordo com os processos biológicos em que estão envolvidas. Análise realizada com recurso à ferramenta de classificação do PANTHER.

De acordo com a Figura 1.6, uma das principais funções da saliva consiste em conduzir a defesa contra microrganismos. Na figura 4.19 constata-se que existe maior percentagem de proteínas extracelulares envolvidas na resposta a estímulos (8.1% vs. 1.2%), na resposta imune (12.2% vs. 1.8%) e na adesão celular (12.6% vs. 1.1%) relativamente às proteínas intracelulares. Uma vez que estes processos biológicos são essenciais na resposta a microrganismos, pode-se concluir que essa função é conferida principalmente pelas proteínas secretadas (extracelulares). Quanto às proteínas intracelulares, que resultam em grande parte dos processos de descamação das mucosas orais, estão envolvidas principalmente na remodelação dos tecidos da cavidade oral patente na grande percentagem destas proteínas envolvidas nos processos de organização dos componentes celulares (18.3%), processos de desenvolvimento (18.9%) e no ciclo celular (7.2%).

4.3.2. Função das proteínas do componente salivar do proteoma oral

A maioria das proteínas encontradas na cavidade oral provém directamente do componente salivar produzido pelas glândulas salivares principais (parótidas, submandibulares e sublinguais – SM/SL), glândulas salivares menores e fluido crevicular gengival (FCG). Com o objectivo de avaliar a contribuição específica das diferentes glândulas e do fluido crevicular gengival para as funções da saliva, procedeu-se à análise das funções moleculares das proteínas obtidas de cada uma delas, bem como dos processos biológicos (GO: 0008150 – “*Any process specifically pertinent to the functioning of integrated living units: cells, tissues, organs, and organisms. A process is a collection of molecular events with a defined beginning and end*”) em que intervêm. Esta análise foi realizada com o sistema de classificação do PANTHER (Figura 4.20). Observa-se que as proteínas produzidas pelas glândulas salivares principais (parótidas e SM/SL) e pelas glândulas salivares menores têm as mesmas funções. No entanto, o número de proteínas envolvidas em cada uma das funções varia ligeiramente entre as proteínas obtidas das glândulas salivares principais (parótidas e SM/SL) e, de forma mais marcada, entre estas últimas e as obtidas das glândulas salivares menores. Esta variação quantitativa, traduz-se num aumento do número de proteínas com actividade catalítica e estrutural e numa diminuição do número de proteínas envolvidas na regulação enzimática e com actividade de receptor (Figura 4.20a). Por sua vez, o fluido crevicular gengival não apresenta proteínas com função de receptor nem de canais iónicos. Possivelmente, porque estas proteínas são na sua maioria transmembranares e, conseqüentemente, muito grandes para aparecerem no exsudato que constitui o FCG. Outro grupo ausente do FCG é o das proteínas com actividade reguladora da tradução. Isto pode estar relacionado com a menor percentagem de proteínas com esta função encontrada no plasma sanguíneo, visto que o FCG é formado quando o fluido exsuda dos vasos da microcirculação proximal para o sulco gengival^[221]. Além disso, o número de proteínas do FCG com actividade molecular estrutural encontra-se marcadamente aumentado

relativamente às proteínas produzidas pelas glândulas salivares. Uma possível explicação para este facto reside na constante remodelação da matriz extracelular sofrida pelo periodonto saudável e ao aumento da degradação desta matriz, observada durante processos patológicos como a periodontite. Todos estes processos podem reflectir-se na composição proteica do FCG^[222]. A presença de metaloproteínases de matriz, nomeadamente MMP8, no fluido crevicular, corrobora esta hipótese. Esta enzima é capaz de degradar colagénios do tipo I, II e III, desempenhando um papel importante na remodelação da matriz e está descrita como sendo um mediador central no desenvolvimento de periodontite crónica^[223].

Na Figura 4.20b observa-se uma maior percentagem de proteínas específicas do FCG com actividade reguladora da transcrição em relação às outras fontes de saliva. Isto reflecte o aumento da síntese proteica necessária para contrapor os processos de degradação que ocorrem no sulco gengival, o que é consistente com o aumento dos processos biológicos celulares e de organização dos componentes celulares, observados na Figura 4.20c.

No que diz respeito aos processos biológicos em que intervêm as proteínas obtidas de cada uma das fontes de saliva, aparentemente estão envolvidas nos mesmos. Apenas o FCG apresenta algumas diferenças de relevo em relação às outras fontes de saliva (Figura 4.20c). De notar que o FCG apresenta maior percentagem de proteínas envolvidas na resposta a estímulos do que amostras de saliva total (8,4% *versus* 5,9%). Isto faz sentido, uma vez que o sulco gengival é uma “zona de guerra”, onde ocorre a resposta dos tecidos do hospedeiro às agressões microbiológicas^[224]. Por outro lado, é algo estranho que o FCG apresente aproximadamente a mesma percentagem de proteínas envolvidas no processo imunológico que outras fontes de saliva. Estes resultados sugerem que, no FCG, o resultado da “guerra” é mais notado do que os próprios “guerreiros”. Por outras palavras, o FCG pode ser um bom meio para estudar a degradação de componentes celulares, resultante da resposta imune do hospedeiro a agressões microbianas. Isto é corroborado pelo facto de ocorrer um aumento da produção de FCG na doença periodontal resultante, não só, do crescimento de microrganismos no sulco gengival mas

também da resposta imune excessivamente agressiva do hospedeiro contra esses microrganismos^[176].

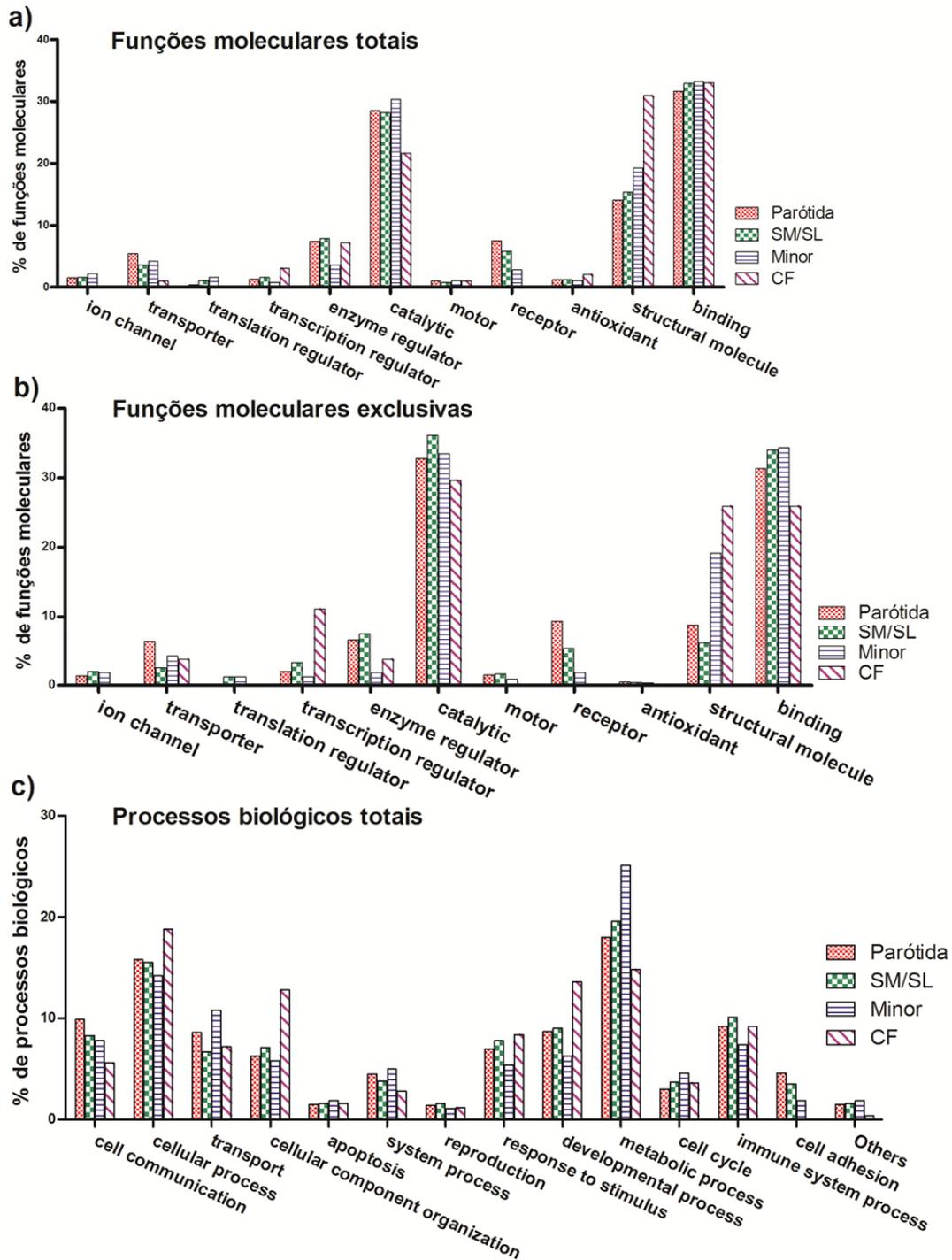


Figura 4. 20 - Classificação das proteínas obtidas de diferentes fontes de saliva de acordo com: a) função molecular do total de proteínas obtidas de cada fonte (% de proteínas detectadas por # total de funções moleculares detectadas); b) função molecular das proteínas obtidas exclusivamente de cada uma das fontes relativamente ao número total de proteínas obtidas de amostras de saliva (% de proteínas detectadas por # total de funções moleculares detectadas); c) processo biológico das proteínas obtidas de cada uma das fontes de saliva (% de proteínas detectadas por # total de processos biológicos detectados). Análises feitas com a ferramenta de classificação do PANTHER.

Uma vez que se observa uma participação equitativa das diferentes fontes de saliva para a resposta imune, pode-se especular que a participação no processo biológico “*immune system process*” é partilhado por toda a saliva (devido à sua importância) e as proteínas nele envolvidas podem ser recrutadas do plasma sanguíneo por infiltração através do epitélio das glândulas e das mucosas orais. A presença no plasma, da maioria (80%) das proteínas envolvidas na resposta imune na saliva, suporta esta ideia (Figura 4.21).

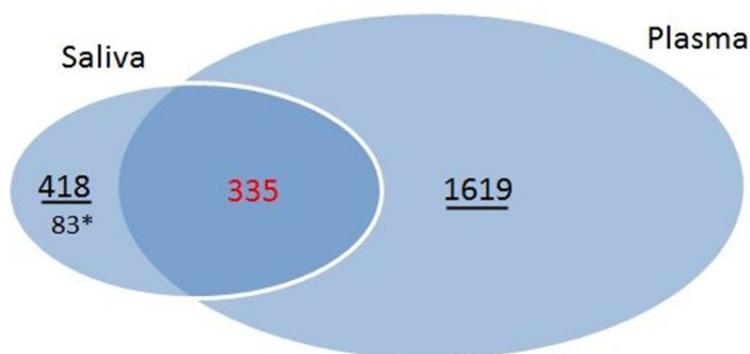


Figura 4. 21 - Distribuição das proteínas envolvidas na resposta imune na saliva e no plasma sanguíneo. Números sublinhados representam o total de proteínas; número na intercepção da saliva e do plasma representa as proteínas comuns entre ambos; número com asterisco representa as proteínas envolvidas na resposta imune, identificadas exclusivamente na saliva.

Outra das diferenças observadas no que respeita aos processos biológicos em que estão envolvidas as proteínas das diferentes fontes de saliva diz respeito ao facto das glândulas salivares menores produzirem uma percentagem mais elevada de proteínas envolvidas em processos metabólicos (25.1% contra 18% nas parótidas, 19.6% nas SM/SL e 14.8% no FCG). Este facto desperta um interesse especial sobre as proteínas segregadas pelas glândulas salivares menores em estudos de metabolómica, que incidem sobre o conjunto de moléculas que participam em reacções metabólicas, e no esclarecimento dos mecanismos moleculares de doenças relacionadas com defeitos no metabolismo, como a diabetes.

4.4. ESTRATÉGIAS DE ANÁLISE DE ALTERAÇÕES MOLECULARES EM DOENÇAS

Uma das utilizações mais interessantes da informação depositada no OralCard é permitir a análise de dados de proteómica que mostram alterações na quantidade e tipo de proteínas expressas em diversas patologias. No entanto, ainda não existem estratégias bem definidas para transformar os dados de proteómica em informação com significado para o entendimento dos processos moleculares das patologias. De momento, esta funcionalidade do OralCard está limitada, visto não ser possível, para já, estudar conjuntos de proteínas simultaneamente. Por esta razão, apresenta-se uma abordagem que permite fazer esta análise recorrendo a outras ferramentas bioinformáticas disponíveis. Isto permitirá identificar as necessidades funcionais e, deste modo, ajudar na implementação de novas funcionalidades do OralCard para este tipo de estudos. Este tipo de abordagem tem de ser objectivo e metódico, de modo a dirigir o conhecimento de forma sistemática e o mais independente possível da subjectividade do analisador. Isto poderá ser conseguido através da identificação inicial das funções moleculares e dos processos biológicos alterados nas patologias a estudar e consequente análise pormenorizada das ontologias mais alteradas. Tenha-se como exemplo a análise das funções moleculares e processos biológicos alterados em várias doenças orais, para as quais existem dados de proteómica, comparativamente ao OralOma normal (todas as proteínas identificadas na cavidade oral excepto as obtidas exclusivamente em situações patológicas) (Figura 4.22). Pode-se constatar que em cada uma destas doenças, apesar de existirem alterações comuns a todas, podem ser identificadas funções moleculares e processos biológicos marcadamente alterados em relação ao normal. Por exemplo, nas cáries dentárias, observa-se uma alteração significativa na quantidade de proteínas com actividade reguladora de enzimas (13% *versus* 6% no OralOma normal) (Figura 4.22a). Olhando para os processos biológicos alterados nesta doença, pode-se ver que existe uma alteração significativa na quantidade de proteínas envolvidas na comunicação celular (5.1% *versus* 9% no OralOma normal) na resposta a estímulos (12.1% *versus* 5.9% no OralOma normal) e na resposta

imunológica (14% versus 7,7% no OralOma normal) (Figura 4.22b). Com este conhecimento, pode-se dirigir a análise no sentido de estudar as proteínas envolvidas nestes processos alterados e, desta forma, clarificar os mecanismos moleculares envolvidos nas cáries dentárias.

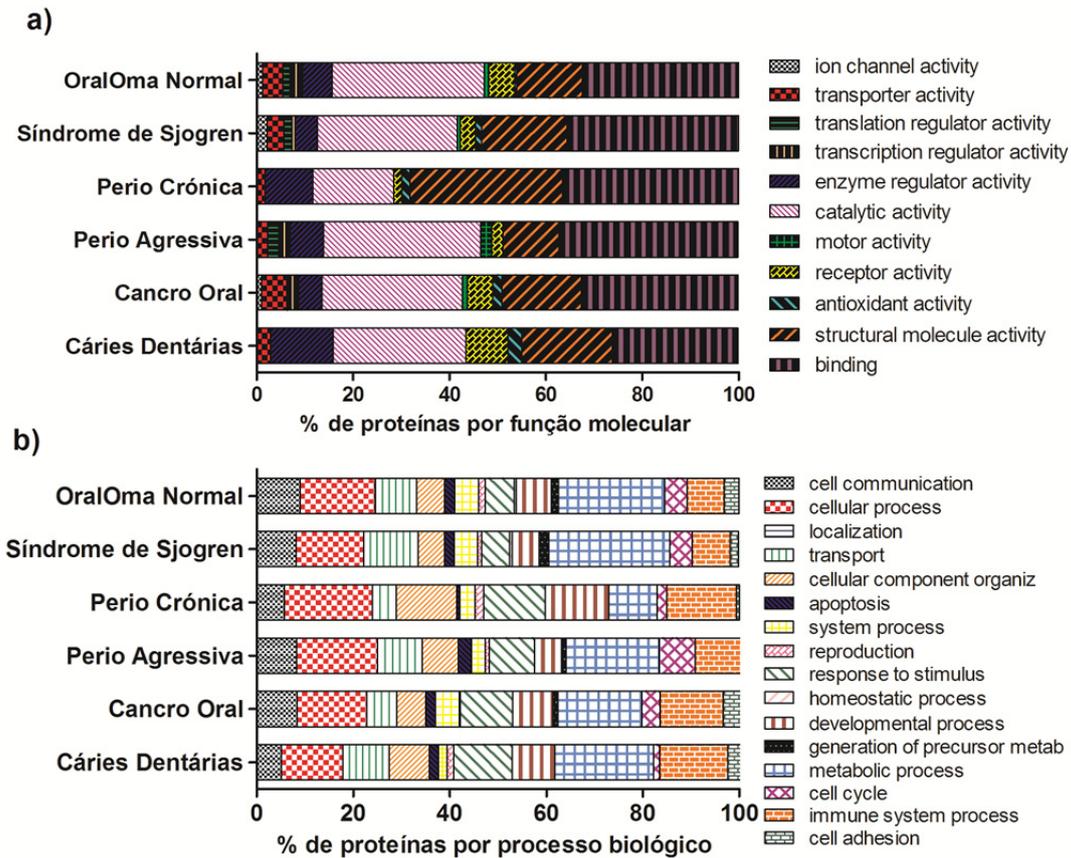


Figura 4. 22 - Classificação das proteínas obtidas de amostras de saliva de doadores com várias patologias orais, de acordo com: a) função molecular (% de proteínas detectadas por # total de funções moleculares detectadas); b) processos biológicos das proteínas obtidas de cada uma das fontes de saliva (% de proteínas detectadas por # total de processos biológicos detectados). Análise realizada com o sistema de classificação do PANTHER. O OralOma normal compreende a totalidade das proteínas humanas identificadas na cavidade oral excepto aquelas que foram identificadas exclusivamente em amostras de doadores com determinada patologia.

Como referido anteriormente, nas cáries dentárias observa-se uma alteração significativa das proteínas envolvidas na resposta imune. Analisando a rede de interações moleculares em que participam as proteínas envolvidas neste processo biológico, é possível identificar mecanismos moleculares alterados, que sejam responsáveis pelas alterações observadas (Figura 4.23).

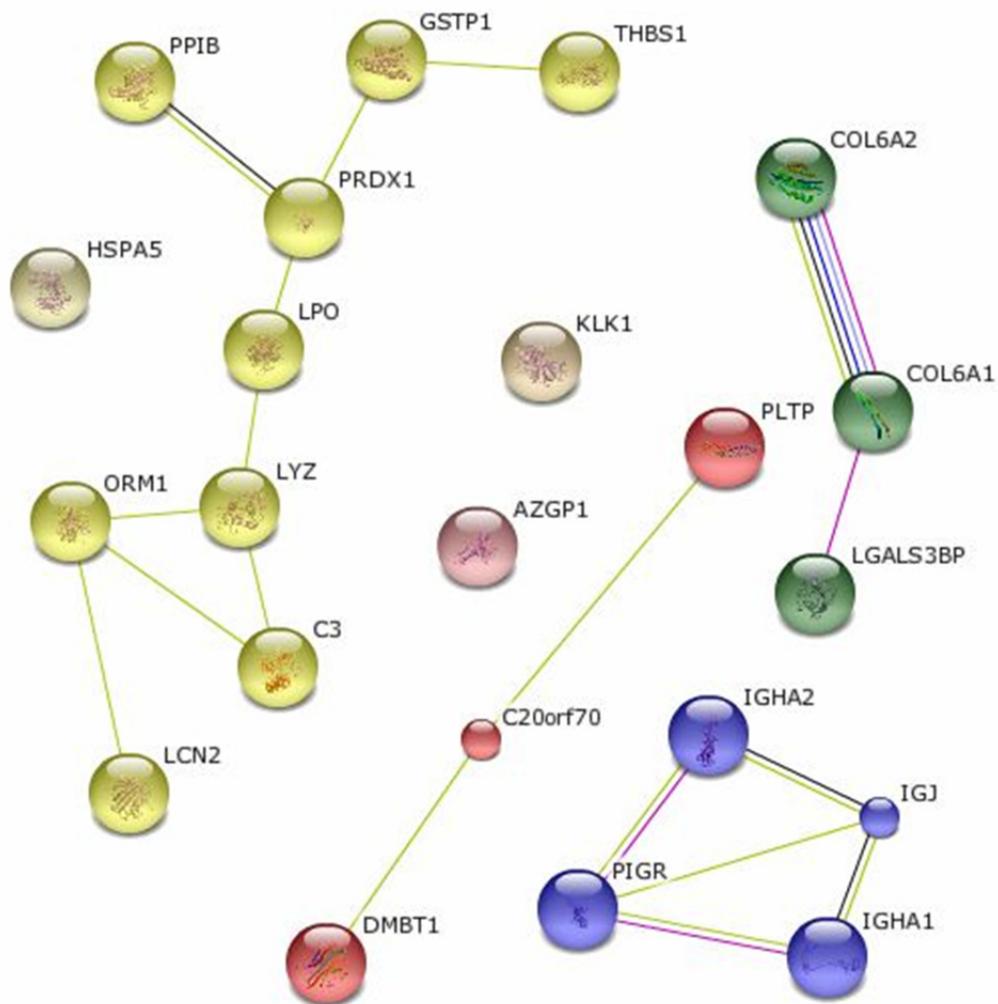


Figura 4. 23 – Rede de interações moleculares em que participam as proteínas alteradas na resposta imune nas cáries dentárias. Rede calculada com a ferramenta STRING.

Nesta rede de interações é possível identificar conjuntos de proteínas provavelmente envolvidas numa mesma via de sinalização. Por exemplo, no grupo identificado a amarelo, estão proteínas relacionadas com a infecção por *Staphylococcus aureus*, com a secreção salivar e com a cascata do complemento e da coagulação sanguínea. Esta abordagem permite-nos, também, detectar possíveis marcadores moleculares da doença ou, mesmo, potenciais alvos terapêuticos.

4.5. A SALIVA COMO FLUIDO DE DIAGNÓSTICO

Nos últimos anos a saliva tem ganho relevo como fluido com um enorme potencial no diagnóstico não só de doenças orais, como também de várias doenças sistêmicas. Para compreender o modo como as proteínas salivares reflectem o estado de saúde humana e, conseqüentemente, o seu valor como fluido de diagnóstico, estas proteínas foram classificadas de acordo com o seu envolvimento em doenças e agrupadas em classes de doenças através da utilização da ferramenta DAVID e comparadas com as proteínas plasmáticas (Figura 4.24).

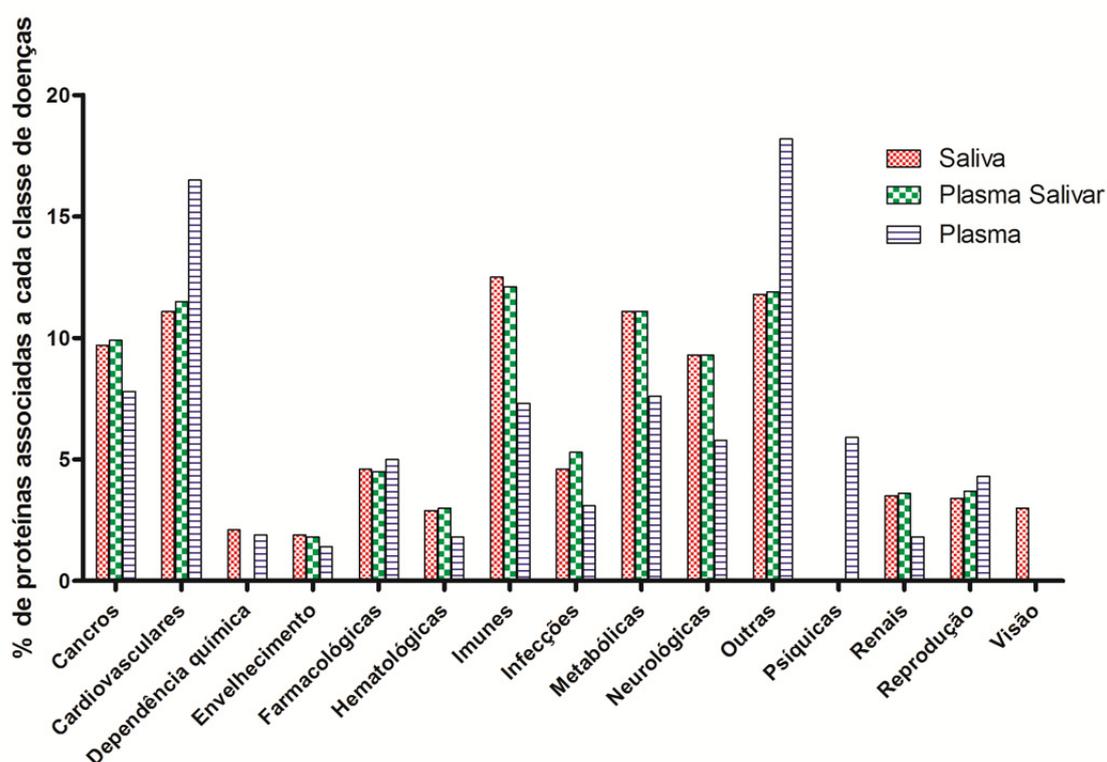


Figura 4. 24 - Associação das proteínas humanas da saliva, do plasma salivar e do plasma sanguíneo a classes de doenças. Análise feita com recurso à ferramenta de anotação funcional do centro de recursos bioinformáticos DAVID. O plasma salivar corresponde às proteínas plasmáticas identificadas na saliva.

Pode-se observar que as proteínas salivares estão envolvidas em praticamente as mesmas classes de doenças que as proteínas plasmáticas. Além disso, a percentagem de proteínas associada a cada uma das classes de doenças é muito semelhante na saliva e no plasma salivar. Estas observações sugerem que marcadores moleculares para todas estas classes de doenças

podem ser encontrados na saliva e, portanto, realça a possibilidade da utilização da saliva no diagnóstico de doenças orais e sistémicas, suportando a ideia de que a saliva pode substituir o sangue em vários testes de diagnóstico, sendo um fluido obtido de forma não invasiva, com poucos custos e de fácil utilização. Apesar das semelhanças evidentes, existem algumas diferenças que importa referir. Como seria de esperar, existe uma maior percentagem de proteínas envolvidas em doenças cardiovasculares no plasma (17%) do que na saliva (11%). Por outro lado, pode-se observar uma maior percentagem de proteínas associadas a doenças do sistema imunológico na saliva (13%) do que no plasma (7%). Isto poderá ser explicado pelo facto da cavidade oral ser um local sujeito a constantes desafios microbiológicos para o hospedeiro. Desafios, estes, que têm de ser controlados de forma efectiva. Este local anatómico é colonizado permanentemente por microrganismos devido ao seu contacto directo com o exterior e ao facto das barreiras antimicrobianas da mucosa serem menos eficientes do que as da pele. Neste contexto, as defesas antimicrobianas moleculares (na maioria proteínas e péptidos) assumem um papel de relevo. Menos evidente é a razão da existência de uma maior percentagem de proteínas associadas a doenças neurológicas na saliva (9,3%) em relação ao plasma (5,8%). De facto, encontramos na saliva uma grande quantidade de proteínas relacionadas com a doença de Alzheimer, doença de Parkinson e doença de Huntington. Isto poderá indicar um grande potencial da saliva enquanto fonte de marcadores moleculares, importantes para estabelecer estratégias de diagnóstico não invasivas, para estas doenças. A nossa análise também revelou que a saliva poderá ser bastante útil na detecção de marcadores moleculares para doenças oftálmicas, uma vez que identificámos proteínas envolvidas neste tipo de doenças, como a ornitina aminotransferase (P04181), na saliva e não no plasma. Esta proteína, quando alterada, é responsável pela hiperornitinemia com atrofia girata da coróide e da retina (MIM:[258870](#)).

4.6. CASOS DE ESTUDO

Como referido na secção 4.2.2, durante a concepção e desenvolvimento do OralCard foram, no âmbito deste trabalho, idealizados e orientados 3 casos de estudo, que tiveram como propósito principal fazer uma análise de requisitos da ferramenta, bem como avaliar a sua funcionalidade quando aplicada à análise de problemas concretos da cavidade oral. Paralelamente, os trabalhos realizados no âmbito destes casos de estudo permitiram mostrar a importância biológica da informação disponibilizada pelo OralCard, a aplicabilidade deste tipo de abordagens no esclarecimento de aspectos moleculares da biologia oral na saúde e na doença e desenvolver metodologias de análise sistemática de dados de proteómica que nos aproximem dos fisiomas. Os trabalhos que serviram de caso de estudo foram realizados por alunos do curso de Mestrado Integrado em Medicina Dentária do Departamento de Ciências da Saúde da Universidade Católica Portuguesa e os resultados obtidos deram origem a três Dissertações de Mestrado^[225-227]. Cada um dos casos de estudo pretendeu responder a problemas distintos, seguindo estratégias de análise diferentes.

O trabalho analisado como primeiro caso de estudo foi realizado na fase de concepção do OralCard (trabalho realizado por Morais^[225] entre 2009 e 2010, dedicado a esclarecer a reabsorção óssea na periodontite) e, como tal, teve um papel preponderante na análise de requisitos da ferramenta. Ao autor do trabalho foi colocado o desafio de encontrar as bases moleculares que explicassem a reabsorção óssea, situação clínica característica da periodontite. Este tipo de abordagem permitiu identificar o tipo de informação que deveria ser armazenada no OralOme e algumas das necessidades funcionais a implementar.

Os trabalhos analisados no segundo e terceiro casos de estudo, realizados por Dias^[226] (dedicado a esclarecer os mecanismos moleculares da evolução da gengivite para periodontite e as diferenças moleculares entre periodontite crónica e agressiva) e por Amaral^[227] (centrado em encontrar razões moleculares para o comprometimento da cicatrização em pacientes portadores de diabetes Tipo II), foram executados numa fase mais avançada

do desenvolvimento do OralCard (2010 e 2011) e, como tal, a sua contribuição para o desenvolvimento desta ferramenta fez-se sentir principalmente ao nível da identificação de novas funcionalidades a implementar, de modo a otimizar a sua capacidade interpretativa.

Como referido anteriormente, as metodologias seguidas em cada um dos casos de estudo foram também diferentes. No primeiro caso, partiu-se de um problema bem definido (reabsorção óssea) e procurou-se esclarecer os mecanismos moleculares que o caracterizam. No segundo caso, partiu-se de uma lista de proteínas presentes nesta patologia, mas em quantidades alteradas, detectadas por proteómica, investigando os mecanismos moleculares em que essas proteínas alteradas participam. Com estas duas abordagens distintas da mesma patologia (doença periodontal), foi possível testar diferentes funcionalidades do OralCard e, assim, identificar requisitos diferentes.

O trabalho analisado como terceiro caso de estudo, ao contrário dos dois primeiros, incidiu sobre uma doença sistémica, a Diabetes mellitus do tipo 2 (DMT2), que leva a complicações na saúde oral, principalmente pela dificuldade acrescida de cicatrização. Este caso de estudo foi desenhado de modo a fazer a análise de requisitos do OralCard para interpretar dados relativos a doenças sistémicas.

Apresentar-se-ão de seguida os aspectos mais relevantes dos trabalhos analisados aqui como casos de estudo e a forma como a sua execução, por futuros médicos dentistas e potenciais investigadores da cavidade oral, permitiu identificar requisitos estruturais e funcionais do OralCard para o esclarecimento da biologia oral.

4.6.1. Caso 1: Mecanismos moleculares envolvidos na remodelação óssea – implicações na periodontite

Um dos maiores problemas associados à periodontite é a perda de dentes resultante da reabsorção óssea. Para desenvolver metodologias de profilaxia e abordagens terapêuticas mais eficientes, é necessário conhecer os aspectos moleculares que se encontram comprometidos. Assim, para o autor deste trabalho, os principais objectivos foram a determinação de interacções proteína-proteína, utilizando ferramentas bioinformáticas, de modo a esclarecer as redes moleculares envolvidas na doença periodontal e sugerir novos mecanismos moleculares envolvidos na reabsorção óssea e degradação da matriz extracelular, durante o desenvolvimento da periodontite.

As ferramentas bioinformáticas, como o OralCard, poderão ter um papel importante no sentido de oferecer estratégias que possam contribuir para a resolução de problemas, permitindo compilar, analisar e relacionar uma grande diversidade de dados, tornando essa informação mais inteligível (sob a forma de mapas de sinalização, por exemplo).

A primeira tarefa deste trabalho, realizado por Moraes em 2010, consistiu em procurar mapas de sinalização dedicados aos processos moleculares envolvidos na periodontite, que abordassem a reabsorção óssea. Esta pesquisa foi realizada em diversas bases de dados, nomeadamente, Kegg, Reactome, PID, BioCarta, Invitrogen (iPath), Applied Biosystems (GeneAssist Pathway Atlas), Cell Signaling Technology e a Sigma-Aldrich (Cell Signaling Pathways)). Esta tarefa mostrou-se morosa e dependente dos critérios de pesquisa utilizados em cada uma das bases de dados. Este problema pode ser resolvido pela integração, num único recurso, de todos estes dados. Ao realizar esta tarefa, foi possível identificar a necessidade de incluir no OralCard informação relativa a mapas de sinalização. Assim, implementou-se no OralCard a capacidade de pesquisar e apresentar ao utilizador todos os mapas de sinalização associados a uma doença. Podemos ver na figura 4.25 a ferramenta de pesquisa de doenças do OralCard (pesquisa por “*periodontitis*”) utilizada para encontrar mapas de sinalização da remodelação óssea associada à periodontite (separador “pathways”).

Foi possível identificar 33 mapas de sinalização em que intervêm proteínas do oraloma envolvidas na periodontite. Contudo, nenhum deles descrevia os mecanismos moleculares da doença de um modo geral nem da reabsorção óssea, em particular. Isto obrigou a uma pesquisa na bibliografia sobre estes mapas de sinalização. Esta pesquisa permitiu identificar um mapa de sinalização com os principais intervenientes moleculares neste processo, publicado por Suzuki *et al.* 2009 [228].



KEGG	Image	Link
hsa04640	View	KEGG Link
hsa04672	View	KEGG Link
hsa04810	View	KEGG Link
hsa04970	View	KEGG Link
hsa04973	View	KEGG Link
hsa04978	View	KEGG Link
hsa05020	View	KEGG Link
hsa05131	View	KEGG Link
hsa05133	View	KEGG Link
hsa05140	View	KEGG Link

Figura 4. 25 - Resultado da pesquisa no OralCard de mapas de sinalização ("pathways") em que intervêm as proteínas do oraloma envolvidas na periodontite.

Morais, em 2010, constatou que a molécula que desempenha um papel central na reabsorção óssea é o RANKL (Ligando do receptor activador do factor nuclear KB - TNFSF11). Sabe-se que esta proteína é um membro da família das citocinas que funciona como um ligando para a osteoprotegerina, levando à diferenciação e activação dos osteoclastos. No entanto, não se conhece a rede de moléculas que, interagindo com este ligando, constituem a via de sinalização que fica comprometida, desencadeando a reabsorção óssea na periodontite. Com o objectivo de identificar os "parceiros" moleculares do RANKL e, conseqüentemente, contribuir para o esclarecimento dos mapas de sinalização da periodontite, o autor traçou a rede de interacções moleculares centrada nesta molécula, utilizando a ferramenta STRING. Com a realização desta tarefa, identificou-se a necessidade de incluir no OralCard a capacidade de gerar redes de interacção molecular em torno de uma molécula. Esta funcionalidade foi posteriormente adicionada ao OralCard (Figura 4.26).

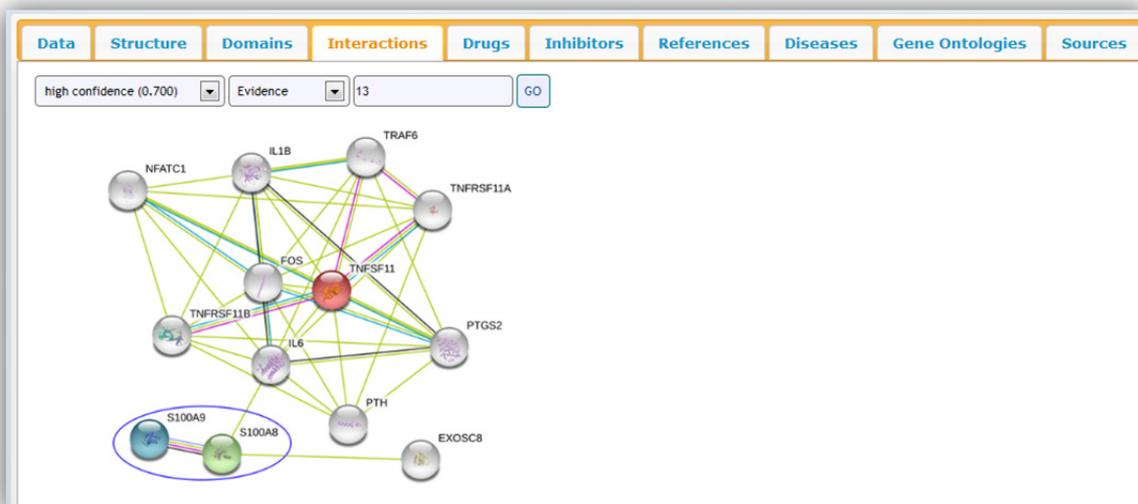


Figura 4. 26 – Janela do OralCard com a rede de interações para a proteína TNFSF11 (RANKL). Rodeado a azul encontra-se o dímero S100A8/S100A9 que constitui a Calprotectina.

Esta rede permitiu identificar alguns dos intervenientes moleculares na reabsorção óssea já conhecidos e a sua análise permitiu sugerir um novo mecanismo, mediado por macrófagos, para a reabsorção óssea na periodontite.

Outro dos objectivos do trabalho realizado por Morais foi o de contribuir com mais informação de modo a completar os modelos moleculares existentes da reabsorção óssea. A estratégia seguida foi procurar mapas de sinalização, onde participam as moléculas identificadas pelo desenho das redes moleculares descritas acima, transpondo essa informação para o caso em estudo. Esta pesquisa foi realizada, uma vez mais, em diversas bases de dados específicas. Foi possível identificar um mapa de sinalização do RANK na osteoclastogénese^[229] mas relativo à artrite reumatóide. Uma vez que esta informação ainda não existia para o caso específico da periodontite, esta análise transversal permitiu adquirir e completar o conhecimento destes processos nesta doença oral, carecendo, no entanto, de uma análise pormenorizada de cada um dos intervenientes moleculares nestas vias de sinalização. Também recorrendo a uma análise transversal de mapas de sinalização, Morais sugeriu que a Vitamina C poderá reduzir a evolução da periodontite através da diminuição da osteoclastogénese e poderá ser

estudada como possível coadjuvante da terapia da periodontite. Uma vez mais, ficou evidenciada a necessidade do OralCard permitir a pesquisa de mapas de sinalização e, neste caso específico, de transpor essa informação entre diferentes contextos fisiológicos/patológicos.

Esta funcionalidade foi posteriormente implementada no OralCard, embora limitada à importação dos dados de vias de sinalização da base de dados KEGG. De modo a tornar esta funcionalidade do OralCard mais eficiente, de futuro, serão incluídas outras fontes de mapas de sinalização, nomeadamente o Reactome, PID, BioCarta, Invitrogen (iPath), Applied Biosystems (Ambion, GeneAssist Pathway Atlas), Cell Signaling Technology e a Sigma-Aldrich (Cell Signaling Pathways).

4.6.2. Caso 2: Mecanismos moleculares envolvidos no desenvolvimento da periodontite

O trabalho analisado neste caso de estudo, foi realizado por Dias em 2011^[226] e, tal como o primeiro, incide sobre a doença periodontal. No entanto, pretende responder a questões diferentes, utilizando abordagens distintas, como referido anteriormente. Neste caso, pretendeu-se comprovar a usabilidade destas ferramentas bioinformáticas para o estudo de patologias orais, a partir de dados de proteómica, de forma a identificar os mecanismos moleculares alterados no decorrer da gengivite e periodontite, de que forma a primeira evolui para um quadro de destruição óssea e as diferenças moleculares entre periodontite crónica e agressiva. Pretendeu-se, também, identificar novos candidatos a biomarcadores e possíveis alvos terapêuticos da doença periodontal, provando o potencial das abordagens *in silico* para este tipo de estudos.

Esta patologia compreende um conjunto de condições patológicas que afectam as várias estruturas do periodonto^[230], sendo as mais prevalentes e mais estudadas a gengivite induzida por placa, a periodontite crónica e a periodontite agressiva. Um dos principais problemas relacionados com a

doença periodontal é a dificuldade em realizar um diagnóstico precoce e inequívoco do tipo de doença periodontal estabelecido. Esta dificuldade resulta tanto da ambivalência observada na classificação dos diferentes estádios da doença como da ambiguidade dos critérios utilizados para proceder ao diagnóstico, uma vez que se tratam de critérios eminentemente baseados em observações. Este ponto dá relevo à necessidade de encontrar marcadores moleculares que auxiliem no diagnóstico.

A primeira tarefa realizada por Dias (2011) consistiu no levantamento de todas as proteínas alteradas nestas condições patológicas, identificadas até à data. Para isso o autor recorreu à bibliografia existente. Esta tarefa permitiu identificar a necessidade de incluir no OralCard a funcionalidade de pesquisa por doenças, permitindo obter a lista de proteínas envolvidas numa doença específica (Figura 4.27).



Figura 4. 27 - Janela do OralCard apresentando o resultado da pesquisa de doenças utilizando o termo "periodontitis"

A segunda tarefa teve como objectivo ver em que processos biológicos se repercutiam as alterações nas proteínas expressas em cada uma das condições patológicas. Esta análise foi realizada pela ferramenta de classificação do PANTHER. A lista de proteínas alteradas em cada uma das patologias foi submetida ao sistema de análise de conjuntos de proteínas do PANTHER, utilizando os identificadores UniprotKB AC (ver Figura 3.5). A partir do resultado da classificação, foi traçado o gráfico dos processos biológicos correspondentes a cada uma das patologias (Figura 4.28).

Posteriormente, fez-se o levantamento manual da percentagem de proteínas envolvidas em cada um dos processos biológicos. Estes procedimentos foram repetidos para todas as condições patológicas analisadas (gingivite, periodontite crónica e periodontite agressiva) e para todas as proteínas presentes no OralCard (lista de referência). Com os dados obtidos, construiu-se um gráfico que permitiu comparar a distribuição de processos biológicos para cada uma das doenças. (Figura 4.29).

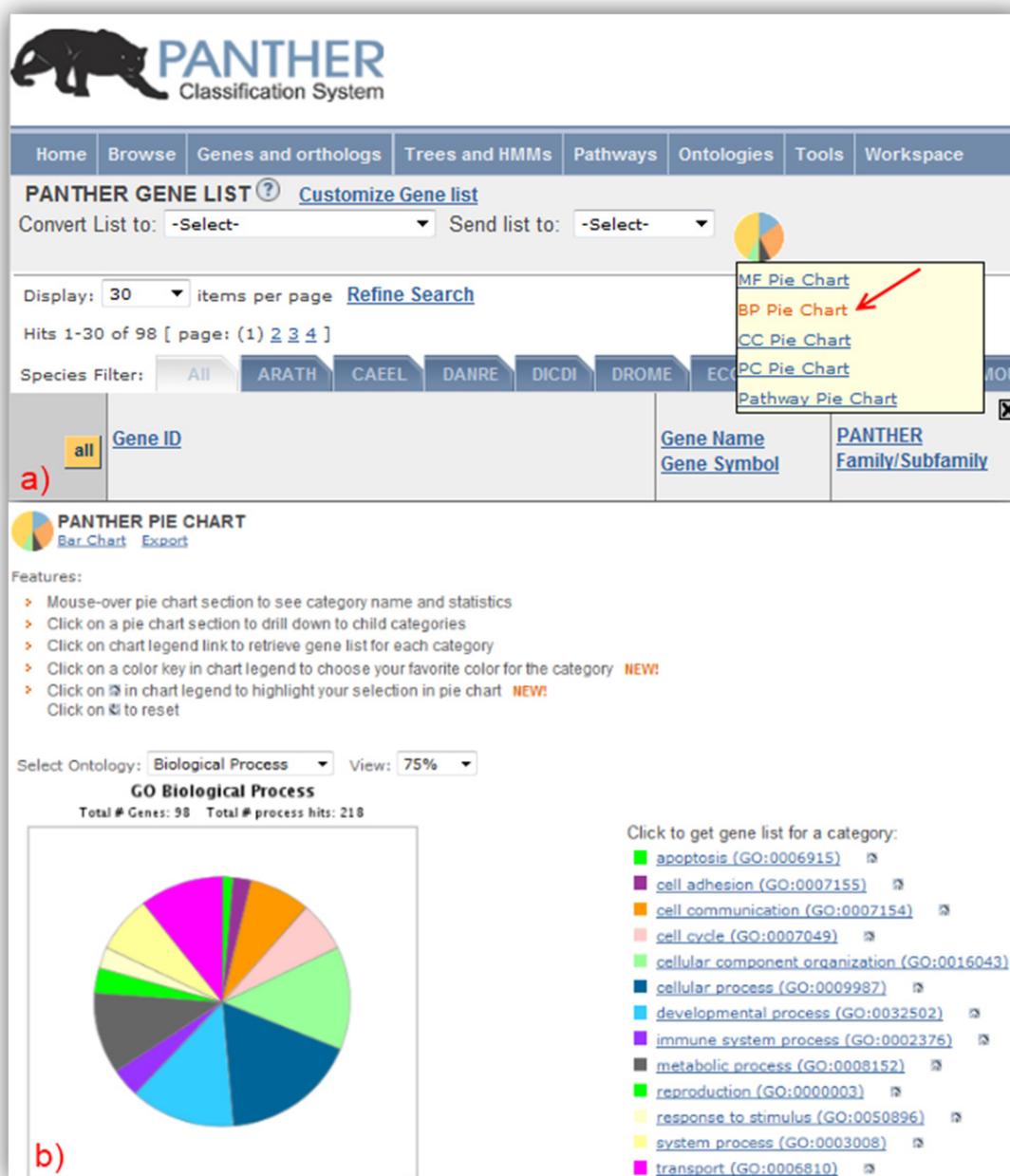


Figura 4. 28 - Metodologia utilizada para a obtenção da lista de processos biológicos em que estão envolvidas as proteínas alteradas na gingivite, com a ferramenta PANTHER. a) escolha do tipo de ontologia a analisar; b) geração do gráfico relativo aos processos biológicos.

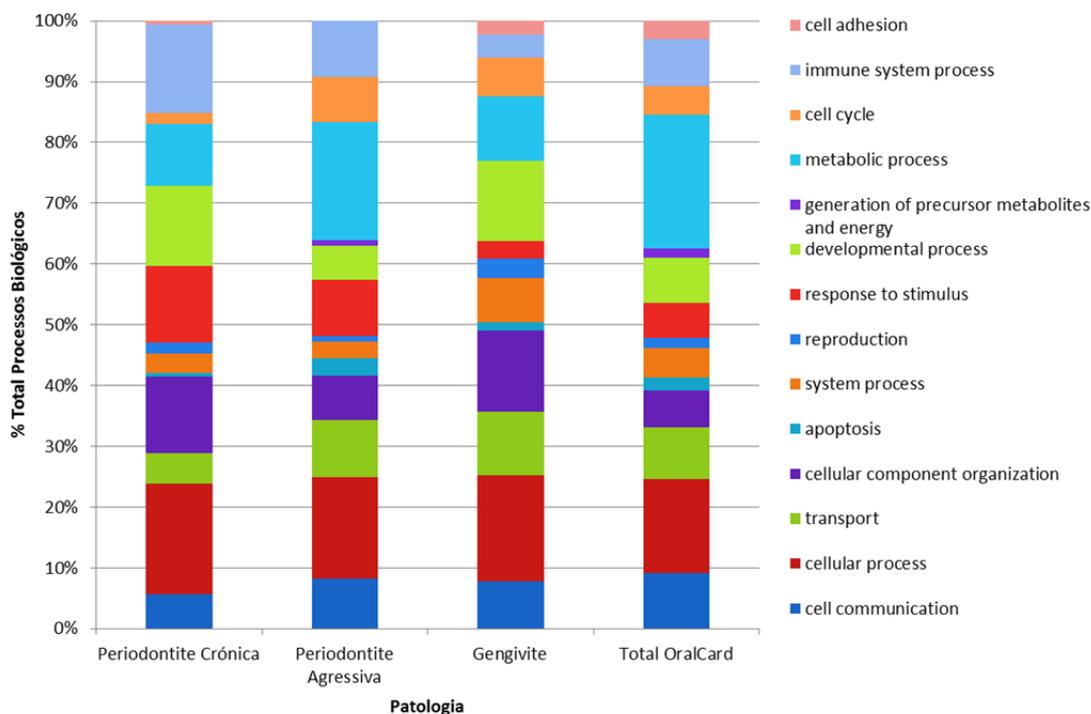


Figura 4. 29 - Processos biológicos em que as proteínas alteradas da Periodontite Agressiva, Periodontite Crônica e Gingivite estão envolvidas. Utilizou-se como referência o total de proteínas orais depositadas no OralCard. Para cada patologia é apresentada a percentagem de proteínas alteradas em cada um dos processos biológicos, relativamente ao total de proteínas alteradas nessa patologia (adaptado de Dias, 2011^[226]).

Este processo, realizado em diversas etapas e utilizando diferentes ferramentas, é extremamente moroso e trabalhoso, tornando-o mais sujeito a erro. Pretende-se que, de futuro, o OralCard permita gerar este tipo de gráficos, de forma mais simples e automática.

Uma vez que as três patologias em estudo são de origem infecciosa e que, entre os processos biológicos mais alterados se encontram os associados ao sistema imunológico, o autor optou por estudar as proteínas alteradas que estavam envolvidas nestes processos.

Para comprovar que existem diferentes vias de sinalização alteradas, responsáveis pelas diferenças observadas a nível da resposta imune, para cada uma destas patologias, Dias, realizou uma catalogação das vias de sinalização em que estão envolvidas cada uma das proteínas alteradas neste processo biológico. Esta tarefa foi realizada, com recurso à ferramenta de classificação do PANTHER. No entanto, este sistema de classificação em vias

de sinalização é limitado porque uma grande percentagem de proteínas não se encontra associada a qualquer via de sinalização. Desta forma, foi implementado no OralCard a capacidade de fazer essa análise, através da sua ferramenta de pesquisa de proteínas (Figura 4.30), fazendo a associação a vias de sinalização do KEGG que é bastante mais completa, neste aspecto particular, do que o PANTHER.

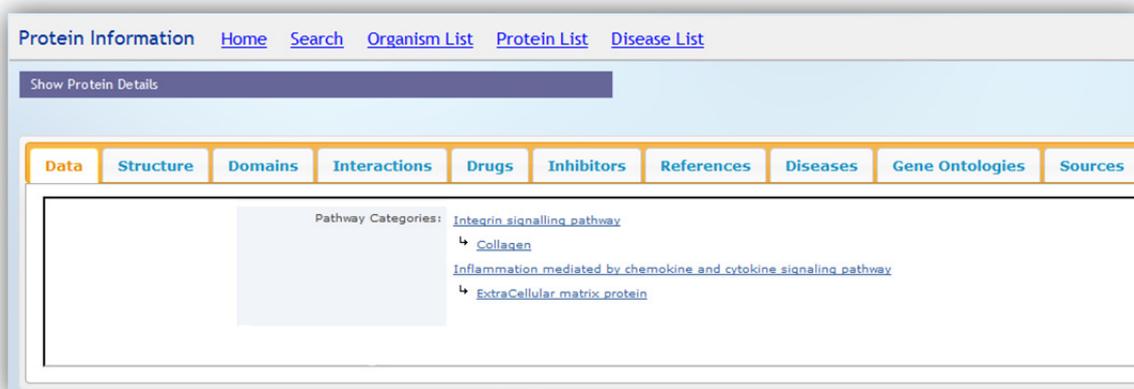


Figura 4. 30 - Página do OralCard com a identificação das vias de sinalização correspondentes a uma das proteínas (A8TX70) alteradas na gengivite e envolvidas na resposta imune.

A análise das vias de sinalização alteradas nestas patologias foi feita à luz da informação disponível na bibliografia relativamente às vias de sinalização em si e, em alguns casos, à informação específica relativa a proteínas alteradas nessas vias de sinalização. Este processo implica a pesquisa e leitura de uma grande quantidade de informação uma vez que esta, se encontra dispersa por diferentes bases de dados. Ao ser implementada no OralCard esta capacidade de compilação e integração de informação específica relativa às proteínas da cavidade oral, minimiza-se a dispersão de informação e facilita-se a interpretação dessa informação.

Depois de estudar as alterações a nível molecular observadas em cada uma das doenças, Dias procurou moléculas comuns entre elas, que ajudassem a perceber o processo contínuo de evolução de gengivite para periodontite e as razões porque algumas pessoas são mais propensas a evoluir de uma gengivite para uma periodontite. Para isso, traçou uma rede de interacções moleculares de todas as moléculas alteradas, envolvidas na resposta imune e associou essas proteínas a cada uma das patologias estudadas (Figura 4.31). Para esta análise utilizou a ferramenta STRING. Esta tarefa permitiu identificar

a necessidade de implementar no OralCard a capacidade de gerar redes de interação molecular entre conjuntos de proteínas submetidas.

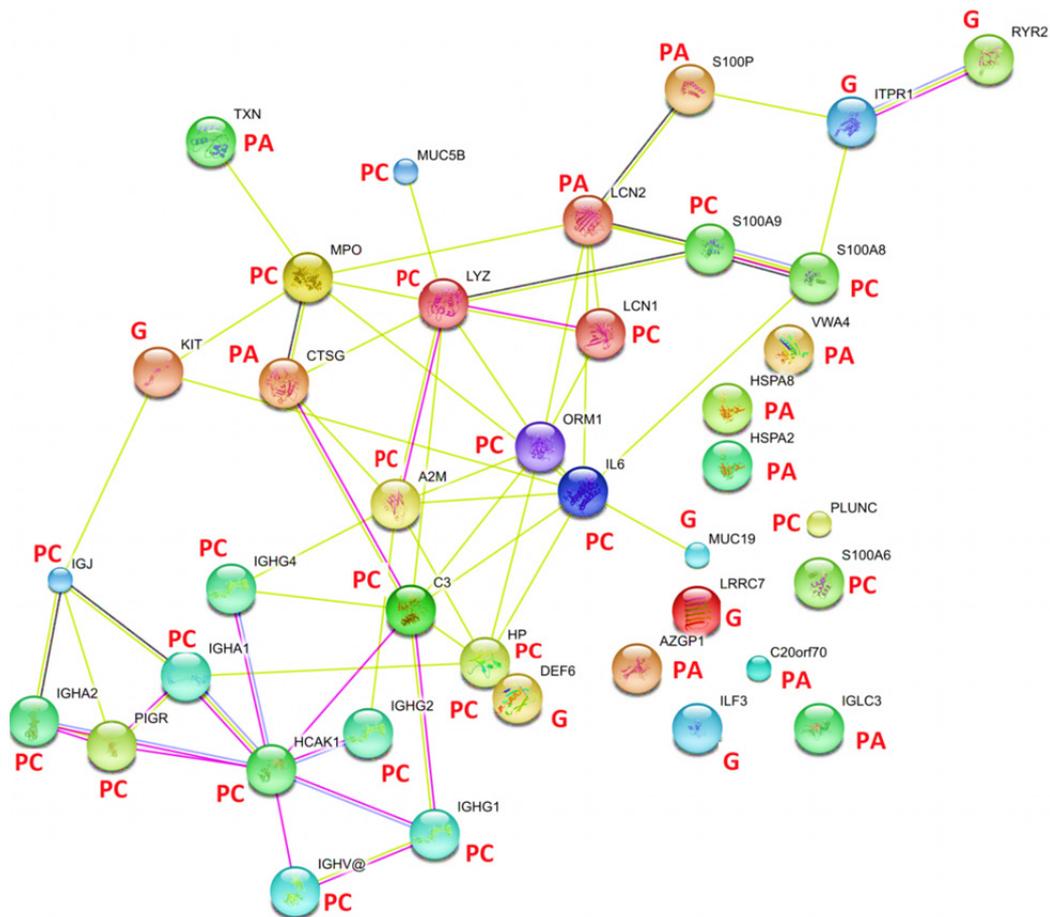


Figura 4. 31 - Rede de interações moleculares, das proteínas cuja expressão está alterada e que de alguma forma, estão envolvidas na resposta imune na Gengivite (G), Periodontite Crônica (PC) e Periodontite Agressiva (PA). Rede gerada com a ferramenta STRING (Adaptado de Dias, 2011^[226]).

4.6.3. Caso 3: Mecanismos moleculares da diabetes Tipo 2 com implicações na saúde oral

O trabalho abordado neste caso de estudo foi realizado por Amaral em 2011^[227] e incidiu sobre a diabetes mellitus do tipo 2 (DMT2). Este caso de estudo foi desenhado para testar a funcionalidade do OralCard na análise de dados de proteómica da cavidade oral relativos a uma doença sistémica, ao contrário dois casos de estudo anteriores que incidiam em doenças orais. O autor do trabalho teve como principais objectivos avaliar as implicações funcionais, na saúde oral, das alterações no proteoma salivar detectadas em pacientes com DMT2 e sugerir causas moleculares responsáveis por alterações das vias de sinalização identificadas como comprometidas nesta doença.

A Diabetes mellitus (DM) engloba um grupo de distúrbios metabólicos comuns que partilham o fenótipo de hiperglicemia. Aproximadamente 85-90% dos indivíduos com DM pertencem à classificação tipo 2 (DMT2)^[231]. O aumento da incidência da Diabetes mellitus tipo 2, torna premente a investigação biomédica dirigida à compreensão da patogénese e descoberta de biomarcadores para o diagnóstico da doença^[232]. Para além dos efeitos sistémicos, a DMT2 tem implicações na saúde oral reflectindo-se, principalmente, no aumento da dificuldade de cicatrização, o que limita a actuação do médico dentista. Por ser uma patologia sistémica de etiologia multifactorial prevalente e com implicações relevantes na cavidade oral, a DMT2 é um bom modelo de estudo para a aplicação do OralCard.

A primeira tarefa realizada por Amaral consistiu na identificação das proteínas que se encontram alteradas na saliva do paciente diabético. Para isso, o autor pesquisou na bibliografia informação sobre o proteoma salivar da DMT2. Esta análise permitiu identificar 60 proteínas salivares cuja quantidade se encontra alterada no paciente diabético em relação a indivíduos saudáveis. Estas proteínas foram adicionadas ao OralCard o que permite que, actualmente, a tarefa de encontrar proteínas alteradas na diabetes possa ser

realizada de forma rápida e directa através do sistema de pesquisa por doença do OralCard (Figura 4.32).

The screenshot shows the 'Disease Information' page for 'DIABETES MELLITUS, NONINSULIN-DEPENDENT; NIDDM'. Below the disease details, there is a 'Proteins' section with a table of related proteins. The table has columns for Uniprot ID, Name, Organism, and Action.

Uniprot	Name	Organism	Action
A2R7Y6	Inter-alpha (Globulin) inhibitor H2	Homo sapiens	View
O00300	Tumor necrosis factor receptor superfamily member 11B	Homo sapiens	View
O15511	Actin-related protein 2/3 complex subunit 5	Homo sapiens	View
O43240	Kallikrein-10	Homo sapiens	View
O43316	Paired box protein Pax-4	Homo sapiens	View
O60218	Aldo-keto reductase family 1 member B10	Homo sapiens	View
O60235	Transmembrane protease serine 11D	Homo sapiens	View
O95274	Ly6/PLAUR domain-containing protein 3	Homo sapiens	View
P00558	Phosphoglycerate kinase 1	Homo sapiens	View
P00915	Carbonic anhydrase 1	Homo sapiens	View

Figura 4. 32 - Janela do OralCard correspondente à informação sobre a doença Diabetes Mellitus do Tipo 2. É visível a lista das proteínas relacionadas com esta doença, identificadas até ao momento na cavidade oral.

Para cada uma das proteínas foi verificada a alteração da sua quantidade em relação a indivíduos saudáveis. Esta tarefa foi realizada manualmente através da análise dos dados originais publicados na bibliografia consultada. Isto permitiu identificar a necessidade de incluir no OralCard informação relativa à expressão das proteínas alteradas em patologias. Desta forma, actualmente, podemos consultar esta informação directamente no OralCard, facilitando a interpretação dos resultados obtidos em trabalhos deste género (Figura 4.33).

The screenshot shows the 'Protein Information' page for 'Whole Saliva'. The table below shows the condition and disease associated with the protein, along with regulation and evidence.

Name	Condition	Disease	Regulation	Evidence	PubMed Id
Whole Saliva	Disease	DIABETES MELLITUS, NONINSULIN-DEPENDENT; NIDDM	Up	Citation	19118452

Figura 4. 33 - Janela do OralCard com a indicação da variação na quantidade das proteínas orais relacionadas com a DMT2 relativamente a indivíduos saudáveis.

No entanto, esta análise tem de ser feita para cada proteína de forma individual. No futuro, será implementada no OralCard uma funcionalidade que

permitirá realizar esta análise a conjuntos de proteínas de forma simultânea, diminuindo consideravelmente o tempo necessário para realizar esta operação.

A tarefa seguinte do trabalho de Amaral em 2011 foi desenhada de modo a identificar as vias de sinalização alteradas na DMT2. Esta tarefa foi realizada com recurso à ferramenta de classificação do PANTHER. A lista de proteínas alteradas na DMT2 foi submetida ao sistema de análise de conjuntos de proteínas da ferramenta de classificação do PANTHER, utilizando os identificadores UniprotKB AC (ver Figura 3.5). O procedimento seguido foi semelhante ao apresentado no caso de estudo 2 (Figura 4.28) mas fazendo a classificação das proteínas por vias de sinalização (Figura 4.34).

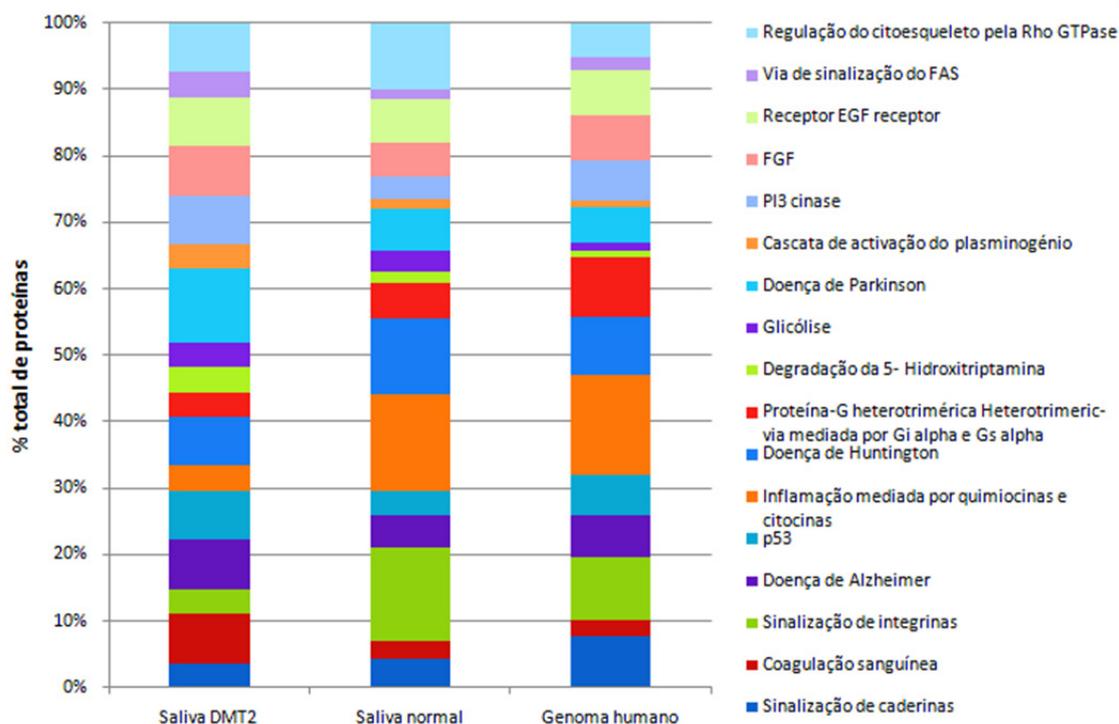


Figura 4. 34 - Representação gráfica da percentagem de proteínas da saliva alteradas na DMT2 em cada via de sinalização, em relação ao que seria de esperar no “estado de saúde” representado pelas proteínas do OralCard na ausência de patologia sistémica (Saliva normal) e do total de proteínas humanas (Genoma humano) (adaptado de Amaral, 2011^[227]).

Tal como aconteceu no caso de estudo 2, esta tarefa permitiu realçar a necessidade de implementar no OralCard a capacidade de analisar conjuntos de proteínas e de gerar gráficos capazes de ilustrar os resultados obtidos no decorrer dessa análise.

De entre as vias de sinalização com maior percentagem de proteínas alteradas na DMT2, destacam-se, entre outras, a via da coagulação sanguínea e a via de activação do plasminogénio. Uma vez que estas vias estão directamente relacionadas com um dos problemas dos diabéticos com mais impacto na saúde oral, a cicatrização comprometida, Amaral (2011) procedeu a uma análise funcional das proteínas que nelas participam, utilizando a informação depositada na base de dados UniProtKB. Esta tarefa conduziu à implementação da capacidade de importar dados funcionais das proteínas orais directamente para o OralCard, facilitando a integração da informação e, consequentemente, a interpretação dos resultados gerados. Esta análise permitiu identificar duas proteínas, a alfa-2-macroglobulina (A2M) e a alfa-1-antitripsina (SERPINA1), que são inibidores de proteinases serínicas, enzimas que desempenham funções fundamentais, na cascata de coagulação sanguínea.

Com o intuito de analisar se as interacções proteína-proteína estabelecidas pela A2M e SERPINA1 são realizadas por proteínas que também estão presentes na saliva o autor do trabalho traçou a rede molecular em que estão envolvidas, recorrendo à ferramenta STRING. Esta funcionalidade foi adicionada ao OralCard (Figura 4.35).

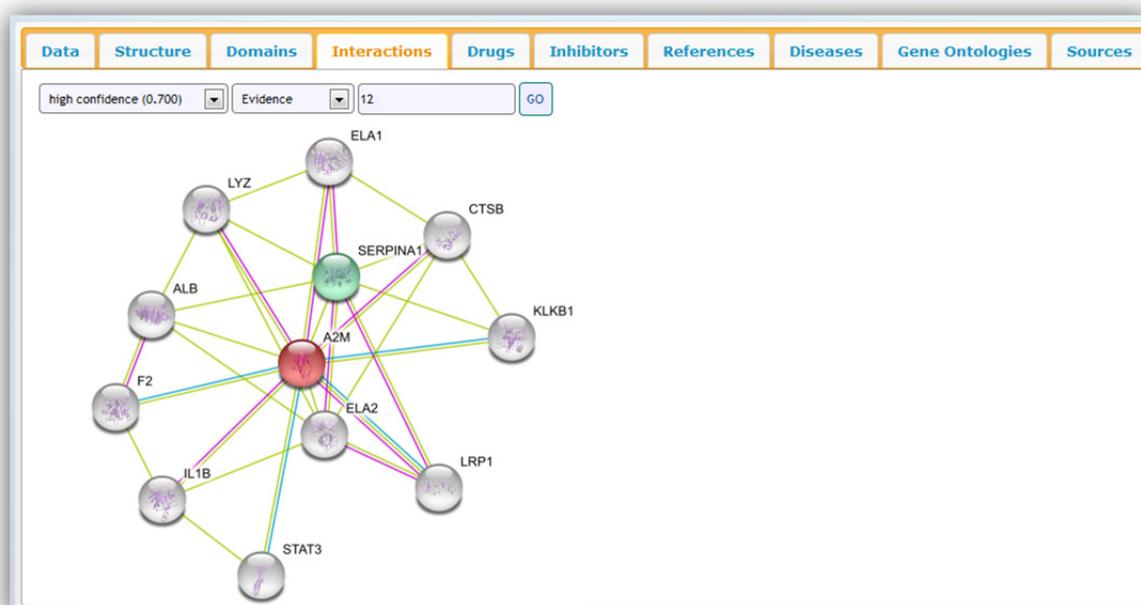


Figura 4. 35 - Representação esquemática da rede de interacções proteína-proteína em que participam os inibidores A2M e SERPINA1 com outras proteínas presentes na saliva. É mostrada a evidência de cada interacção, com um limite de 12 interacções e um grau de confiança alto (0.700). Rede molecular determinada com a ferramenta OralCard.

Amaral constatou que apesar dos níveis de A2M e SERPINA1 estarem aumentados na DMT2, a sua acção inibitória não se fazia sentir. Foi sugerido que o facto dos inibidores A2M e SERPINA1 parecerem não estar funcionais pode estar relacionado com o processo de glicosilação não enzimática que ocorre em condições de hiperglicemia, como acontece na DMT2, conduzindo a uma alteração da sua função. Para determinar a existência de possíveis locais de glicosilação não enzimática capazes de influenciar a função destas proteínas, o autor do trabalho estudou a estrutura tridimensional do complexo formado pela SERPINA1 ligada à protease serínica que ela inibe (tripsina). Esta estrutura foi obtida a partir da base de dados RCSB PDB (Protein Data Bank). No seguimento desta tarefa, foi adicionada ao OralCard a capacidade de apresentar as estruturas tridimensionais já determinadas experimentalmente para as proteínas orais, assim como a possibilidade de descarregar os ficheiros com as coordenadas dessas estruturas (ficheiros .pdb), de modo a serem tratados em programas informáticos, como o PyMOL^[156](Figura 4.36).

Id	Title	Date	Image	File	Widget
1ATU	UNCLEAVED ALPHA-1-ANTITRYPSIN	1997-05-11	View	Download	
1D5S	CRYSTAL STRUCTURE OF CLEAVED ANTI-TRYPsin POLYMER	1999-10-11	View	Download	
1EZK	<u>CRYSTAL STRUCTURE OF A SERPIN-PROTEASE COMPLEX</u>	2000-05-12	View	Download	
1HP7	A 2.1 ANGSTROM STRUCTURE OF AN UNCLEAVED ALPHA-1-ANTITRYPSIN SHOWS VARIABILITY OF THE REACTIVE CENTER AND OTHER LOOPS	2000-12-12	View	Download	
1I2Z	Interactions causing the kinetic trap in serpin protein folding	2002-09-19	View	Download	
1KCT	ALPHA1-ANTITRYPSIN	1996-08-06	View	Download	

Figura 4. 36 - Janela do OralCard com as estruturas tridimensionais determinadas experimentalmente para a SERPINA1. Foi escolhida para análise a estrutura da SERPINA1 ligada à tripsina (sublinhado a vermelho).

Os resultados obtidos provam o potencial do OralCard na análise de dados de proteómica da cavidade oral para estabelecer novos alvos para futuros estudos experimentais e identificação de potenciais biomarcadores salivares, visando a intervenção terapêutica, clínica ou de diagnóstico da DMT2 e de outras doenças sistémicas.

4.6.4. Resumo dos casos de estudo

A análise das metodologias seguidas e dos resultados obtidos nos trabalhos utilizados aqui como casos de estudo, permitiu fazer uma análise de requisitos e testar as funcionalidades actuais do OralCard, de modo a tornar a sua utilização mais simples, mais rápida e mais eficiente. Contribuiu, também, para o esclarecimento de alguns aspectos moleculares da biologia oral, mostrando o potencial do OralCard para analisar dados de proteómica da cavidade oral na saúde e em doenças orais e sistémicas.

Na tabela 4.1 estão resumidas as principais contribuições resultantes da análise dos trabalhos que serviram de casos de estudo no âmbito desta tese.

Tabela 4. 1 - Quadro resumo da análise realizada aos três casos de estudo apresentados.

Casos de estudo	Problema analisado	Contribuição para o conhecimento da biologia oral	Funcionalidades do OralCard utilizadas	Outras ferramentas utilizadas	Contribuição para o desenvolvimento do OralCard
Caso 1	Oral (periodontite)	<ul style="list-style-type: none"> • Envolvimento da calprotectina na reabsorção óssea • Envolvimento da via do NFkB na osteoclastogénese • Possível acção da Vitamina C na diminuição dos efeitos da periodontite 		<ul style="list-style-type: none"> • PubMed • Kegg • Reactome • PID • BioCarta • iPath • GeneAssist Pathway Atlas • Cell Signaling Pathways • STRING 	<ul style="list-style-type: none"> • Inclusão de informação de mapas de sinalização • Pesquisa de proteínas da cavidade oral • Pesquisa de vias de sinalização a partir de várias fontes • Capacidade de gerar redes moleculares em torno de uma proteína
Caso 2	Oral (doenças periodontais)	<ul style="list-style-type: none"> • Diminuição das proteínas envolvidas na resposta imune, na gengivite • Aumento das proteínas envolvidas na resposta imune, na periodontite • Existência de variabilidade genética associada ao KIT poderá explicar a diferente susceptibilidade a evolução de gengivite para periodontite 	<ul style="list-style-type: none"> • Pesquisa de vias de sinalização • Pesquisa de proteínas da cavidade oral 	<ul style="list-style-type: none"> • PubMed • PANTHER • KEGG • STRING 	<ul style="list-style-type: none"> • Capacidade de pesquisar por doenças • Capacidade de analisar conjuntos de proteínas • Capacidade de gerar redes moleculares em torno de um conjunto de proteínas • Capacidade de gerar gráficos, de forma automática, a partir dos dados analisados

<p>Caso 3</p>	<p>Sistémico (diabetes do tipo 2)</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Duas das principais vias de sinalização alteradas na DMT2 são a da coagulação e a da activação do plasminogénio • A glicosilação não enzimática dos inibidores da cascata de coagulação poderá ser responsável pelo aumento da coagulação na DMT2 • O aumento da quantidade de PAI-1 pode ser um dos factores que contribui para os problemas de cicatrização observados na DMT2 	<ul style="list-style-type: none"> • Pesquisa de doenças • Identificação do nível de expressão de proteínas • Pesquisa de proteínas • Obtenção de estruturas tridimensionais de proteínas 	<ul style="list-style-type: none"> • PANTHER • UniProtKB • STRING • RCSB PDB • PyMOL 	<ul style="list-style-type: none"> • Adição do proteoma da diabetes • Capacidade de consultar informação relativa a níveis de expressão das proteínas orais • Capacidade de consultar informação funcional das proteínas orais • Capacidade de analisar conjuntos de proteínas • Capacidade de gerar gráficos, de forma automática, a partir dos dados analisados • Capacidade de visualizar e descarregar estruturas tridimensionais das proteínas orais
----------------------	---------------------------------------	--	---	---	---

5. Conclusões

A enorme variabilidade na composição da saliva e dos factores que a afectam apresentam um enorme desafio à compreensão e interpretação da biologia oral. Apenas uma catalogação e caracterização exaustivas do proteoma salivar, recorrendo a poderosas ferramentas bioinformáticas, permitirá ultrapassar este problema. Até ao momento, todas as tentativas para esclarecer o proteoma oral limitam-se a estudos muito específicos, focados em situações particulares, ou em estudos mais genéricos nos quais a saliva é recolhida em condições bem definidas (ver tabela 3.1). A única tentativa, de que temos conhecimento, no sentido de fazer uma abordagem mais abrangente, limitou-se a compilar informação sobre as proteínas obtidas a partir das glândulas salivares principais^[70]. Porém, actualmente sabe-se que a saliva é muito mais do que o que é produzido pelas glândulas salivares, podendo apresentar proteínas das mucosas orais e, mesmo, provenientes do plasma sanguíneo. Este trabalho é, pois, o maior e mais exaustivo estudo sobre as proteínas da cavidade oral, levado a cabo até à data, cobrindo proteínas de todas estas origens tanto em situações fisiológicas como em situações patológicas orais e sistémicas. Apesar deste avanço no estudo da biologia oral, de modo a compreender os mecanismos moleculares que se desenrolam na cavidade oral é necessário investigar as proteínas produzidas pelo microbiota oral e de que forma estas interagem com as proteínas do hospedeiro. Este trabalho está a ser actualmente desenvolvido pelo nosso grupo de investigação.

A quantidade e tipo de proteínas obtidas de cada um dos sub-compartimentos orais determinam a contribuição de cada um para a fisiologia da cavidade oral. No decorrer deste trabalho, constatou-se que as proteínas da saliva, das mucosas orais e do plasma desempenham o mesmo tipo de funções. No entanto, cada sub-compartimento contribui com um conjunto diferente de proteínas para participarem em funções comuns.

Todos os sub-compartimentos apresentam proteínas exclusivas, o que pode indicar funções específicas associados a eles e, portanto, um papel particular na fisiologia da cavidade oral.

Verificou-se, também, que todas as fontes de saliva têm uma elevada percentagem de proteínas envolvidas no metabolismo. Isto levanta o interesse da saliva como objecto de estudos em metabolismo e na investigação dos mecanismos moleculares de doenças relacionadas com defeitos no metabolismo, como é o caso da diabetes.

Neste trabalho apresentou-se, ainda, uma metodologia para análise e interpretação de dados de proteómica de amostra de saliva de doadores com diversas doenças orais ou sistémicas. Esta abordagem permite clarificar os mecanismos moleculares da patogénese, bem como identificar possíveis marcadores moleculares ou, mesmo, potenciais alvos terapêuticos para estas doenças.

As proteínas salivares estão associadas com praticamente as mesmas classes de doenças em que intervêm as proteínas plasmáticas. Isto sugere que, na saliva, poderão ser encontrados marcadores moleculares para todas estas classes de doenças, realçando, deste modo, a possibilidade deste fluido substituir o sangue em muitos testes de diagnóstico das mais variadas doenças. Além disso, a presença, na saliva, de uma maior percentagem de proteínas relacionadas com doenças neurológicas, doenças do sistema imunológico e doenças oftálmicas, poderá indicar uma especial apetência da saliva para fornecer marcadores moleculares, essenciais para desenhar estratégias de diagnóstico não invasivas para este tipo de doenças.

Apesar dos avanços notáveis nas técnicas bioinformáticas utilizadas em biologia de sistemas, continuam a existir falhas no percurso entre os dados de proteómica e o esclarecimento dos mecanismos moleculares em que estão envolvidas as proteínas identificadas. Esta lacuna só pode ser ultrapassada através de trabalhos desta índole, que utilizem ferramentas bioinformáticas mas sempre com base na interpretação humana à luz da bibliografia existente.

Actualmente, a informação existente sobre a cavidade oral encontra-se dispersa por várias bases de dados focadas em sistemas mais genéricos. Para além de se encontrar dispersa, os dados nem sempre se encontram padronizados, o que torna a sua integração e estudo detalhado tarefas hercúleas. No sentido de ultrapassar estes problemas, este trabalho contribuiu para o desenvolvimento de uma base de dados integrada, o OralCard, que compreende uma catalogação e caracterização exaustivas do proteoma oral humano e do microbioma oral, estabelecendo as bases para a definição do fisioma da cavidade oral - OralOma. Esta ferramenta encontra-se depositada num repositório local e, de futuro, estará disponível livremente à comunidade científica. Pretende-se que se torne num recurso fundamental para clarificar a biologia oral e contribuir para o estabelecimento da saliva como fluido de diagnóstico.

No sentido de fazer uma análise de requisitos do OralCard, de mostrar a importância biológica da informação disponibilizada nesta ferramenta, a aplicabilidade deste tipo de abordagens no esclarecimento de aspectos moleculares da biologia oral na saúde e na doença e de desenvolver metodologias de análise sistemática de dados de proteómica que nos aproximem dos fisiomas, foram levados a cabo alguns casos de estudo. As metodologias seguidas na resolução destes casos permitem compreender que, dependendo dos problemas em análise, deverão ser utilizadas estratégias diferentes. Com estes casos de estudo, foi possível identificar limitações funcionais no OralCard que permitem desenhar novas funcionalidades a implementar no futuro.

6. Trabalho Futuro

Ao contrário do que acontece noutros sistemas, como no caso do Cardioma em que já se desenvolveram modelos computacionais que permitem simular o comportamento fisiológico do coração, o OralOma ainda se restringe à pesquisa dos diversos proteomas encontrados na cavidade oral e à compreensão funcional das proteínas que o constituem. Deste modo, os objectivos futuros do nosso trabalho passam por contribuir para a obtenção e tratamento de informação que permita esclarecer e definir o OralOma a todos os níveis. Isto inclui:

- Continuar a recolher e interpretar informação que venha a ser publicada sobre os diferentes estudos de proteómica da cavidade oral;
- Integrar dados do microbiota oral para que se possa compreender a fisiopatologia de diversas doenças orais e sistémicas derivadas da resposta do hospedeiro aos microrganismos que o colonizam;
- Gerar cartões e animações com os mecanismos moleculares envolvidos nos processos biológicos e patológicos da cavidade oral;
- Construir um modelo virtual da cavidade oral.

Estes avanços na compreensão do OralOma passam pelo aperfeiçoamento da ferramenta OralCard. Apesar do OralCard actual cumprir os principais objectivos definidos aquando da sua concepção, nomeadamente no que respeita à capacidade de armazenamento de dados de proteómica da cavidade oral e de tornar esses dados pesquisáveis segundo diversos critérios, muito há a fazer para conseguir que esses dados sejam traduzíveis em informação funcional e interpretativa do ponto de vista clínico. Neste sentido, de futuro, terão de ser feitas melhorias ao nível da integração e na forma de visualização dos dados armazenados.

Uma das funcionalidades a implementar no futuro será a capacidade de analisar conjuntos de proteínas. Só assim será possível estudar e interpretar alterações na quantidade e no tipo de proteínas presentes num determinado

estado patológico. Uma das implementações essenciais a este tipo de abordagem é a capacidade de gerar gráficos representativos das diversas classificações geradas a partir das proteínas analisadas. Por exemplo, saber que percentagem de proteínas alteradas em determinada patologia está envolvida num processo biológico específico. Actualmente, só é possível gerar redes de interações em torno de uma proteína pesquisada no OralCard. É importante conseguir fazê-lo, também, para conjuntos de proteínas. Outra das limitações actuais do sistema de geração de redes moleculares é a incapacidade de estudar interações entre moléculas de organismos diferentes e a incapacidade de gerar redes com mais de 1000 nós. Estas limitações, inerentes à ferramenta utilizada no OralCard (STRING), são particularmente relevantes no estudo da cavidade oral, uma vez que se trata de um sistema complexo, com elevado número de intervenientes moleculares e em que, para compreender a sua biologia, é necessário estudar a forma como interagem as moléculas do hospedeiro e do microbiota que o coloniza.

É também um objectivo incluir outras fontes de informação sobre as proteínas armazenadas. Isto adquire especial relevo no que toca a mapas de sinalização que facilitem a interpretação e visualização das redes moleculares em que estão envolvidas determinadas proteínas. Uma vez que existe um número crescente de ferramentas que disponibilizam este tipo de mapas (por exemplo o Reactome, PID, BioCarta, Invitrogen (iPath), Applied Biosystems (GeneAssist Pathway Atlas), Cell Signaling Technology e a Sigma-Aldrich (Cell Signaling Pathways)), será implementada a capacidade de importação destes mapas para o OralCard.

Uma das limitações actuais das ferramentas incorporadas no OralCard utilizadas para a análise e caracterização de proteínas (por exemplo PANTHER, STRING) é não conseguirem lidar com isoformas das proteínas. Porém, a identificação destas isoformas é importante em termos de diagnóstico, prognóstico, avaliação de risco e avaliação da eficácia de tratamentos^[233]. Por esta razão, futuramente, o OralCard será desenhado de modo a incluir informação individualizada de cada isoforma das proteínas identificadas no OralOma.

Outra das formas de aumentar a capacidade interpretativa do OralCard é incluir dados clínicos que possam ajudar na interpretação dos resultados de proteómica.

As novas implementações, especialmente ao nível dos sistemas de visualização de dados e todas as modificações decorrentes do processo contínuo de aprendizagem, permitirão uma aproximação cada vez maior do objectivo final que é fazer desta ferramenta a base para a construção de vários simuladores da fisiologia/patologia da cavidade oral que possam gerar informação passível de aplicação clínica na Medicina Dentária.

Com este trabalho inovador, pretende-se disponibilizar uma ferramenta de referência para todos aqueles que querem estudar a cavidade oral e todos aqueles que, de algum modo, intervêm sobre ela clinicamente.

Bibliografia

1. Kitano H. Foundations of systems biology. Cambridge Mass.: MIT Press; 2001.
2. Choi S. Introduction to Systems Biology. Softcover reprint of hardcover 1st ed. 2007 ed. Humana Press; 2010.
3. Seeley R, Stephens T, Tate P. Anatomy and Physiology. 8th ed. McGraw-Hill Science/Engineering/Math; 2007.
4. Tortora GJ, Derrickson BH. Principles of Anatomy and Physiology. 12th ed. Wiley; 2008.
5. du Toit DF. The tongue: structure and function relevant to disease and oral health. SADIJ 2003;58(9):375–6, 380–3.
6. Simmer JP, Fincham AG. Molecular mechanisms of dental enamel formation. Crit. Rev. Oral Biol. Med. 1995;6(2):84–108.
7. Michael N, Henry T, Perry R. K, Fermin A. C. Carranza's Clinical Periodontology Expert Consult: Text with Continually Updated Online Reference. 11th ed. Saunders; 2011.
8. Vacek JS, Gher ME, Assad DA, Richardson AC, Giambarresi LI. The dimensions of the human dentogingival junction. Int J Periodontics Restorative Dent 1994;14(2):154–65.
9. Alpiste-Illueca F. Dimensions of the dentogingival unit in maxillary anterior teeth: a new exploration technique (parallel profile radiograph). Int J Periodontics Restorative Dent 2004;24(4):386–96.
10. Champagne CME, Buchanan W, Reddy MS, Preisser JS, Beck JD, Offenbacher S. Potential for gingival crevice fluid measures as predictors of risk for periodontal diseases. Periodontol. 2000 2003;31:167–80.
11. Alfano MC. The origin of gingival fluid. Journal of Theoretical Biology 1974;47(1):127–36.
12. Field E. Tyldesley's Oral medicine. 5th ed. Oxford ;;New York: Oxford University Press; 2003.
13. Squier CA, Kremer MJ. Biology of oral mucosa and esophagus. J. Natl. Cancer Inst. Monographs 2001;(29):7–15.
14. Roopashree MR, Gondhalekar RV, Shashikanth MC, George J, Thippeswamy SH, Shukla A. Pathogenesis of oral lichen planus--a review. J. Oral Pathol. Med 2010;39(10):729–34.
15. Tucker AS, Miletich I. Salivary Glands: Development, Adaptations and Disease. 1st ed. S Karger Pub; 2010.
16. Nagler RM. Salivary Glands and the Aging Process: Mechanistic Aspects, Health-Status and Medicinal-Efficacy Monitoring. Biogerontology 2004;5(4):223–33.
17. Nagler RM, Hershkovich O. Age-related changes in unstimulated salivary function and composition and its relations to medications and oral sensorial complaints. Aging Clin Exp Res 2005;17(5):358–66.
18. Wong D. Salivary Diagnostics. 1st ed. Wiley-Blackwell; 2008.
19. Huq NL, Cross KJ, Ung M, Myroforidis H, Veith PD, Chen D, et al. A Review of the Salivary Proteome and Peptidome and Saliva-derived Peptide Therapeutics. Int J Pept Res Ther 2007;13(4):547–64.
20. de Almeida PDV, Grégio AMT, Machado MAN, de Lima AAS, Azevedo LR. Saliva composition and functions: a comprehensive review. J Contemp Dent Pract 2008;9(3):72–80.

21. Greabu M, Battino M, Mohora M, Totan A, Didilescu A, Spinu T, et al. Saliva--a diagnostic window to the body, both in health and in disease. *J Med Life* 2009;2(2):124–32.
22. Edgar WM. Saliva: its secretion, composition and functions. *Br Dent J* 1992;172(8):305–12.
23. Humphrey SP, Williamson RT. A review of saliva: normal composition, flow, and function. *J Prosthet Dent* 2001;85(2):162–9.
24. Kaufman E, Lamster IB. The diagnostic applications of saliva--a review. *Crit. Rev. Oral Biol. Med* 2002;13(2):197–212.
25. Dawes C. Physiological factors affecting salivary flow rate, oral sugar clearance, and the sensation of dry mouth in man. *J. Dent. Res* 1987;66 Spec No:648–53.
26. Suh K-I, Lee J-Y, Chung J-W, Kim Y-K, Kho H-S. Relationship between salivary flow rate and clinical symptoms and behaviours in patients with dry mouth. *J Oral Rehabil* 2007;34(10):739–44.
27. Walsh NP, Montague JC, Callow N, Rowlands AV. Saliva flow rate, total protein concentration and osmolality as potential markers of whole body hydration status during progressive acute dehydration in humans. *Arch. Oral Biol* 2004;49(2):149–54.
28. Axelsson P, Paulander J, Lindhe J. Relationship between smoking and dental status in 35-, 50-, 65-, and 75-year-old individuals. *J. Clin. Periodontol* 1998;25(4):297–305.
29. Maier H, Born IA, Mall G. Effect of chronic ethanol and nicotine consumption on the function and morphology of the salivary glands. *Klin. Wochenschr* 1988;66 Suppl 11:140–50.
30. Dawes C. Circadian rhythms in human salivary flow rate and composition. *J. Physiol. (Lond.)* 1972;220(3):529–45.
31. Kariyawasam AP, Dawes C. A circannual rhythm in unstimulated salivary flow rate when the ambient temperature varies by only about 2 degrees C. *Arch. Oral Biol* 2005;50(10):919–22.
32. Stack KM, Papas AS. Xerostomia: Etiology and Clinical Management. *Nutrition in Clinical Care* 2001;4(1):15–21.
33. Rayman S, Dincer E, Almas K. Xerostomia. Diagnosis and management in dental practice. *N Y State Dent J* 2010;76(2):24–7.
34. Atkinson JC, Baum BJ. Salivary enhancement: current status and future therapies. *J Dent Educ* 2001;65(10):1096–101.
35. Ribelles Llop M, Guinot Jimeno F, Mayné Acién R, Bellet Dalmau LJ. Effects of xylitol chewing gum on salivary flow rate, pH, buffering capacity and presence of *Streptococcus mutans* in saliva. *Eur J Paediatr Dent* 2010;11(1):9–14.
36. Edgar M, Dawes C, O'Mullane D. *Saliva and Oral Health*. 3rd ed. British Dental Journal; 2004.
37. Chicharro JL, Lucía A, Pérez M, Vaquero AF, Ureña R. Saliva composition and exercise. *Sports Med* 1998;26(1):17–27.
38. Enberg N, Alho H, Loimaranta V, Lenander-Lumikari M. Saliva flow rate, amylase activity, and protein and electrolyte concentrations in saliva after acute alcohol consumption. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2001;92(3):292–8.
39. Grigoriev IV, Nikolaeva LV, Artamonov ID. Protein content of human saliva in various psycho-emotional states. *Biochemistry Mosc* 2003;68(4):405–6.
40. Percival RS, Challacombe SJ, Marsh PD. Flow rates of resting whole and stimulated parotid saliva in relation to age and gender. *J. Dent. Res*

- 1994;73(8):1416–20.
41. Azevedo LR, Damante JH, Lara VS, Lauris JRP. Age-related changes in human sublingual glands: a post mortem study. *Arch. Oral Biol* 2005;50(6):565–74.
 42. Moreira CR, Azevedo LR, Lauris JRP, Taga R, Damante JH. Quantitative age-related differences in human sublingual gland. *Arch. Oral Biol* 2006;51(11):960–6.
 43. Nagler RM. Salivary glands and the aging process: mechanistic aspects, health-status and medicinal-efficacy monitoring. *Biogerontology* 2004;5(4):223–33.
 44. Navazesh M, Mulligan RA, Kipnis V, Denny PA, Denny PC. Comparison of whole saliva flow rates and mucin concentrations in healthy Caucasian young and aged adults. *J. Dent. Res* 1992;71(6):1275–8.
 45. Ship JA, Patton LL, Tylenda CA. An assessment of salivary function in healthy premenopausal and postmenopausal females. *J Gerontol* 1991;46(1):M11–5.
 46. Shern RJ, Fox PC, Li SH. Influence of age on the secretory rates of the human minor salivary glands and whole saliva. *Arch. Oral Biol* 1993;38(9):755–61.
 47. Turner RJ, Sugiya H. Understanding salivary fluid and protein secretion. *Oral Dis* 2002;8(1):3–11.
 48. Barry K. B. B, G. R. H, Bernard J. M. *Oral Anatomy, Histology and Embryology*. 4th ed. Mosby; 2009.
 49. Wu AM, Csako G, Herp A. Structure, biosynthesis, and function of salivary mucins. *Mol. Cell. Biochem* 1994;137(1):39–55.
 50. Tabak LA, Levine MJ, Mandel ID, Ellison SA. Role of salivary mucins in the protection of the oral cavity. *J. Oral Pathol* 1982;11(1):1–17.
 51. Nanci A. *Ten Cate's Oral Histology: Development, Structure, and Function*. 7th ed. Mosby; 2007.
 52. Macpherson LM, Dawes C. Urea concentration in minor mucous gland secretions and the effect of salivary film velocity on urea metabolism by *Streptococcus vestibularis* in an artificial plaque. *J. Periodont. Res* 1991;26(5):395–401.
 53. Bardow A, Moe D, Nyvad B, Nauntofte B. The buffer capacity and buffer systems of human whole saliva measured without loss of CO₂. *Arch. Oral Biol* 2000;45(1):1–12.
 54. Axelsson P. *Diagnosis and Risk Prediction of Dental Caries, Volume 2*. 1st ed. Quintessence Pub Co; 2000.
 55. ten Cate JM, van Loveren C. Fluoride mechanisms. *Dent. Clin. North Am* 1999;43(4):713–42, vii.
 56. Guha-Chowdhury N, Clark AG, Sissons CH. Inhibition of purified enolases from oral bacteria by fluoride. *Oral Microbiol. Immunol.* 1997;12(2):91–7.
 57. Wiesner J, Vilcinskis A. Antimicrobial peptides: the ancient arm of the human immune system. *Virulence* 2010;1(5):440–64.
 58. Andersson Y, Lindquist S, Lagerqvist C, Hernell O. Lactoferrin is responsible for the fungistatic effect of human milk. *Early Hum. Dev* 2000;59(2):95–105.
 59. Ashby MT. Inorganic chemistry of defensive peroxidases in the human oral cavity. *J. Dent. Res* 2008;87(10):900–14.
 60. Van Nieuw Amerongen A, Bolscher JGM, Veerman ECI. Salivary proteins: protective and diagnostic value in cariology? *Caries Res* 2004;38(3):247–53.
 61. MacKay BJ, Denepitiya L, Iacono VJ, Krost SB, Pollock JJ. Growth-inhibitory and bactericidal effects of human parotid salivary histidine-rich polypeptides on *Streptococcus mutans*. *Infect. Immun* 1984;44(3):695–701.
 62. Dixon DR, Jeffrey NR, Dubey VS, Leung KP. Antimicrobial peptide inhibition of *Porphyromonas gingivalis* 381-induced hemagglutination is improved with a

- synthetic decapeptide. *Peptides* 2009;30(12):2161–7.
63. Sugiyama K. Anti-lipopolsaccharide activity of histatins, peptides from human saliva. *Experientia* 1993;49(12):1095–7.
 64. Yin A, Margolis HC, Grogan J, Yao Y, Troxler RF, Oppenheim FG. Physical parameters of hydroxyapatite adsorption and effect on candidacidal activity of histatins. *Arch. Oral Biol* 2003;48(5):361–8.
 65. Ligtenberg AJM, Veerman ECI, Nieuw Amerongen AV, Mollenhauer J. Salivary agglutinin/glycoprotein-340/DMBT1: a single molecule with variable composition and with different functions in infection, inflammation and cancer. *Biol. Chem* 2007;388(12):1275–89.
 66. Malamud D, Abrams WR, Barber CA, Weissman D, Rehtanz M, Golub E. Antiviral activities in human saliva. *Adv. Dent. Res* 2011;23(1):34–7.
 67. Greabu M, Battino M, Mohora M, Totan A, Spinu T, Totan C, et al. Could constitute saliva the first line of defence against oxidative stress? *Rom J Intern Med* 2007;45(2):209–13.
 68. Kagami H, Hiramatsu Y, Hishida S, Okazaki Y, Horie K, Oda Y, et al. Salivary growth factors in health and disease. *Adv. Dent. Res* 2000;14:99–102.
 69. Vitsky A, Waire J, Pawliuk R, Bond A, Matthews D, Lacasse E, et al. Homeostatic role of transforming growth factor-beta in the oral cavity and esophagus of mice and its expression by mast cells in these tissues. *Am. J. Pathol.* 2009;174(6):2137–49.
 70. Denny P, Hagen FK, Hardt M, Liao L, Yan W, Arellanno M, et al. The Proteomes of Human Parotid and Submandibular/Sublingual Gland Salivas Collected as the Ductal Secretions. *J Proteome Res* 2008;7(5):1994–2006.
 71. Hu S, Arellano M, Boonthung P, Wang J, Zhou H, Jiang J, et al. Salivary Proteomics for Oral Cancer Biomarker Discovery. *Clinical Cancer Research* 2008;14(19):6246–52.
 72. Hu S, Wang J, Meijer J, Jeong S, Xie Y, Yu T, et al. Salivary proteomic and genomic biomarkers for primary Sjögren's syndrome. *Arthritis Rheum* 2007;56(11):3588–600.
 73. Li Y, St John MAR, Zhou X, Kim Y, Sinha U, Jordan RCK, et al. Salivary transcriptome diagnostics for oral cancer detection. *Clin. Cancer Res* 2004;10(24):8442–50.
 74. Aufdenblatten M, Baumann M, Raio L, Dick B, Frey BM, Schneider H, et al. Prematurity is related to high placental cortisol in preeclampsia. *Pediatr. Res* 2009;65(2):198–202.
 75. Miller CS, Foley JD, Bailey AL, Campell CL, Humphries RL, Christodoulides N, et al. Current developments in salivary diagnostics. *Biomark Med* 2010;4(1):171–89.
 76. Campo J, Perea MA, del Romero J, Cano J, Hernando V, Bascones A. Oral transmission of HIV, reality or fiction? An update. *Oral Dis* 2006;12(3):219–28.
 77. Lee JM, Garon E, Wong DT. Salivary diagnostics. *Orthod Craniofac Res* 2009;12(3):206–11.
 78. Vickaryous MK, Hall BK. Human cell type diversity, evolution, development, and classification with special reference to cells derived from the neural crest. *Biol Rev Camb Philos Soc* 2006;81(3):425–55.
 79. Stein LD. Human genome: end of the beginning. *Nature* 2004;431(7011):915–6.
 80. Wang J, Li D, Dangott LJ, Wu G. Proteomics and its role in nutrition research. *J. Nutr* 2006;136(7):1759–62.
 81. Kandpal R, Saviola B, Felton J. The era of 'omics unlimited. *BioTechniques*

- 2009;46(5):351–2, 354–5.
82. Oltvai ZN, Barabási A-L. Systems biology. Life's complexity pyramid. *Science* 2002;298(5594):763–4.
 83. Kuster DWD, Merkus D, van der Velden J, Verhoeven AJM, Duncker DJ. “Integrative Physiology 2.0”: integration of systems biology into physiology and its application to cardiovascular homeostasis. *J. Physiol. (Lond.)* 2011;589(Pt 5):1037–45.
 84. Hunter PJ. The IUPS Physiome Project: a framework for computational physiology. *Prog. Biophys. Mol. Biol* 2004;85(2-3):551–69.
 85. Bassingthwaite J, Hunter P, Noble D. The Cardiac Physiome: perspectives for the future. *Exp. Physiol* 2009;94(5):597–605.
 86. Falk R, Ramström M, Ståhl S, Hober S. Approaches for systematic proteome exploration. *Biomol. Eng.* 2007;24(2):155–68.
 87. Siwy J, Vlahou A, Zimmerli LU, Zährbig P, Schiffer E. Clinical proteomics: Current techniques and potential applications in the elderly. *Maturitas* 2011;68(3):233–44.
 88. Abu-Farha M, Elisma F, Zhou H, Tian R, Zhou H, Asmer MS, et al. Proteomics: From Technology Developments to Biological Applications. *Analytical Chemistry* 2009;81(12):4585–99.
 89. Sapra R. The use of difference in-gel electrophoresis for quantitation of protein expression. *Methods Mol. Biol.* 2009;492:93–112.
 90. Qian W-J, Jacobs JM, Liu T, Camp DG 2nd, Smith RD. Advances and challenges in liquid chromatography-mass spectrometry-based proteomics profiling for clinical applications. *Mol. Cell Proteomics* 2006;5(10):1727–44.
 91. Issaq HJ. The role of separation science in proteomics research. *Electrophoresis* 2001;22(17):3629–38.
 92. Wu R, Hu L, Wang F, Ye M, Zou H. Recent development of monolithic stationary phases with emphasis on microscale chromatographic separation. *J Chromatogr A* 2008;1184(1-2):369–92.
 93. Schmitt-Kopplin P, Englmann M. Capillary electrophoresis - mass spectrometry: survey on developments and applications 2003-2004. *Electrophoresis* 2005;26(7-8):1209–20.
 94. Zhi W, Wang M, She J-X. Selected reaction monitoring (SRM) mass spectrometry without isotope labeling can be used for rapid protein quantification. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 2011;25(11):1583–8.
 95. Zhang F, Dulneva A, Bailes J, Soloviev M. Affinity peptidomics: Peptide selection and affinity capture on hydrogels and microarrays. *Methods Mol. Biol.* 2010;615:313–44.
 96. Turck CW, Falick AM, Kowalak JA, Lane WS, Lilley KS, Phinney BS, et al. The Association of Biomolecular Resource Facilities Proteomics Research Group 2006 study: relative protein quantitation. *Mol. Cell Proteomics* 2007;6(8):1291–8.
 97. Bell AW, Deutsch EW, Au CE, Kearney RE, Beavis R, Sechi S, et al. A HUPO test sample study reveals common problems in mass spectrometry-based proteomics. *Nature Methods* 2009;6:423–30.
 98. He Z, Zhao H, Yu W. Score regularization for peptide identification. *BMC Bioinformatics* 2011;12 Suppl 1:S2.
 99. Abu-Asab MS, Chaouchi M, Alesci S, Galli S, Laassri M, Cheema AK, et al. Biomarkers in the Age of Omics: Time for a Systems Biology Approach. *OMICS* 2011;15(3):105–12.
 100. Azuaje F. *Bioinformatics and Biomarker Discovery* [Internet]. Chichester, UK:

- John Wiley & Sons, Ltd; 2010 [cited 2011 Aug 21]. Available from: <http://onlinelibrary.wiley.com/book/10.1002/9780470686423>
101. Wang K, Lee I, Carlson G, Hood L, Galas D. Systems biology and the discovery of diagnostic biomarkers. *Dis. Markers* 2010;28(4):199–207.
 102. Morrison RS, Veenstra TD. Biomarker discovery: Has it been worth it so far? *Proteomics Clin Appl* 2008;2(10-11):1375–6.
 103. Mook S, Van't Veer LJ, Rutgers EJT, Piccart-Gebhart MJ, Cardoso F. Individualization of therapy using MammaPrint: from development to the MINDACT Trial. *Cancer Genomics Proteomics* 2007;4(3):147–55.
 104. Webber EM, Lin JS, Evelyn P, Whitlock. Oncotype DX tumor gene expression profiling in stage II colon cancer. *PLoS Curr* 2.
 105. Valid concerns. *Nature* 2010;463(7280):401–2.
 106. Schmid EF, Smith DA. Keynote review: Is declining innovation in the pharmaceutical industry a myth? *Drug Discov. Today* 2005;10(15):1031–9.
 107. Fishman MC, Porter JA. Pharmaceuticals: a new grammar for drug discovery. *Nature* 2005;437(7058):491–3.
 108. Butcher EC. Innovation: Can cell systems biology rescue drug discovery? *Nat Rev Drug Discov* 2005;4(6):461–7.
 109. Tachibana C. Systems Biology and Bioinformatics: Something for Everyone [Internet]. 2010 [cited 2011 Aug 22]; Available from: http://sciencecareers.sciencemag.org/career_magazine/previous_issues/articles/2010_04_09/science.opms.r1000087
 110. Polanski A, Kimmel M. *Bioinformatics*. 1st ed. Springer; 2007.
 111. Galperin MY, Cochrane GR. The 2011 Nucleic Acids Research Database Issue and the online Molecular Biology Database Collection. *Nucleic Acids Research* 2010;39(Database):D1–6.
 112. Benson DA, Karsch-Mizrachi I, Lipman DJ, Ostell J, Sayers EW. GenBank. *Nucleic Acids Res* 2011;39(Database issue):D32–7.
 113. Stoesser G, Baker W, van den Broek A, Camon E, Garcia-Pastor M, Kanz C, et al. The EMBL Nucleotide Sequence Database. *Nucleic Acids Res* 2002;30(1):21–6.
 114. Uchida H. [DNA Data Bank of Japan]. *Tanpakushitsu Kakusan Koso* 1986;(29 Suppl):159–62.
 115. Thomas PD, Campbell MJ, Kejariwal A, Mi H, Karlak B, Daverman R, et al. PANTHER: A Library of Protein Families and Subfamilies Indexed by Function. *Genome Research* 2003;13(9):2129–41.
 116. Dennis G Jr, Sherman BT, Hosack DA, Yang J, Gao W, Lane HC, et al. DAVID: Database for Annotation, Visualization, and Integrated Discovery. *Genome Biol* 2003;4(5):P3.
 117. Chen T, Yu W-H, Izard J, Baranova OV, Lakshmanan A, Dewhirst FE. The Human Oral Microbiome Database: a web accessible resource for investigating oral microbe taxonomic and genomic information. *Database* 2010;2010(0):baq013–baq013.
 118. Sachidanandam R, Weissman D, Schmidt SC, Kakol JM, Stein LD, Marth G, et al. A map of human genome sequence variation containing 1.42 million single nucleotide polymorphisms. *Nature* 2001;409(6822):928–33.
 119. Moura A, Soares M, Pereira C, Leitão N, Henriques I, Correia A. INTEGRALL: a database and search engine for integrons, integrases and gene cassettes. *Bioinformatics* 2009;25(8):1096–8.
 120. The UniProt Consortium. Ongoing and future developments at the Universal Protein Resource. *Nucleic Acids Research* 2010;39(Database):D214–9.

121. Bernstein FC, Koetzle TF, Williams GJ, Meyer EF Jr, Brice MD, Rodgers JR, et al. The Protein Data Bank. A computer-based archival file for macromolecular structures. *Eur. J. Biochem* 1977;80(2):319–24.
122. Kiefer F, Arnold K, Künzli M, Bordoli L, Schwede T. The SWISS-MODEL Repository and associated resources. *Nucleic Acids Res* 2009;37(Database issue):D387–92.
123. Pieper U, Webb BM, Barkan DT, Schneidman-Duhovny D, Schlessinger A, Braberg H, et al. ModBase, a database of annotated comparative protein structure models, and associated resources. *Nucleic Acids Res* 2011;39(Database issue):D465–74.
124. Murzin AG, Brenner SE, Hubbard T, Chothia C. SCOP: a structural classification of proteins database for the investigation of sequences and structures. *J. Mol. Biol* 1995;247(4):536–40.
125. Cuff AL, Sillitoe I, Lewis T, Clegg AB, Rentzsch R, Furnham N, et al. Extending CATH: increasing coverage of the protein structure universe and linking structure with function. *Nucleic Acids Res* 2011;39(Database issue):D420–6.
126. Schultz J, Milpetz F, Bork P, Ponting CP. SMART, a simple modular architecture research tool: Identification of signaling domains. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 1998;95(11):5857–64.
127. Letunic I, Doerks T, Bork P. SMART 6: recent updates and new developments. *Nucleic Acids Res* 2009;37(Database issue):D229–32.
128. Gibney G, Baxevanis AD. Searching NCBI databases using Entrez. *Curr Protoc Bioinformatics* 2011;Chapter 1:Unit 1.3.
129. Safran M, Dalah I, Alexander J, Rosen N, Iny Stein T, Shmoish M, et al. GeneCards Version 3: the human gene integrator. *Database* 2010;2010(0):baq020–baq020.
130. Duncan M. Diseases Database Ver 1.8 ; Medical lists and links Diseases Database [Internet]. 2000 [cited 2011 Sep 19];Available from: <http://www.diseasesdatabase.com/>
131. Arrais JP, Fernandes J, Pereira J, Oliveira JL. GeneBrowser 2: an application to explore and identify common biological traits in a set of genes. *BMC Bioinformatics* 2010;11:389.
132. Lopes P, Dalglish R, Oliveira JL. WAVE: web analysis of the variome. *Hum. Mutat* 2011;32(7):729–34.
133. Dias GS, Oliveira JL, Vicente J, Martin-Sanchez F. Integrating medical and genomic data: a successful example for rare diseases. *Stud Health Technol Inform* 2006;124:125–30.
134. Snel B, Lehmann G, Bork P, Huynen MA. STRING: a web-server to retrieve and display the repeatedly occurring neighbourhood of a gene. *Nucleic Acids Res* 2000;28(18):3442–4.
135. Szklarczyk D, Franceschini A, Kuhn M, Simonovic M, Roth A, Minguéz P, et al. The STRING database in 2011: functional interaction networks of proteins, globally integrated and scored. *Nucleic Acids Res* 2011;39(Database issue):D561–8.
136. Chaurasia G, Malhotra S, Russ J, Schnoegl S, Hänig C, Wanker EE, et al. UniHI 4: new tools for query, analysis and visualization of the human protein-protein interactome. *Nucleic Acids Res.* 2009;37(Database issue):D657–60.
137. Stark C, Breitkreutz B-J, Chatr-Aryamontri A, Boucher L, Oughtred R, Livstone MS, et al. The BioGRID Interaction Database: 2011 update. *Nucleic Acids Res* 2011;39(Database issue):D698–704.

138. Salwinski L, Miller CS, Smith AJ, Pettit FK, Bowie JU, Eisenberg D. The Database of Interacting Proteins: 2004 update. *Nucleic Acids Res* 2004;32(Database issue):D449–51.
139. Gong S, Yoon G, Jang I, Bolser D, Dafas P, Schroeder M, et al. PSIBase: a database of Protein Structural Interactome map (PSIMAP). *Bioinformatics* 2005;21(10):2541–3.
140. Bader GD, Cary MP, Sander C. Pathguide: a pathway resource list. *Nucleic Acids Res* 2006;34(Database issue):D504–6.
141. Kanehisa M, Goto S. KEGG: kyoto encyclopedia of genes and genomes. *Nucleic Acids Res* 2000;28(1):27–30.
142. Joshi-Tope G, Gillespie M, Vastrik I, D'Eustachio P, Schmidt E, de Bono B, et al. Reactome: a knowledgebase of biological pathways. *Nucleic Acids Res* 2005;33(Database issue):D428–32.
143. Haw R, Hermjakob H, D'Eustachio P, Stein L. Reactome Pathway Analysis to Enrich Biological Discovery in Proteomics Datasets. *Proteomics [Internet]* 2011 [cited 2011 Aug 23]; Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21751369>
144. Schreiber F. High quality visualization of biochemical pathways in BioPath. In *Silico Biol. (Gedruckt)* 2002;2(2):59–73.
145. Caspi R, Altman T, Dale JM, Dreher K, Fulcher CA, Gilham F, et al. The MetaCyc database of metabolic pathways and enzymes and the BioCyc collection of pathway/genome databases. *Nucleic Acids Research* 2009;38(Database):D473–9.
146. Elkon R, Vesterman R, Amit N, Ulitsky I, Zohar I, Weisz M, et al. SPIKE - a database, visualization and analysis tool of cellular signaling pathways. *BMC Bioinformatics* 2008;9(1):110.
147. BioCarta - Charting Pathways of Life [Internet]. [cited 2011 Aug 23]; Available from: <http://www.biocarta.com/genes/index.asp>
148. Schaefer CF, Anthony K, Krupa S, Buchhoff J, Day M, Hannay T, et al. PID: the Pathway Interaction Database. *Nucleic Acids Res* 2009;37(Database issue):D674–9.
149. Ingenuity Systems Pathway Analysis, miRNA, RNA-Seq, NGS & Microarray Analysis Software [Internet]. [cited 2011 Aug 23]; Available from: <http://www.ingenuity.com/>
150. Pathway Analysis Software, Gene Expression Pathway Analysis [Internet]. [cited 2011 Aug 23]; Available from: <http://www.genego.com/>
151. Invitrogen Pathways - iPath [Internet]. [cited 2011 Aug 23]; Available from: <http://escience.invitrogen.com/ipath/>
152. Applied Biosystems - Ambion, Inc.-- Pathway [Internet]. [cited 2011 Aug 23]; Available from: <http://www.ambion.com/tools/DARKSITE/pathway/>
153. Cell Signaling Technology [Internet]. [cited 2011 Aug 23]; Available from: <http://www.cellsignal.com/>
154. Cell Signaling Pathways - Sigma Aldrich [Internet]. [cited 2011 Aug 23]; Available from: <http://www.sigmaaldrich.com/life-science/your-favorite-gene-search/pathway-overviews.html>
155. Gehlenborg N, O'Donoghue SI, Baliga NS, Goesmann A, Hibbs MA, Kitano H, et al. Visualization of omics data for systems biology. *Nat. Methods* 2010;7(3 Suppl):S56–68.
156. Schrödinger, LLC. The PyMOL Molecular Graphics System, Version 1.2r3pre [Internet]. [cited 2011 Aug 23]; Available from: <http://www.pymol.org/>

157. Smoot ME, Ono K, Ruscheinski J, Wang P-L, Ideker T. Cytoscape 2.8: new features for data integration and network visualization. *Bioinformatics* 2011;27(3):431–2.
158. Dada JO, Mendes P. Multi-scale modelling and simulation in systems biology. *Integr Biol (Camb)* 2011;3(2):86–96.
159. Jiang Y, Pjesivac-Grbovic J, Cantrell C, Freyer JP. A multiscale model for avascular tumor growth. *Biophys. J* 2005;89(6):3884–94.
160. Ribba B, Saut O, Colin T, Bresch D, Grenier E, Boissel JP. A multiscale mathematical model of avascular tumor growth to investigate the therapeutic benefit of anti-invasive agents. *J. Theor. Biol* 2006;243(4):532–41.
161. Viceconti M, Taddei F, Van Sint Jan S, Leardini A, Cristofolini L, Stea S, et al. Multiscale modelling of the skeleton for the prediction of the risk of fracture. *Clin Biomech (Bristol, Avon)* 2008;23(7):845–52.
162. Viceconti M, Clapworthy G, Van Sint Jan S. The Virtual Physiological Human - a European initiative for in silico human modelling -. *J Physiol Sci* 2008;58(7):441–6.
163. Maheshwari S, Verma SK, Tariq M, Prabhat K, Shailendra K. Emerging trends in oral health profession: The molecular dentistry. *Biology and Medicine* 2010;2(4):56–63.
164. Kuo WP. Overview of bioinformatics and its application to oral genomics. *Adv. Dent. Res* 2003;17:89–94.
165. Collins FS, McKusick VA. Implications of the Human Genome Project for medical science. *JAMA* 2001;285(5):540–4.
166. Slavkin HC. Applications of pharmacogenomics in general dental practice. *Pharmacogenomics* 2003;4(2):163–70.
167. Li Y, Denny P, Ho C-M, Montemagno C, Shi W, Qi F, et al. The Oral Fluid MEMS/NEMS Chip (OFMNC): Diagnostic & Translational Applications. *Advances in Dental Research* 2005;18(1):3–5.
168. Gonzalez-Begne M, Lu B, Han X, Hagen FK, Hand AR, Melvin JE, et al. Proteomic analysis of human parotid gland exosomes by multidimensional protein identification technology (MudPIT). *J. Proteome Res* 2009;8(3):1304–14.
169. Preza D, Thiede B, Olsen I, Grinde B. The proteome of the human parotid gland secretion in elderly with and without root caries. *Acta Odontol. Scand* 2009;67(3):161–9.
170. Siqueira WL, Salih E, Wan DL, Helmerhorst EJ, Oppenheim FG. Proteome of Human Minor Salivary Gland Secretion. *J Dent Res* 2008;87(5):445–50.
171. Ryu OH, Atkinson JC, Hoehn GT, Illei GG, Hart TC. Identification of parotid salivary biomarkers in Sjogren's syndrome by surface-enhanced laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry and two-dimensional difference gel electrophoresis. *Rheumatology (Oxford)* 2006;45(9):1077–86.
172. Walz A, Stühler K, Wattenberg A, Hawranke E, Meyer HE, Schmalz G, et al. Proteome analysis of glandular parotid and submandibular-sublingual saliva in comparison to whole human saliva by two-dimensional gel electrophoresis. *Proteomics* 2006;6(5):1631–9.
173. Hardt M, Witkowska HE, Webb S, Thomas LR, Dixon SE, Hall SC, et al. Assessing the effects of diurnal variation on the composition of human parotid saliva: quantitative analysis of native peptides using iTRAQ reagents. *Anal. Chem* 2005;77(15):4947–54.
174. Hardt M, Thomas LR, Dixon SE, Newport G, Agabian N, Prakobphol A, et al. Toward defining the human parotid gland salivary proteome and peptidome:

- identification and characterization using 2D SDS-PAGE, ultrafiltration, HPLC, and mass spectrometry. *Biochemistry* 2005;44(8):2885–99.
175. Hjelmervik TOR, Jonsson R, Bolstad AI. The minor salivary gland proteome in Sjögren's syndrome. *Oral Dis* 2009;15(5):342–53.
 176. Bostanci N, Heywood W, Mills K, Parkar M, Nibali L, Donos N. Application of label-free absolute quantitative proteomics in human gingival crevicular fluid by LC/MS E (gingival exudatome). *J. Proteome Res* 2010;9(5):2191–9.
 177. Negishi A, Masuda M, Ono M, Honda K, Shitashige M, Satow R, et al. Quantitative proteomics using formalin-fixed paraffin-embedded tissues of oral squamous cell carcinoma. *Cancer Sci* 2009;100(9):1605–11.
 178. He Q-Y, Chen J, Kung H-F, Yuen AP-W, Chiu J-F. Identification of tumor-associated proteins in oral tongue squamous cell carcinoma by proteomics. *Proteomics* 2004;4(1):271–8.
 179. Chi L-M, Lee C-W, Chang K-P, Hao S-P, Lee H-M, Liang Y, et al. Enhanced Interferon Signaling Pathway in Oral Cancer Revealed by Quantitative Proteome Analysis of Microdissected Specimens Using ¹⁶O/¹⁸O Labeling and Integrated Two-dimensional LC-ESI-MALDI Tandem MS. *Mol Cell Proteomics* 2009;8(7):1453–74.
 180. Lo W-Y, Tsai M-H, Tsai Y, Hua C-H, Tsai F-J, Huang S-Y, et al. Identification of over-expressed proteins in oral squamous cell carcinoma (OSCC) patients by clinical proteomic analysis. *Clin. Chim. Acta* 2007;376(1-2):101–7.
 181. Turhani D, Krapfenbauer K, Thurnher D, Langen H, Fountoulakis M. Identification of differentially expressed, tumor-associated proteins in oral squamous cell carcinoma by proteomic analysis. *Electrophoresis* 2006;27(7):1417–23.
 182. Brinkmann O, Kastratovic DA, Dimitrijevic MV, Konstantinovic VS, Jelovac DB, Antic J, et al. Oral squamous cell carcinoma detection by salivary biomarkers in a Serbian population. *Oral Oncol* 2011;47(1):51–5.
 183. Haigh BJ, Stewart KW, Whelan JRK, Barnett MPG, Smolenski GA, Wheeler TT. Alterations in the salivary proteome associated with periodontitis. *J. Clin. Periodontol* 2010;37(3):241–7.
 184. Cabras T, Pisano E, Mastinu A, Denotti G, Pusceddu PP, Inzitari R, et al. Alterations of the salivary secretory peptidome profile in children affected by type 1 diabetes. *Molecular & Cellular Proteomics* 2010;9(10):2099–108.
 185. Loo JA, Yan W, Ramachandran P, Wong DT. Comparative human salivary and plasma proteomes. *J. Dent. Res* 2010;89(10):1016–23.
 186. Gonçalves LDR, Soares MR, Nogueira FCS, Garcia C, Camisasca DR, Domont G, et al. Comparative proteomic analysis of whole saliva from chronic periodontitis patients. *J Proteomics* 2010;73(7):1334–41.
 187. Jou Y-J, Lin C-D, Lai C-H, Chen C-H, Kao J-Y, Chen S-Y, et al. Proteomic identification of salivary transferrin as a biomarker for early detection of oral cancer. *Analytica Chimica Acta* 2010;681(1-2):41–8.
 188. Costa PP, Trevisan GL, Macedo GO, Palioto DB, Souza SLS, Grisi MFM, et al. Salivary interleukin-6, matrix metalloproteinase-8, and osteoprotegerin in patients with periodontitis and diabetes. *J. Periodontol* 2010;81(3):384–91.
 189. Castagnola M, Inzitari R, Fanali C, Iavarone F, Vitali A, Desiderio C, et al. The surprising composition of the salivary proteome of preterm human newborn. *Mol. Cell Proteomics* 2010;10(1):M110.003467.
 190. Streckfus CF, Storthz KA, Bigler L, Dubinsky WP. A Comparison of the Proteomic Expression in Pooled Saliva Specimens from Individuals Diagnosed

- with Ductal Carcinoma of the Breast with and without Lymph Node Involvement. *J Oncol* 2009;2009.
191. Fleissig Y, Deutsch O, Reichenberg E, Redlich M, Zaks B, Palmon A, et al. Different proteomic protein patterns in saliva of Sjögren's syndrome patients. *Oral Dis* 2009;15(1):61–8.
 192. Wu Y, Shu R, Luo L-J, Ge L-H, Xie Y-F. Initial comparison of proteomic profiles of whole unstimulated saliva obtained from generalized aggressive periodontitis patients and healthy control subjects. *J. Periodont. Res* 2009;44(5):636–44.
 193. Quintana M, Palicki O, Lucchi G, Ducoroy P, Chambon C, Salles C, et al. Inter-individual variability of protein patterns in saliva of healthy adults. *J Proteomics* 2009;72(5):822–30.
 194. Ito K, Funayama S, Hitomi Y, Nomura S, Katsura K, Saito M, et al. Proteome analysis of gelatin-bound salivary proteins in patients with primary Sjögren's syndrome: identification of matrix metalloproteinase-9. *Clin. Chim. Acta* 2009;403(1-2):269–71.
 195. Rao PV, Reddy AP, Lu X, Dasari S, Krishnaprasad A, Biggs E, et al. Proteomic identification of salivary biomarkers of type-2 diabetes. *J. Proteome Res* 2009;8(1):239–45.
 196. Yan W, Apweiler R, Balgley BM, Boonthueung P, Bundy JL, Cargile BJ, et al. Systematic comparison of the human saliva and plasma proteomes. *Proteomics Clin Appl* 2009;3(1):116–34.
 197. Dowling P, Wormald R, Meleady P, Henry M, Curran A, Clynes M. Analysis of the saliva proteome from patients with head and neck squamous cell carcinoma reveals differences in abundance levels of proteins associated with tumour progression and metastasis. *J Proteomics* 2008;71(2):168–75.
 198. Fang X, Yang L, Wang W, Song T, Lee CS, DeVoe DL, et al. Comparison of electrokinetics-based multidimensional separations coupled with electrospray ionization-tandem mass spectrometry for characterization of human salivary proteins. *Anal. Chem* 2007;79(15):5785–92.
 199. Giusti L, Baldini C, Bazzichi L, Ciregia F, Tonazzini I, Mascia G, et al. Proteome analysis of whole saliva: a new tool for rheumatic diseases--the example of Sjögren's syndrome. *Proteomics* 2007;7(10):1634–43.
 200. Giusti L, Bazzichi L, Baldini C, Ciregia F, Mascia G, Giannaccini G, et al. Specific proteins identified in whole saliva from patients with diffuse systemic sclerosis. *J. Rheumatol* 2007;34(10):2063–9.
 201. Yang L-L, Liu X-Q, Liu W, Cheng B, Li M-T. Comparative analysis of whole saliva proteomes for the screening of biomarkers for oral lichen planus. *Inflamm. res.* 2006;55(10):405–7.
 202. Xie H, Rhodus NL, Griffin RJ, Carlis JV, Griffin TJ. A catalogue of human saliva proteins identified by free flow electrophoresis-based peptide separation and tandem mass spectrometry. *Mol. Cell Proteomics* 2005;4(11):1826–30.
 203. 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.
 204. Vitorino R, Lobo MJC, Duarte JAR, Ferrer-Correia AJ, Domingues PM, Amado FML. Analysis of salivary peptides using HPLC-electrospray mass spectrometry. *Biomed. Chromatogr* 2004;18(8):570–5.
 205. Messana I, Cabras T, Inzitari R, Lupi A, Zuppi C, Olmi C, et al. Characterization of the Human Salivary Basic Proline-Rich Protein Complex by a Proteomic

- Approach. *Journal of Proteome Research* 2004;3(4):792–800.
206. Huang C-M. Comparative proteomic analysis of human whole saliva. *Arch. Oral Biol* 2004;49(12):951–62.
 207. Wilmarth PA, Riviere MA, Rustvold DL, Lauten JD, Madden TE, David LL. Two-Dimensional Liquid Chromatography Study of the Human Whole Saliva Proteome. *Journal of Proteome Research* 2004;3(5):1017–23.
 208. Saha S, Harrison SH, Shen C, Tang H, Radivojac P, Arnold RJ, et al. HIP2: An online database of human plasma proteins from healthy individuals. *BMC Med Genomics* 2008;1:1–12.
 209. Nissum M, Kuhfuss S, Hauptmann M, Obermaier C, Sukop U, Wildgruber R, et al. Two-dimensional separation of human plasma proteins using iterative free-flow electrophoresis. *Proteomics* 2007;7(23):4218–27.
 210. Kersey PJ, Duarte J, Williams A, Karavidopoulou Y, Birney E, Apweiler R. The International Protein Index: an integrated database for proteomics experiments. *Proteomics* 2004;4(7):1985–8.
 211. Jain E, Bairoch A, Duvaud S, Phan I, Redaschi N, Suzek B, et al. Infrastructure for the life sciences: design and implementation of the UniProt website. *BMC Bioinformatics* 2009;10(1):136.
 212. Melo J, Arrais JP, Lopes P, Rosa N, Correia MJ, Barros MT, et al. Web information system for the study of oral health. *HEALTHINF 2012* (accepted as full paper);
 213. Mi H, Dong Q, Muruganujan A, Gaudet P, Lewis S, Thomas PD. PANTHER version 7: improved phylogenetic trees, orthologs and collaboration with the Gene Ontology Consortium. *Nucleic Acids Research* 2009;38(Database):D204–10.
 214. Zhang Y, De S, Garner JR, Smith K, Wang SA, Becker KG. Systematic analysis, comparison, and integration of disease based human genetic association data and mouse genetic phenotypic information. *BMC Med Genomics* 2010;3:1.
 215. Rosa N, Correia MJ, Arrais JP, Lopes P, Oliveira JL, Barros MT. From the salivary proteome to the OralOme: comprehensive molecular oral biology. Under Review;
 216. Melo J. OralCard: Sistema de Informação Web para a Saúde Oral. 2011;
 217. Heerschop E. Development of a Database Abstraction Layer. 2004;
 218. Hewett M, Oliver DE, Rubin DL, Easton KL, Stuart JM, Altman RB, et al. PharmGKB: the Pharmacogenetics Knowledge Base. *Nucleic Acids Res* 2002;30(1):163–5.
 219. Scheer M, Grote A, Chang A, Schomburg I, Munaretto C, Rother M, et al. BRENDA, the enzyme information system in 2011. *Nucleic Acids Res* 2011;39(Database issue):D670–6.
 220. Karp G. Gene Expression: From Transcription to Translation. In: *Cell and Molecular Biology: Concepts and Experiments*. Wiley; 2010. p. 419–74.
 221. Delima AJ, Van Dyke TE. Origin and function of the cellular components in gingival crevice fluid. *Periodontol.* 2000 2003;31:55–76.
 222. Sorsa T, Tjäderhane L, Konttinen YT, Lauhio A, Salo T, Lee H-M, et al. Matrix metalloproteinases: contribution to pathogenesis, diagnosis and treatment of periodontal inflammation. *Ann. Med* 2006;38(5):306–21.
 223. Hernández M, Gamonal J, Tervahartiala T, Mäntylä P, Rivera O, Dezerega A, et al. Associations between matrix metalloproteinase-8 and -14 and myeloperoxidase in gingival crevicular fluid from subjects with progressive chronic periodontitis: a longitudinal study. *J. Periodontol* 2010;81(11):1644–52.
 224. Vitkov L, Klappacher M, Hannig M, Krautgartner WD. Extracellular neutrophil

- traps in periodontitis. *J. Periodont. Res* 2009;44(5):664–72.
225. Morais J. Mecanismos moleculares envolvidos na remodelação óssea - implicações na periodontite. 2010;
 226. Dias M. Estudo in silico de marcadores para a doença periodontal. 2011;
 227. Amaral D. Mecanismos moleculares da diabetes mellitus tipo 2 com implicações na saúde oral - estudo in silico. 2011;
 228. Suzuki A, Takai-Igarashi T, Numabe Y, Tanaka H. Development of a database and ontology for pathogenic pathways in periodontitis. *In Silico Biol. (Gedrukt)* 2009;9(4):233–43.
 229. Ambion IGPA. Ambion, Inc.-- RANK Signaling in Osteoclasts Pathway [Internet]. 2011 [cited 2011 Sep 28]; Available from: <http://www5.appliedbiosystems.com/tools/pathway/pathway.php?pathway=RANK%20Signaling%20in%20Osteoclasts>
 230. Armitage GC. Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Northwest Dent* 2000;79(6):31–5.
 231. Skamagas M, Breen TL, LeRoith D. Update on diabetes mellitus: prevention, treatment, and association with oral diseases. *Oral Dis* 2008;14(2):105–14.
 232. Li R-X, Chen H-B, Tu K, Zhao S-L, Zhou H, Li S-J, et al. Localized-statistical quantification of human serum proteome associated with type 2 diabetes. *PLoS ONE* 2008;3(9):e3224.
 233. Zhou A, Zhang F, Chen JY. PEPPI: a peptidomic database of human protein isoforms for proteomics experiments. *BMC Bioinformatics* 2010;11 Suppl 6:S7.

Anexos

São disponibilizadas como anexos a lista de proteínas identificadas até ao momento na cavidade oral (**Tabela i**) e a lista de revisões e actualizações a que foram sujeitas as proteínas identificadas nos estudos de proteómica da cavidade oral (**Tabela ii**).

Tabela i - Lista de proteínas identificadas até ao momento na cavidade oral

UniProtKB AC	Source													Age group	Citation (NCBI ID)
	Parotid	Parotid Exosome	SM/SL	Minor	Whole Saliva	Crevice- lar Fluid	Mucosa	Tongue	Plasma	Health	Disease	Regulatio n			
A0A5E4	x		x							x				Adult	18361515
A0AUV5					x					x				Adult	19118452
A0N5G3					x					x				Adult	19118452
A0N5G5					x					x				Adult	19118452
A1L4K7					x					x				Adult	19118452
A2A2E1					x					x				Adult	19118452
A2BEZ7					x					x				Adult	19118452
A2BHY4	x		x							x				Adult	18361515
A2J1M4					x					x				Adult	19118452
A2J1N6	x		x		x					x				Adult	18361515
A2MYC9	x		x							x				Adult	18361515
A2MYD4	x	x	x							x				Adult	18361515
A2N0U4	x		x							x				Adult	18361515
A2NJV5		x								x				Adult	19199708
A2RTY6					x						125853	+		Adult	19118452
A2RUI4					x					x				Adult	19118452
A2VCL0					x					x				Adult	19118452
A2VCM0					x					x				Adult	19118452
A4D2K5	x									x				Adult	18361515
A5D903	x									x				Adult	18361515
A5YKK8					x					x				Preterm Newborns	20943598
A6MUU8					x					x				Adult	18829504
A6NC17			x							x				Adult	18361515
A6NCN2	x		x							x				Adult	18361515
A6NDP1	x		x							x				Adult	18361515
A6NDW3	x									x				Adult	18361515
A6NDZ5					x					x				Adult	18361515
A6NFE0	x				x					x				Adult	18361515
A6NFH5	x									x				Adult	18361515

B4DV10				x						Adult	19898684
B4DVA7				x					x	Adult	19898684
B4E175		x							x	Adult	19199708
B4E321		x							x	Adult	19199708
B5MD97				x					x	Adult	18361515
B5MDX4	x								x	Adult	18361515
B7WNV4	x		x						x	Adult	18361515
B7ZLJ4	x								x	Adult	18361515
B7ZLN2	x								x	Adult	18361515
B9EGR5			x						x	Adult	18361515
C5IX07		x							x	Adult	19199708
C9JKY1	x	x	x						x	Adult	18361515
D3DSM5		x							x	Adult	19199708
D3DUQ9				x					x	Adult	19898684
D3DV36				x				260950		Adult	20215060
D6RCA1		x							x	Adult	19199708
O00115	x								x	Adult	18361515
O00139				x				x	x	Adult	16103422
O00148			x	x	x				x	Adult	17614365
O00151				x	x			x	x	Adult	17614365
O00154						x		x	x		18439290
O00159	x	x		x	x			x	x	Adult	18361515
O00160				x				x	x	Adult	17614365
O00194		x						x	x	Adult	19199708
O00203						x		x	x		18439290
O00204				x	x			x	x	Adult	17614365
O00214			x					x	x	Adult	18361515
O00217			x					x	x		18439290
O00231			x	x	x			x	x	Adult	17614365
O00244						x			x	Adult	19297546
O00299	x		x	x	x	x		x	x	Adult	18361515
O00300				x				x	x		18439290
O00303						x		x	x		18439290
O00391	x		x	x				x	x	Adult	18361515
O00410			x		x			x	x		18439290
O00429				x	x				x	Adult	17614365
O00462	x		x	x				x	x	Adult	18361515
O00468		x						x	x	Adult	19199708
O00469		x						x	x	Adult	19199708
O00483			x		x				x	Adult	19364392
O00487				x				x	x	Adult	17614365
O00515				x	x			x	x	Adult	17614365
O00560	x	x	x	x				x	x	Adult	18361515
O00571		x		x	x			x	x	Adult	17614365
O00584	x		x	x					x	Adult	18361515
O00592-2			x						x	Adult	18361515

O00602				x			x	x	Adult	19118452
O00629				x			x	x	Adult	17614365
O00748	x		x	x		x	x	x	Adult	18361515
O00748-2	x		x					x	Adult	18361515
O00754	x						x	x	Adult	18361515
O00764				x	x		x	x	Adult	17614365
O14525				x			x	x		18439290
O14548				x				x	Adult	19364392
O14556	x		x				x	x	Adult	18361515
O14558						x	x	x		18439290
O14579				x	x			x	Adult	17614365
O14602				x				x	Adult	17614365
O14617				x			x	x	Adult	17614365
O14638		x						x	Adult	19199708
O14639				x	x		x	x	Adult	18434574
O14657		x					x	x	Adult	19199708
O14672	x		x				x	x	Adult	18361515
O14686				x			x	x	Adult	17614365
O14732				x			x	x	Adult	17614365
O14745		x		x		x	x	x	Adult	17614365
O14773	x		x	x		x	x	x	Adult	18361515
O14776				x			x	x		18439290
O14818				x			x	x	Adult	17614365
O14818-1				x				x	Adult	16103422
O14828						x	x	x		18439290
O14841				x			x	x	Adult	17614365
O14880				x			x	x		18439290
O14896						x	x	x		18439290
O14908				x			x	x	Adult	17614365
O14949				x		x		x	Adult	19364392
O14967				x			x	x	Adult	17614365
O14976				x			x	x	Adult	17614365
O14980						x		x	Adult	19297561
O14983				x	x		x	x	Adult	17614365
O15015	x						x	x	Adult	18361515
O15020				x			x	x	Adult	17614365
O15031				x		x	x	x	Adult	17614365
O15037				x			x	x		18439290
O15047				x				x	Adult	15800970
O15054	x						x	x	Adult	18361515
O15056					x		x	x	Adult	20205380
O15072		x					x	x	Adult	19199708
O15143				x		x	x	x	Adult	17614365
O15144				x		x	x	x	Adult	16103422
O15145				x	x	x		x	Adult	17614365
O15162				x			x	x	Adult	17614365

O15217				x				x	Adult	17614365	
O15230		x						x	x	Adult	19199708
O15231				x	x			x	x	Adult	17614365
O15234				x				x	x	Adult	16103422
O15258				x					x	Adult	17614365
O15263				x					x	Adult	17614365
O15270				x				x	x	Adult	17614365
O15335	x		x	x				x	x	Adult	18361515
O15371							x	x	x		18439290
O15372				x	x			x	x	Adult	17614365
O15393		x						x	x	Adult	19199708
O15400				x				x	x	Adult	16103422
O15405			x						x	Adult	18361515
O15439				x				x	x	Adult	17614365
O15460							x	x	x		18439290
O15511			x	x	x				x	Adult	17614365
O15523				x	x			x	x	Adult	17614365
O15533							x	x	x		18439290
O43143							x	x	x		18439290
O43169				x				x	x	Adult	17614365
O43175		x		x	x			x	x	Adult	17614365
O43181							x	x	x		18439290
O43240			x	x	x				x	Adult	18361515
O43242				x				x	x	Adult	17614365
O43278				x				x	x	Adult	18361515
O43278-2			x	x					x	Adult	18361515
O43291			x					x	x	Adult	18361515
O43345	x		x						x	Adult	18361515
O43390			x	x	x			x	x	Adult	17614365
O43396				x	x			x	x	Adult	17614365
O43488			x				x	x	x		18439290
O43490	x	x	x	x				x	x	Adult	18361515
O43505	x							x	x	Adult	18361515
O43511	x							x	x	Adult	18361515
O43548				x				x	x	Adult	17614365
O43570							x	x	x		18439290
O43581	x							x	x	Adult	18361515
O43598							x		x	Adult	19297561
O43617				x					x	Adult	17614365
O43678			x							Adult	19364392
O43707	x		x	x	x		x	x	x	Adult	18361515
O43760			x					x	x		18439290
O43765							x	x	x		18439290
O43776				x				x	x	Adult	17614365
O43790	x		x	x	x			x	x	Adult	18361515
O43795		x					x	x	x	Adult	19199708

270150

O43815				x			x	x	Adult	17614365
O43837						x	x	x		18439290
O43852	x		x	x	x		x	x	Adult	18361515
O43866				x			x	x	Adult	19118452
O43920				x				x	Adult	17614365
O43933				x			x	x		18439290
O60218				x	x			x	Adult	16103422
O60234				x			x	x	Adult	17614365
O60235			x	x			x	x	Adult	18361515
O60245			x				x	x	Adult	18361515
O60245-2				x				x	Adult	18361515
O60245-3				x				x	Adult	18361515
O60259				x			x	x	Adult	17614365
O60306			x					x	Adult	18434574
O60308				x			x	x		18439290
O60313				x			x	x	Adult	17614365
O60361			x	x	x			x	Adult	17614365
O60437	x	x	x	x	x		x	x	Adult	18361515
O60449				x			x	x		18439290
O60476	x	x					x	x	Adult	18361515
O60493					x			x	Adult	19297561
O60506			x	x	x		x	x	Adult	16103422
O60512		x						x	Adult	19199708
O60518				x			x	x	Adult	17614365
O60547		x					x	x	Adult	19199708
O60568		x					x	x	Adult	19199708
O60585				x				x	Adult	15800970
O60602				x			x	x		18439290
O60610				x			x	x	Adult	17614365
O60664			x	x	x		x	x	Adult	16103422
O60664-1				x				x	Adult	16103422
O60664-2				x				x	Adult	16103422
O60701				x	x		x	x	Adult	17614365
O60716		x		x	x		x	x	Adult	18361515
O60716-10				x				x	Adult	18361515
O60716-11				x				x	Adult	18361515
O60716-12				x				x	Adult	18361515
O60716-13				x				x	Adult	18361515
O60716-14				x				x	Adult	18361515
O60716-15				x				x	Adult	18361515
O60716-16				x				x	Adult	18361515
O60716-17				x				x	Adult	18361515
O60716-18				x				x	Adult	18361515
O60716-19				x				x	Adult	18361515
O60716-2	x							x	Adult	18361515
O60716-20				x				x	Adult	18361515

O60716-21				x					x	Adult	18361515	
O60716-22				x					x	Adult	18361515	
O60716-23				x					x	Adult	18361515	
O60716-24				x					x	Adult	18361515	
O60716-25				x					x	Adult	18361515	
O60716-26				x					x	Adult	18361515	
O60716-27				x					x	Adult	18361515	
O60716-28				x					x	Adult	18361515	
O60739								x		Adult	19297561	
O60763			x	x					x	x	Adult	17614365
O60784				x					x	x	Adult	17614365
O60814		x	x	x					x	x	Adult	18361515
O60825				x					x	x	Adult	17614365
O60841				x		x			x	x	Adult	17614365
O60869								x		x	Adult	19297561
O60888	x		x	x	x		x			x	Adult	18361515
O75015			x		x				x	x	Adult	18361515
O75078					x				x	x		18439290
O75081					x					x	Adult	15800970
O75083	x				x		x		x	x	Adult	18361515
O75083-2					x					x	Adult	16103422
O75131		x			x				x	x	Adult	17614365
O75151					x				x	x		18439290
O75223			x	x	x				x	x	Adult	18361515
O75306								x	x	x		18439290
O75340					x		x		x	x	Adult	17614365
O75347					x					x	Adult	16103422
O75348					x				x	x	Adult	17614365
O75351					x				x	x	Adult	17614365
O75367	x		x		x		x		x	x	Adult	18361515
O75368			x		x					x	Adult	18361515
O75369				x	x		x		x	x	Adult	17614365
O75369-1	x									x	Adult	18361515
O75369-2					x					x	Adult	18361515
O75369-3					x					x	Adult	18361515
O75369-4					x					x	Adult	18361515
O75369-5					x					x	Adult	18361515
O75369-6					x					x	Adult	18361515
O75372	x		x							x	Adult	18361515
O75390			x		x		x		x	x	Adult	18361515
O75396				x	x				x	x	Adult	17614365
O75420	x		x						x	x	Adult	18361515
O75436					x		x		x	x	Adult	19118452
O75475					x					x	Adult	17614365
O75477							x		x	x		18439290
O75487		x							x	x	Adult	19199708

O75489			x		x		x	x		18439290
O75531			x				x	x		18439290
O75533				x			x	x	Adult	17614365
O75556				x				x	Adult	19118452
O75586	x						x	x	Adult	18361515
O75594			x	x			x	x	Adult	18361515
O75608				x				x	Adult	17614365
O75629	x		x				x	x	Adult	18361515
O75691				x			x	x		18439290
O75787	x	x	x	x				x	Adult	18361515
O75828				x	x	x	x	x	Adult	17614365
O75874				x	x	x	x	x	Adult	17614365
O75882	x		x				x	x	Adult	18361515
O75882-2	x							x	Adult	18361515
O75882-3	x							x	Adult	18361515
O75888	x	x					x	x	Adult	18361515
O75888-2	x							x	Adult	18361515
O75891				x			x	x		18439290
O75915						x		x	Adult	19297561
O75923				x			x	x	Adult	17614365
O75944	x						x	x	Adult	18361515
O75947				x		x		x	Adult	17614365
O75955						x	x	x		18439290
O75964				x	x	x	x	x	Adult	17614365
O75976		x	x	x			x	x	Adult	18361515
O75995				x			x	x	Adult	16103422
O76009	x		x	x			x	x	Adult	18361515
O76011	x		x	x			x	x	Adult	18361515
O76013	x		x	x			x	x	Adult	18361515
O76014				x	x			x	Adult	17614365
O76015				x			x	x	Adult	17614365
O76031				x			x	x	Adult	18361515
O94766		x					x	x	Adult	19199708
O94808				x			x	x		18439290
O94826				x		x	x	x	Adult	17614365
O94832		x		x	x		x	x	Adult	17614365
O94886	x							x	Adult	18361515
O94919				x			x	x	Adult	17614365
O94968				x				x	Adult	15800970
O94973				x			x	x	Adult	17614365
O94985	x						x	x	Adult	18361515
O94985-2	x							x	Adult	18361515
O95025				x			x	x	Adult	18361515
O95084	x	x	x				x	x	Adult	18361515
O95147					x		x	x	Adult	17614365
O95168				x					Adult	19364392

270150

O95171				x			x	x	Adult	18361515
O95171-2	x							x	Adult	18361515
O95197						x	x	x		18439290
O95236				x				x	Adult	20205380
O95274	x		x	x		x	x	x	Adult	18361515
O95292						x	x	x		18439290
O95294						x	x	x		18439290
O95299						x	x	x		18439290
O95302						x	x	x		18439290
O95336			x	x		x	x	x	Adult	18361515
O95361				x			x	x	Adult	17614365
O95395	x	x	x					x	Adult	18361515
O95445				x			x	x	Adult	19118452
O95450	x			x			x	x	Adult	18361515
O95467			x					x	Adult	18361515
O95479	x		x	x			x	x	Adult	18361515
O95498				x			x	x	Adult	17614365
O95573				x			x	x	Adult	17614365
O95678	x		x	x				x	Adult	18361515
O95712						x		x	Adult	19297561
O95716				x			x	x	Adult	17614365
O95721						x	x	x		18439290
O95757				x			x	x	Adult	17614365
O95758						x	x	x		18439290
O95782				x			x	x	Adult	17614365
O95784				x				x	Adult	16103422
O95786						x		x	Adult	19297561
O95793	x	x	x				x	x	Adult	18361515
O95793-2	x							x	Adult	18361515
O95817				x			x	x	Adult	17614365
O95831						x	x	x		18439290
O95833				x		x	x	x	Adult	17614365
O95834				x		x	x	x	Adult	17614365
O95841	x	x						x	Adult	18361515
O95861				x				x	Adult	17614365
O95865				x			x	x	Adult	16103422
O95867				x				x	Adult	17614365
O95881				x		x	x	x	Adult	16103422
O95967		x					x	x	Adult	19199708
O95973	x						x	x	Adult	18361515
O95994			x	x	x			x	Adult	18361515
O96000						x		x	Adult	19297561
O96008						x	x	x		18439290
P00338	x		x	x	x	x	x	x	Adult	18361515
P00352		x		x	x	x	x	x	Adult	19364392
P00354				x			x	x	Adult	16103422

P00367	x			x		x		x	x	Adult	18361515
P00387			x	x		x		x	x	Adult	17614365
P00390				x				x	x	Adult	17614365
P00403			x	x		x			x	Adult	17614365
P00414						x			x	Adult	19297561
P00441	x		x	x	x			x	x	Adult	18361515
P00450	x		x		x			x	x	Adult	18361515
P00491				x		x		x	x	Adult	16103422
P00492				x					x	Adult	16103422
P00505				x		x		x	x	Adult	17614365
P00533						x		x	x		18439290
P00558	x	x	x	x	x	x		x	x	Adult	18361515
P00568				x		x		x	x		18439290
P00695	x			x	x					260950	- Adult 20205380
P00734	x		x		x			x	x	Adult	18361515
P00736				x				x	x	Adult	19118452
P00737				x					x	Adult	15473691
P00738	x		x	x	x	x		x	x	Adult	18361515
P00739				x				x	x	Adult	17614365
P00739-1			x						x	Adult	18361515
P00740	x							x	x	Adult	18361515
P00747	x	x	x		x			x	x	Adult	18361515
P00748			x		x			x	x	Adult	18361515
P00751	x		x		x			x	x	Adult	18361515
P00915				x	x			x	x	Adult	17614365
P00918	x		x	x	x	x		x	x	Adult	18361515
P00938				x					x	Adult	15473691
P01008	x		x	x	x	x		x	x	Adult	18361515
P01009	x		x	x	x	x		x	x	Adult	18361515; 1843457
P01011				x		x		x	x	- Adult	20205380
P01011-2	x		x						x	Adult	18361515
P01019	x		x		x			x	x	Adult	18361515
P01023	x		x		x		x	x	x	Adult	18361515
P01024	x		x	x	x	x	x	x	x	Adult	18361515
P01028				x				x	x	Adult	16103422
P01031				x				x	x	Adult	17614365
P01033	x		x		x			x	x	Adult	18361515
P01034	x	x	x		x			x	x	Adult	18361515
P01036	x	x	x	x	x				x	Adult	18361515; 1843457
P01037	x		x	x	x				x	Adult	18361515; 1843457
P01040	x		x	x	x			x	x	Adult	18361515; 1843457
P01042				x		x		x	x	Adult	17614365

P01042-2	x							x	x	Adult	18361515
P01133	x		x					x	x	Adult	18361515
P01584					x			275355	+	Adult	21109482
P01591	x	x	x	x	x			x	x	Adult	18361515; 1843457
P01593	x		x		x			x	x	Adult	18361515
P01594	x		x		x				x	Adult	18361515
P01596	x		x		x		x	x	x	Adult	18361515
P01597	x		x					x	x	Adult	18361515
P01598	x		x		x			x	x	Adult	18361515
P01599	x		x		x			x	x	Adult	18361515
P01600	x		x		x				x	Adult	18361515
P01601	x		x					x	x	Adult	18361515
P01602	x		x					x	x	Adult	18361515
P01604	x		x					x	x	Adult	18361515
P01605	x			x	x				x	Adult	18361515
P01606	x		x					x	x	Adult	18361515
P01607	x				x			x	x	Adult	18361515
P01608	x		x		x			x	x	Adult	18361515
P01609	x		x		x			x	x	Adult	18361515
P01610	x		x		x			x	x	Adult	18361515
P01611	x		x		x			x	x	Adult	18361515
P01612	x		x		x			x	x	Adult	18361515
P01613	x		x		x			x	x	Adult	18361515
P01614	x			x	x				x	Adult	17614365
P01616	x	x	x		x			x	x	Adult	18361515
P01617	x	x	x		x			x	x	Adult	18361515
P01619	x		x					x	x	Adult	18361515
P01620	x	x	x	x	x		x	x	x	Adult	18361515
P01621	x		x		x			x	x	Adult	18361515
P01622	x		x		x			x	x	Adult	18361515
P01623	x		x		x			x	x	Adult	18361515
P01624	x		x		x			x	x	Adult	18361515
P01625	x				x		x	x	x	Adult	16103422
P01699					x			x	x	Adult	17614365
P01700				x	x			x	x	Adult	17614365
P01701	x		x					x	x	Adult	18361515
P01702	x		x		x				x	Adult	18361515
P01703	x							x	x		18439290
P01706	x							x	x	Adult	18361515
P01707	x		x					x	x	Adult	18361515
P01708					x			x	x	Adult	17614365
P01714	x		x	x	x			x	x	Adult	18361515
P01715				x				x	x		18439290
P01716			x					x	x	Adult	18361515
P01717					x			x	x	Adult	18361515

P01719	x		x					x	x	Adult	18361515
P01742	x		x					x	x	Adult	18361515
P01743	x		x		x			x	x	Adult	18361515
P01762	x		x		x			x	x	Adult	18361515
P01763	x				x			x	x	Adult	18361515
P01764	x		x		x		x	x	x	Adult	18361515
P01765	x	x	x		x			x	x	Adult	18361515
P01766	x		x		x		x	x	x	Adult	18361515
P01767	x		x		x			x	x	Adult	18361515
P01768	x							x	x	Adult	18361515
P01769	x							x	x	Adult	18361515
P01770	x		x		x			x	x	Adult	18361515
P01771	x		x		x				x	Adult	18361515
P01772	x		x						x	Adult	18361515
P01773	x				x			x	x		18439290
P01774					x				x	Adult	17614365
P01775	x								x	Adult	18361515
P01776	x		x		x				x	Adult	18361515
P01777	x		x		x		x	x	x	Adult	18361515
P01778	x							x	x	Adult	18361515
P01779	x		x		x			x	x	Adult	18361515
P01780	x		x		x			x	x	Adult	18361515
P01781	x		x		x			x	x	Adult	18361515
P01817	x							x	x	Adult	18361515
P01824	x								x	Adult	18361515
P01825					x				x	Adult	17614365
P01833	x	x	x	x	x			x	x	Adult	18361515; 1843457
P01834	x		x	x	x	x	x	x	x	Adult	18361515; 1843457
P01842	x		x	x	x	x	x	x	x	Adult	18361515; 1843457
P01854					x			x	x		18439290
P01857	x		x	x	x	x	x	x	x	Adult	18361515; 1843457
P01859	x		x	x	x	x	x	x	x	Adult	18361515
P01860	x		x		x	x	x	x	x	Adult	18361515
P01861	x		x		x	x	x	x	x	Adult	18361515
P01871		x		x	x		x	x	x	Adult	16103422
P01871-1	x		x						x	Adult	18361515
P01876	x		x	x	x	x	x	x	x	Adult	18361515; 1843457
P01877	x			x	x		x	x	x	Adult	18434574
P01878					x				x	Adult	15386514
P01880	x							x	x	Adult	18361515
P01880-2	x								x	Adult	18361515

P01889											Adult	17614365	
P01891											Adult	17614365	
P01892											Adult	17614365	
P01903		x									Adult	19199708	
P01909											Adult	19297561	
P01911										275355	+	Adult	19297561
P01912												18439290	
P01916											Adult	19297561	
P01922												17973290	
P01945											Adult	20215060	
P02008											Adult	19297561	
P02023												17973290	
P02042		x		x	x	x	x	x	x			Adult	18361515
P02051												Adult	20215060
P02100		x									Adult	18361515	
P02144											Adult	18361515	
P02261											Adult	17614365	
P02452		x									Adult	18361515	
P02461												17973290	
P02489											Adult	18361515	
P02511											Adult	18361515	
P02533		x		x	x	x	x	x	x		Adult	18361515	
P02538		x		x	x	x	x	x	x		Adult	18361515	
P02545		x		x	x	x	x	x	x		Adult	18361515; 1843457	
P02545-1											Adult	16103422	
P02545-2											Adult	18361515	
P02545-3											Adult	18361515	
P02549											Adult	19118452	
P02570											Adult	16402355	
P02647		x		x	x	x	x	x	x		Adult	18361515	
P02649		x									Adult	18361515	
P02652		x		x	x	x	x	x	x		Adult	18361515	
P02656											Adult	17614365	
P02671		x									Adult	18361515	
P02671-1											Adult	16103422	
P02671-2		x									Adult	18361515	
P02675		x									Adult	18361515	
P02679		x									Adult	18361515	
P02679-1											Adult	16103422	
P02679-2		x									Adult	18361515	
P02730											Adult	17614365	
P02735		x									Adult	18361515	
P02741												18439290	
P02743											Adult	18361515	
P02746											Adult	17614365	

P02747								x	x	Adult	17614365
P02748								x	x	Adult	19118452
P02749	x		x					x	x	Adult	18361515
P02750	x		x					x	x	Adult	18361515
P02751	x		x				x	x	x	Adult	18361515
P02751-2	x		x						x	Adult	18361515
P02751-3	x		x						x	Adult	18361515
P02751-4	x		x						x	Adult	18361515
P02751-7	x		x						x	Adult	18361515
P02751-8	x		x						x	Adult	18361515
P02751-9	x		x						x	Adult	18361515
P02753	x		x				x	x	x	Adult	18361515
P02760								x	x	Adult	19118452
P02763	x		x	x		x		x	x	Adult	18361515
P02765	x		x					x	x	Adult	18361515
P02766	x		x	x				x	x	Adult	18361515
P02768	x		x	x		x		x	x	Adult	18361515; 1843457
P02768-2	x		x						x	Adult	18361515
P02771								x	x		18439290
P02774	x		x	x		x		x	x	Adult	18361515
P02786								x	x		18439290
P02787	x		x	x		x		x	x	Adult	18361515; 1843457
P02788	x	x	x	x		x		x	x	Adult	18361515; 1843457
P02790	x		x	x				x	x	Adult	18361515
P02792								x	x	Adult	19297561
P02794								x	x		18439290
P02808	x		x					x	x	Adult	18361515
P02810	x		x	x					x	Adult	16103422
P02811									x	Adult	15359733
P02812	x							x	x	Adult	18434574
P02813									x	Adult	15359733
P02814	x		x						x	Adult	18361515
P03915	x								x	Adult	18361515
P03950	x		x						x	Adult	18361515
P03952			x					x	x	Adult	18361515
P03973	x		x					x	x	Adult	18361515
P03989			x						x	Adult	18361515
P03996									x	Adult	15473691
P04003								x	x	Adult	17614365
P04004	x		x					x	x	Adult	18361515
P04040	x		x					x	x	Adult	18361515
P04066	x							x	x	Adult	18361515

P04075	x	x	x	x	x		x	x	x	Adult	18361515; 1843457
P04080	x	x	x	x	x	x	x	x	x	Adult	18361515
P04083	x	x	x	x	x	x	x	x	x	Adult	18361515
P04114				x	x		x	x	x	Adult	16103422
P04155					x				x	Adult	17614365
P04179				x	x		x	x	x	Adult	17614365
P04181			x						x	Adult	18361515
P04196			x		x			x	x	Adult	18361515
P04206	x	x	x		x	x		x	x	Adult	18361515
P04207	x				x			x	x	Adult	18361515
P04208	x				x			x	x	Adult	18361515
P04209	x		x					x	x	Adult	18361515
P04211	x		x		x			x	x	Adult	18361515
P04217	x		x		x			x	x	Adult	18361515
P04220	x	x	x		x			x	x	Adult	18361515
P04222					x			x	x	Adult	17614365
P04229							x		x	Adult	19297561
P04233							x	x	x		18439290
P04259	x	x	x		x	x	x	x	x	Adult	18361515
P04264	x	x	x	x	x	x	x	x	x	Adult	18361515
P04280	x		x	x	x				x	Adult	18361515; 1843457
P04281					x				x	Adult	15359733
P04350	x		x	x	x			x	x	Adult	18361515
P04406	x		x	x	x	x	x	x	x	Adult	18361515
P04430					x			x	x	Adult	17614365
P04431	x	x	x					x	x	Adult	18361515
P04433	x		x	x	x			x	x	Adult	18361515
P04434	x		x		x			x	x	Adult	18361515
P04439					x		x		x	Adult	17614365
P04440							x	x	x		18439290
P04632		x		x	x		x	x	x	Adult	16103422
P04745	x	x	x		x				x	Adult	18361515
P04746	x		x		x				x	Adult	18361515
P04792	x	x	x	x	x		x	x	x	Adult	18361515
P04839					x				x	Adult	17614365
P04843				x	x		x	x	x	Adult	17614365
P04844				x	x		x	x	x	Adult	17614365
P04899		x			x		x	x	x	Adult	17614365
P04908		x		x	x				x	Adult	17614365
P05023		x		x	x		x	x	x	Adult	17614365
P05026				x							270150
P05067	x	x			x			x	x	Adult	18361515
P05067-2					x				x	Adult	18361515
P05067-3	x								x	Adult	18361515

P05067-4	x							x	Adult	18361515	
P05067-5	x							x	Adult	18361515	
P05067-6	x							x	Adult	18361515	
P05067-7	x							x	Adult	18361515	
P05067-8	x							x	Adult	18361515	
P05067-9	x							x	Adult	18361515	
P05089	x		x		x			x	x	Adult	18361515
P05089-1					x				x	Adult	16103422
P05089-2			x						x	Adult	18361515
P05090			x		x			x	x	Adult	18361515
P05091			x		x		x	x	x	Adult	18361515
P05092					x				x	Adult	15473691
P05107					x			x	x	Adult	17614365
P05109	x	x	x	x	x		x	x	x	Adult	18361515; 1843457
P05120					x			x	x	Adult	17614365
P05141	x			x	x		x	x	x	Adult	18361515
P05155			x				x	x	x	Adult	18361515
P05156					x			x	x	Adult	17614365
P05161							x	x	x		18439290
P05164	x		x		x	x		x	x	Adult	18361515
P05164-1					x				x	Adult	16103422
P05164-2	x		x						x	Adult	18361515
P05164-3	x		x		x				x	Adult	18361515
P05198					x		x	x	x	Adult	16103422
P05204					x				x	Adult	17614365
P05231					x			x	x		18439290
P05362							x	x	x		18439290
P05386					x			x	x	Adult	16103422
P05387	x		x		x		x	x	x	Adult	18361515
P05388	x			x	x		x	x	x	Adult	18361515
P05452					x			x	x	Adult	17614365
P05455							x		x	Adult	19297561
P05534					x			x	x	Adult	17614365
P05783	x	x	x	x	x		x	x	x		18439290
P05787	x	x	x	x	x	x	x	x	x	Adult	18361515
P05976					x		x	x	x	Adult	17614365
P06309	x		x		x				x	Adult	18361515
P06310	x	x	x		x			x	x	Adult	18361515
P06311	x		x						x	Adult	18361515
P06312	x		x		x				x	Adult	18361515
P06313	x		x		x			x	x	Adult	18361515
P06314	x		x		x			x	x	Adult	18361515
P06316	x		x					x	x	Adult	18361515
P06317	x								x	Adult	18361515
P06319			x					x	x	Adult	18361515

P06326	x		x					x	x	Adult	18361515
P06331	x		x		x			x	x	Adult	18361515
P06396	x	x	x	x	x		x	x	x	Adult	18361515
P06454							x	x	x		18439290
P06576	x	x	x	x	x		x	x	x	Adult	18361515
P06681					x			x	x	Adult	19118452
P06702	x	x	x	x	x	x	x	x	x	Adult	18361515; 1843457
P06703	x	x	x	x	x				x	Adult	18361515
P06727	x		x		x			x	x	Adult	18361515
P06730							x	x	x		18439290
P06731			x		x			x	x	Adult	18361515
P06732							x	x	x		18439290
P06733	x	x	x	x	x		x	x	x	Adult	18361515
P06737	x		x		x		x	x	x	Adult	18361515
P06741					x				x	Adult	17614365
P06744	x	x	x		x		x	x	x	Adult	18361515
P06748	x			x	x		x		x	Adult	18361515
P06748-2			x						x	Adult	18361515
P06753				x	x		x		x	Adult	17614365
P06753-2					x				x	Adult	19118452
P06756							x	x	x		18439290
P06865	x		x					x	x	Adult	18361515
P06870	x		x		x			x	x	Adult	18361515
P06870-2	x		x						x	Adult	18361515
P06889	x		x						x	Adult	18361515
P06899				x	x				x	Adult	17614365
P07029				x	x			x	x	Adult	17614365
P07093	x							x	x	Adult	18361515
P07099					x		x		x	Adult	17614365
P07108					x			x	x	Adult	16103422
P07108-2	x		x						x	Adult	18361515
P07151					x				x	Adult	15386514
P07195	x		x	x	x		x	x	x	Adult	18361515
P07196					x			x	x	Adult	17614365
P07197					x			x	x	Adult	17614365
P07203					x		x	x	x	Adult	17614365
P07205					x			x	x	Adult	17614365
P07237	x	x	x	x	x		x	x	x	Adult	18361515
P07305				x	x			x	x	Adult	17614365
P07339	x		x		x		x	x	x	Adult	18361515
P07355	x	x	x	x	x	x	x	x	x	Adult	18361515
P07358					x			x	x	Adult	17614365
P07360					x			x	x	Adult	16103422
P07384	x	x	x		x		x	x	x	Adult	18361515
P07437	x		x	x	x		x	x	x	Adult	18361515

P07451			x					x	x	Adult	18361515
P07476	x	x	x		x		x	x	x	Adult	18361515
P07477	x		x						x	Adult	18361515
P07585				x		x		x	x		18439290
P07602	x		x	x	x			x	x	Adult	18361515
P07602-2	x		x						x	Adult	18361515
P07602-3	x		x						x	Adult	18361515
P07686	x		x		x				x	Adult	18361515
P07711	x		x		x			x	x	Adult	18361515
P07737	x		x	x	x	x	x	x	x	Adult	18361515
P07738					x			x	x	Adult	17614365
P07741				x	x		x	x	x	Adult	17614365
P07743					x				x	Adult	15386514
P07814					x		x	x	x	Adult	17614365
P07858	x	x	x	x	x				x	Adult	18361515
P07864					x			x	x	Adult	17614365
P07900		x		x	x		x	x	x	Adult	16103422
P07900-2	x		x						x	Adult	18361515
P07910				x	x		x	x	x	Adult	16103422
P07910-1					x				x	Adult	19118452
P07919					x				x	Adult	17614365
P07947		x						x	x	Adult	19199708
P07951			x	x	x		x	x	x	Adult	18361515
P07954			x		x		x	x	x	Adult	18361515
P07988					x			x	x	Adult	19118452
P07996	x	x	x		x		x	x	x	Adult	18361515
P07998			x		x			x	x	Adult	18361515
P08107	x	x	x	x	x		x	x	x	Adult	18361515
P08123	x			x			x	x	x	Adult	18361515
P08133					x		x	x	x	Adult	17614365
P08134		x			x				x	Adult	18361515
P08174-2	x								x	Adult	18361515
P08185	x							x	x	Adult	18361515
P08195	x	x	x				x	x	x	Adult	18361515
P08238	x		x	x	x		x	x	x	Adult	18361515
P08240		x						x	x	Adult	19199708
P08246			x		x			x	x	Adult	18361515
P08294			x		x			x	x	Adult	18361515
P08311	x		x	x	x	x		x	x	Adult	18361515
P08476	x							x	x	Adult	18361515
P08493	x	x	x		x				x	Adult	18361515
P08519					x			x	x	Adult	19118452
P08559							x	x	x		18439290
P08571	x	x	x		x			x	x	Adult	18361515
P08574				x	x		x	x	x	Adult	17614365
P08575					x		x	x	x	Adult	17614365

P08582	x	x	x	x			x	x	Adult	18361515
P08590				x				x	Adult	17614365
P08603	x		x	x			x	x	Adult	18361515
P08603-2			x					x	Adult	18361515
P08637				x			x	x	Adult	17614365
P08670	x		x	x	x	x	x	x	Adult	18361515
P08708				x			x	x	Adult	17614365
P08727	x	x	x	x	x	x	x	x	Adult	18361515
P08729	x		x	x	x	x		x	Adult	18361515
P08754				x		x		x	Adult	17614365
P08758	x	x	x	x	x	x		x	Adult	18361515
P08779	x	x	x	x		x		x	Adult	18361515
P08865			x	x	x	x		x	Adult	18361515
P09104			x		x			x	Adult	18361515
P09110				x				x	Adult	17614365
P09132				x					Adult	19364392
P09211	x	x	x	x	x	x		x	Adult	18361515
P09228	x		x		x			x	Adult	18361515
P09237			x					x	Adult	18361515
P09382				x		x		x	Adult	18439290
P09417				x				x	Adult	19118452
P09429				x		x		x	Adult	17614365
P09467				x	x			x	Adult	19118452
P09471	x			x				x	Adult	18361515
P09471-2	x							x	Adult	18361515
P09486	x					x		x	Adult	18361515
P09493				x				x	Adult	17614365
P09497				x				x	Adult	17614365
P09525		x	x	x	x	x		x	Adult	18361515
P09543		x				x		x	Adult	19199708
P09601				x				x	Adult	17614365
P09622				x		x		x	Adult	17614365
P09651				x	x	x		x	Adult	17614365
P09668	x			x				x	Adult	18361515
P09669				x				x	Adult	18439290
P09758				x		x		x	Adult	17614365
P09914						x		x	Adult	19297561
P09917				x				x	Adult	17614365
P09958	x	x	x	x				x	Adult	18361515
P09960	x			x	x			x	Adult	18361515
P09960-1				x				x	Adult	16103422
P09960-2	x			x				x	Adult	18361515
P09972	x			x	x	x		x	Adult	18361515
P0C0L4	x					x		x	Adult	18361515
P0C0S5				x					Adult	19364392
P0C0S8	x			x				x	Adult	18361515

P0C7P1											Adult	16103422
P0CG05		x									Adult	19199708
P10114											Adult	17614365
P10145												18439290
P10153											Adult	18361515
P10163											Adult	18361515; 1843457
P10253												18439290
P10301												18439290
P10314											Adult	17614365
P10316											Adult	17614365
P10319											Adult	17614365
P10321											Adult	17614365
P10412											Adult	18361515
P10586											Adult	18361515
P10586-2											Adult	18361515
P10599											Adult	18361515
P10606											Adult	17614365
P10619											Adult	18361515
P10636											Adult	18361515
P10636-2											Adult	18361515
P10636-3											Adult	18361515
P10636-4											Adult	18361515
P10636-5											Adult	18361515
P10636-7											Adult	18361515
P10636-9											Adult	18361515
P10643											Adult	19118452
P10768											Adult	17614365
P10781											Adult	16103422
P10809											Adult	18361515
P10909											Adult	18361515
P10909-2											Adult	18361515
P10911												18439290
P11021											Adult	18361515
P11047											Adult	19199708
P11055											Adult	17614365
P11142											Adult	18361515
P11142-1											Adult	16103422
P11166												18439290
P11177												18439290
P11215											Adult	17614365
P11216											Adult	18361515
P11217											Adult	18361515
P11233											Adult	17614365
P11234											Adult	17614365
P11279											Adult	17614365

P11413			x		x			x	x	Adult	18361515
P11413-2			x		x				x	Adult	18361515
P11488					x			x	x	Adult	17614365
P11586					x		x	x	x	Adult	17614365
P11678	x				x	x		x	x	Adult	18361515
P11684			x		x			x	x	Adult	18361515
P11717							x	x	x		18439290
P11766					x			x	x	Adult	17614365
P11802					x			x	x		18439290
P11908							x	x	x		18439290
P11940			x		x		x	x	x	Adult	18361515
P11940-2			x						x	Adult	18361515
P12004			x				x		x	Adult	18361515
P12035	x		x		x	x	x	x	x	Adult	18361515
P12036			x		x			x	x	Adult	18361515
P12074					x				x	Adult	17614365
P12081					x		x	x	x	Adult	17614365
P12109	x	x	x	x	x		x	x	x	Adult	18361515
P12110	x	x	x	x			x	x	x	Adult	18361515
P12110-2	x		x						x	Adult	18361515
P12111			x	x			x	x	x	Adult	18361515
P12111-2			x						x	Adult	18361515
P12235					x		x	x	x	Adult	18361515
P12236					x	x		x	x	Adult	18361515
P12268					x		x	x	x	Adult	17614365
P12273	x	x	x	x	x			x	x	Adult	18361515; 1843457
P12277	x				x			x	x	Adult	18361515
P12429	x		x	x	x	x	x	x	x	Adult	18361515
P12532					x		x	x	x	Adult	17614365
P12645			x					x	x	Adult	19199708
P12724					x				x	Adult	17614365
P12814	x	x	x	x	x		x	x	x	Adult	18361515
P12830	x		x		x		x	x	x	Adult	18361515
P12838					x			x	x		18439290
P12882			x		x			x	x	Adult	18361515
P12883					x			x	x	Adult	17614365
P12956					x		x	x	x	Adult	16103422
P13010							x	x	x		18439290
P13073					x	x		x	x	Adult	17614365
P13164							x	x	x		18439290
P13473					x			x	x		18439290
P13489	x				x		x	x	x	Adult	18361515
P13533	x		x		x			x	x	Adult	18361515
P13535					x			x	x	Adult	17614365
P13612					x			x	x		18439290

P13637	x		x		x				x	x	Adult	18361515
P13639	x	x	x	x	x			x	x	x	Adult	18361515
P13645	x	x	x		x	x	x		x	x	Adult	18361515
P13646	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	Adult	18361515
P13647	x	x	x	x	x	x	x		x	x	Adult	18361515
P13667	x			x				x	x	x	Adult	18361515
P13671					x				x		Adult	19118452
P13674								x	x	x		18439290
P13688	x	x	x		x				x	x	Adult	18361515
P13688-2			x							x	Adult	18361515
P13688-3					x					x	Adult	18361515
P13688-4					x					x	Adult	18361515
P13688-5					x					x	Adult	18361515
P13688-6					x					x	Adult	18361515
P13693			x	x	x		x		x	x	Adult	18361515
P13716				x	x				x	x	Adult	17614365
P13727							x			x	Adult	19297561
P13746					x		x			x	Adult	17614365
P13746-2	x				x					x	Adult	18361515
P13761							x		x	x		18439290
P13796	x		x	x	x	x	x		x	x	Adult	18361515
P13797	x		x		x	x	x		x	x	Adult	18361515
P13798					x				x	x	Adult	17614365
P13804			x	x	x		x		x	x	Adult	18361515
P13807					x				x	x	Adult	17614365
P13861					x				x	x	Adult	17614365
P13928	x				x		x		x	x	Adult	18361515
P13929				x	x				x	x	Adult	17614365
P13942					x				x	x		18439290
P13987	x	x	x	x	x					x	Adult	18361515
P14136					x	x			x		Adult	20205380
P14174	x		x	x	x					x	Adult	18361515
P14314	x			x	x				x	x	Adult	18361515
P14317					x		x		x	x	Adult	17614365
P14324					x		x			x	Adult	17614365
P14406					x		x			x	Adult	17614365
P14550		x		x	x		x		x	x	Adult	17614365
P14555					x					x	Adult	17614365
P14598					x				x	x	Adult	17614365
P14618		x		x	x	x	x		x	x	Adult	20205380
P14618-1	x		x	x						x	Adult	18361515; 1843457
P14618-2	x		x		x					x	Adult	18361515
P14625	x	x	x	x	x		x		x	x	Adult	18361515
P14649					x		x		x	x	Adult	17614365
P14735			x		x				x	x	Adult	18361515

P14780			x					x	x	Adult	18361515
P14789									x	Adult	16103422
P14843								x		275355 - Adult	16568407
P14854									x	Adult	17614365
P14866								x	x		18439290
P14868								x	x	Adult	17614365
P14923	x		x	x	x			x	x	Adult	18361515
P14927								x		Adult	19297561
P15088									x		18439290
P15090									x	Adult	16103422
P15104									x	Adult	16103422
P15121									x	Adult	17614365
P15144									x	Adult	19199708
P15153	x			x	x	x				Adult	18361515
P15157										270150 Adult	19364392
P15170									x	Adult	17614365
P15259									x	Adult	16103422
P15289	x								x	Adult	18361515
P15291	x			x					x	Adult	18361515
P15309									x	Adult	18361515
P15309-2										Adult	18361515
P15311	x			x	x	x			x	Adult	18361515
P15313									x	Adult	17614365
P15328	x			x						Adult	18361515
P15374										Adult	17614365
P15502-1										Adult	18361515
P15502-10										Adult	18361515
P15502-2										Adult	18361515
P15502-3										Adult	18361515
P15502-4										Adult	18361515
P15502-5										Adult	18361515
P15502-6										Adult	18361515
P15502-7										Adult	18361515
P15502-8										Adult	18361515
P15502-9										Adult	18361515
P15515	x									Adult	18361515
P15516	x									Adult	18361515; 1843457
P15531										Adult	16103422
P15532										275355 + Adult	16568407
P15559										Adult	16103422
P15586										Adult	19118452
P15814	x									Adult	18361515
P15822										Adult	18361515
P15880										Adult	17614365
P15924	x									Adult	18361515

P15924-1				x						Adult	16103422
P15941		x						x	x	Adult	19199708
P15954						x			x	Adult	19297561
P16035				x				x	x	Adult	17614365
P16070		x	x			x		x	x	Adult	18361515
P16070-10				x					x	Adult	18361515
P16070-12				x					x	Adult	18361515
P16070-4				x					x	Adult	18361515
P16083				x				x	x	Adult	16103422
P16104			x	x		x		x	x	Adult	18361515
P16144		x		x		x		x	x	Adult	19199708
P16152	x	x		x	x			x	x	Adult	18361515
P16157				x				x	x	Adult	17614365
P16188				x					x	Adult	17614365
P16189				x					x	Adult	17614365
P16190				x					x	Adult	17614365
P16219				x				x	x	Adult	17614365
P16233	x							x	x	Adult	18361515
P16278				x				x	x		18439290
P16401			x	x		x			x	Adult	17614365
P16402			x	x					x	Adult	18361515
P16403			x	x	x	x		x	x	Adult	18361515
P16435				x				x	x	Adult	17614365
P16444			x					x	x	Adult	18361515
P16499				x				x	x		18439290
P16520			x					x	x		18439290
P16562				x				x	x	Adult	17614365
P16615			x	x		x		x	x	Adult	17614365
P16870			x	x				x	x	Adult	18361515
P16930				x				x	x	Adult	19118452
P16989				x		x		x	x	Adult	17614365
P17014				x					x	Adult	15800970
P17066	x	x	x	x				x	x	Adult	18361515
P17081				x				x	x	Adult	17614365
P17174	x	x	x	x		x		x	x	Adult	18361515
P17213	x		x	x	x			x	x	Adult	18361515; 1843457
P17317				x				x	x	Adult	17614365
P17540				x				x	x	Adult	17614365
P17542						x		x		Adult	20205380
P17655		x		x				x	x	Adult	16103422
P17661				x				x	x	Adult	17614365
P17693						x		x	x		18439290
P17787				x				x	x		18439290
P17844						x		x	x		18439290
P17858		x		x		x		x	x	Adult	17614365

P17858-2										x	Adult	16103422	
P17861										x	Adult	15800970	
P17900	x		x		x					x	x	Adult	18361515
P17931	x	x	x	x	x		x			x	x	Adult	18361515
P17987			x		x		x			x	x	Adult	18361515
P18054					x					x	x	Adult	17614365
P18077				x	x					x	x	Adult	17614365
P18085	x			x	x					x	x	Adult	18361515
P18124			x	x	x		x			x	x	Adult	18361515
P18135	x	x	x	x	x					x	x	Adult	18361515; 1843457
P18136	x		x		x					x	x	Adult	18361515
P18206	x			x	x		x			x	x	Adult	18361515
P18206-2	x		x		x						x	Adult	18361515
P18462					x					x	x	Adult	17614365
P18463					x						x	Adult	17614365
P18464					x						x	Adult	17614365
P18465					x		x				x	Adult	17614365
P18510	x		x		x						x	Adult	18361515
P18510-2	x		x								x	Adult	18361515
P18510-3	x		x								x	Adult	18361515
P18510-4	x		x								x	Adult	18361515
P18621					x		x			x	x	Adult	17614365
P18669	x		x		x		x			x	x	Adult	18361515
P18754							x			x	x		18439290
P18827							x			x	x		18439290
P18859					x					x	x	Adult	17614365
P19012	x	x	x		x	x	x			x	x	Adult	18361515
P19013	x	x	x		x	x	x			x	x	Adult	18361515
P19021	x	x	x		x					x	x	Adult	18361515
P19021-1					x						x	Adult	16103422
P19021-2	x		x								x	Adult	18361515
P19087					x					x	x	Adult	17614365
P19105				x	x		x				x	Adult	16103422
P19338			x		x		x			x	x	Adult	18361515
P19367					x		x			x	x	Adult	17614365
P19525							x			x	x		18439290
P19634		x								x	x	Adult	19199708
P19652	x		x		x	x				x	x	Adult	18361515
P19801					x						x	Adult	15800970
P19823	x		x		x					x	x	Adult	18361515
P19827			x		x		x			x	x	Adult	18361515
P19957			x		x					x	x	Adult	18361515
P19961	x		x	x	x					x	x	Adult	18361515; 1843457
P19971					x		x			x	x	Adult	17614365

P20036					x			x	Adult	19297561
P20042					x		x	x		18439290
P20061	x		x	x				x	x	Adult 18361515; 1843457
P20062	x							x	x	Adult 18361515
P20073		x				x		x	x	Adult 17614365
P20151			x					x	x	Adult 18361515
P20151-2									x	Adult 18361515
P20151-3									x	Adult 18361515
P20160			x					x	x	18439290
P20290						x		x	x	18439290
P20309								x	x	18439290
P20336			x						x	Adult 17614365
P20337									x	Adult 17614365
P20338								x	x	Adult 17614365
P20339						x		x	x	Adult 17614365
P20340						x			x	Adult 17614365
P20591						x		x	x	Adult 17614365
P20592						x		x	x	Adult 17614365
P20618						x		x	x	Adult 17614365
P20645						x		x	x	18439290
P20648	x							x	x	Adult 18361515
P20670								x	x	Adult 17614365
P20671	x								x	Adult 18361515
P20674								x	x	Adult 17614365
P20700						x		x	x	Adult 16103422
P20702								x	x	Adult 17614365
P20742	x		x					x	x	Adult 18361515
P20774								x	x	18439290
P20810								x	x	Adult 17614365
P20810-2									x	Adult 16103422
P20827	x							x	x	Adult 18361515
P20908								x	x	18439290
P20929								x	x	Adult 17614365
P20930	x		x					x	x	Adult 18361515
P20933	x		x	x				x	x	Adult 18361515
P21128	x		x					x	x	Adult 18361515
P21217		x						x	x	Adult 19199708
P21246	x							x	x	Adult 18361515
P21266								x	x	18439290
P21281		x	x					x	x	Adult 18361515
P21291								x	x	Adult 17614365
P21333	x		x	x				x	x	Adult 18361515
P21333-2	x		x						x	Adult 18361515
P21397								x	x	18439290
P21673										275355 + Adult 21109482

P21728					x				x	x		18439290
P21741	x								x	x	Adult	18361515
P21796	x			x	x			x	x	x	Adult	18361515
P21810	x			x				x		x	Adult	18361515
P21817-2				x						x	Adult	18361515
P21817-3					x					x	Adult	18361515
P21926	x	x	x	x	x			x		x	Adult	18361515
P21964					x				x	x	Adult	17614365
P22061	x				x			x	x	x	Adult	18361515
P22061-2	x									x	Adult	18361515
P22079	x			x	x				x	x	Adult	18361515
P22087					x			x	x	x		18439290
P22090					x			x	x	x	Adult	17614365
P22102								x	x	x		18439290
P22234					x			x	x	x	Adult	17614365
P22307					x			x	x	x	Adult	17614365
P22314	x	x	x	x	x			x	x	x	Adult	18361515
P22352									x	x	Adult	19199708
P22392	x	x	x	x	x			x	x	x	Adult	18361515
P22492					x				x	x	Adult	17614365
P22528	x				x					x	Adult	18361515
P22531					x					x	Adult	18361515
P22532					x					x	Adult	18361515
P22570					x				x	x		18439290
P22626					x	x		x	x	x	Adult	17614365
P22695	x				x			x	x	x	Adult	18361515
P22712								x		x	Adult	20205380
P22735	x	x			x			x	x	x	Adult	18361515
P22792					x				x	x	Adult	17614365
P22894					x	x	x		x	x	Adult	18361515
P23083	x									x	Adult	18361515
P23141									x	x		18439290
P23142					x					x	Adult	19118452
P23229									x	x		18439290
P23246					x					x	Adult	17614365
P23280	x				x	x				x	Adult	18361515; 1843457
P23284	x				x					x	Adult	18361515
P23381						x				x	Adult	17614365
P23396					x					x	Adult	18361515
P23526					x					x	Adult	18361515
P23527						x				x	Adult	17614365
P23528	x				x					x	Adult	18361515
P23588									x	x		18439290
P23786									x	x		18439290
P23921									x	x		18439290

P27635					x		x		x	x	Adult	17614365
P27695					x				x	x	Adult	19118452
P27701		x							x	x	Adult	19199708
P27707							x		x	x		18439290
P27797	x	x	x	x	x				x	x	Adult	18361515
P27816					x		x		x	x	Adult	18361515
P27816-2			x							x	Adult	18361515
P27816-4					x					x	Adult	18361515
P27816-5					x					x	Adult	18361515
P27824	x			x	x		x		x	x	Adult	18361515
P27918			x		x				x	x	Adult	18361515
P28001					x		x			x	Adult	17614365
P28062					x		x			x	Adult	19118452
P28065							x		x	x		18439290
P28066					x		x		x	x	Adult	16103422
P28070					x		x		x	x	Adult	16103422
P28072					x				x	x	Adult	17614365
P28074					x				x	x	Adult	17614365
P28288					x				x	x	Adult	17614365
P28325	x	x	x	x	x				x	x	Adult	18361515; 1843457
P28331							x		x	x		18439290
P28482					x		x		x	x	Adult	16103422
P28562					x				x	x		18439290
P28676					x				x	x	Adult	16103422
P28799	x		x		x				x	x	Adult	18361515
P28838					x		x		x	x	Adult	17614365
P29034			x		x		x			x	Adult	18361515
P29218					x				x	x	Adult	17614365
P29373	x		x		x		x		x	x	Adult	18361515
P29401				x	x	x	x		x	x	Adult	20205380
P29508	x		x		x		x		x	x	Adult	18361515
P29590							x		x	x		18439290
P29622	x								x	x	Adult	18361515
P29692				x	x		x		x	x	Adult	16103422
P29728							x		x	x		18439290
P29777					x				x	x	Adult	17614365
P29966					x		x		x	x	Adult	16103422
P29992		x							x	x	Adult	19199708
P30038			x				x		x	x	Adult	18361515
P30040				x	x		x		x	x	Adult	16103422
P30041	x		x	x	x		x		x	x	Adult	18361515
P30042					x				x	x	Adult	17614365
P30043				x	x		x			x	Adult	16103422
P30044	x	x	x	x	x		x		x	x	Adult	18361515
P30046			x		x				x	x	Adult	18361515

P30048				x	x		x	x	Adult	17614365
P30049							x	x		18439290
P30050				x	x		x	x	Adult	17614365
P30084				x	x		x	x	Adult	17614365
P30085				x	x		x	x	Adult	17614365
P30086	x	x	x	x	x			x	Adult	18361515
P30101	x	x	x	x	x		x	x	Adult	18361515
P30153				x	x		x	x	Adult	18361515
P30154					x		x	x	Adult	17614365
P30405					x		x	x	Adult	16103422
P30443		x			x		x	x	Adult	17614365
P30447					x		x	x	Adult	17614365
P30450					x			x	Adult	17614365
P30453					x			x	Adult	17614365
P30455					x			x	Adult	17614365
P30456					x			x	Adult	17614365
P30457					x			x	Adult	17614365
P30459					x			x	Adult	17614365
P30460					x			x	Adult	17614365
P30461					x		x	x	Adult	17614365
P30462					x		x	x	Adult	17614365
P30464					x			x	Adult	17614365
P30466					x			x	Adult	17614365
P30475					x			x	Adult	17614365
P30479					x		x	x	Adult	17614365
P30480					x			x	Adult	17614365
P30481					x			x	Adult	18361515
P30483					x			x	Adult	17614365
P30484					x			x	Adult	17614365
P30485					x			x	Adult	17614365
P30486					x			x	Adult	17614365
P30487					x			x	Adult	17614365
P30488					x			x	Adult	17614365
P30490					x			x	Adult	17614365
P30491					x			x	Adult	17614365
P30492					x			x	Adult	17614365
P30493					x			x	Adult	17614365
P30495					x			x	Adult	17614365
P30499							x	x	Adult	19297561
P30501					x			x	Adult	17614365
P30505					x			x	Adult	17614365
P30508					x			x	Adult	17614365
P30512					x			x	Adult	17614365
P30519					x		x	x	Adult	17614365
P30520					x		x	x	Adult	18361515
P30533							x	x	Adult	18439290

P30536					x		x	x			18439290
P30566				x			x	x		Adult	17614365
P30613			x	x			x		170650	+	Adult 20205380
P30622-1			x					x			Adult 16103422
P30654					x				260950	-	Adult 20205380
P30685			x					x			Adult 17614365
P30712			x					x			Adult 17614365
P30740	x		x	x	x		x	x			Adult 18361515
P30838	x		x	x	x		x	x			Adult 18361515
P30988						x	x	x			18439290
P31025	x		x	x			x	x		Adult	18361515
P31040			x	x	x		x	x			Adult 18361515
P31146	x		x	x	x			x			Adult 18361515
P31150	x			x	x		x	x			Adult 18361515
P31151	x		x	x	x		x	x		Adult	18361515
P31153						x	x	x			18439290
P31431		x					x	x		Adult	19199708
P31689						x	x	x			18439290
P31930				x	x		x	x		Adult	17614365
P31937				x			x	x		Adult	17614365
P31939				x	x		x	x		Adult	17614365
P31942				x	x		x	x		Adult	16103422
P31943	x		x	x	x		x	x		Adult	18361515
P31944	x		x	x			x	x		Adult	18361515
P31946	x	x	x	x	x			x		Adult	18361515
P31946-1					x			x		Adult	19118452
P31947	x		x	x	x		x	x		Adult	18361515
P31948						x	x	x			18439290
P31949	x	x	x	x	x		x	x		Adult	18361515
P31997			x	x			x	x		Adult	18361515
P32119	x	x	x	x	x		x	x		Adult	18361515
P32320			x	x				x		Adult	18361515
P32455						x	x	x			18439290
P32456						x	x	x			18439290
P32926	x		x	x	x		x	x		Adult	18361515
P32969				x			x	x		Adult	17614365
P33241				x			x	x		Adult	17614365
P33260				x			x	x			18439290
P33778				x				x		Adult	17614365
P33908	x		x				x	x		Adult	18361515
P34096	x		x	x				x		Adult	18361515
P34896				x			x	x		Adult	17614365
P34897			x	x			x	x		Adult	18361515
P34931	x			x	x		x	x		Adult	18361515
P34932			x	x	x		x	x		Adult	18361515
P34947				x			x	x			18439290

P35030	x		x					x	x		Adult	18361515	
P35030-1					x				x		Adult	16103422	
P35030-2	x		x						x		Adult	18361515	
P35052		x							x		Adult	19199708	
P35080								x	x	x		18439290	
P35221				x	x		x	x	x		Adult	16103422	
P35222	x	x			x		x	x	x		Adult	18361515	
P35232				x	x		x	x	x		Adult	17614365	
P35237				x	x		x	x	x		Adult	17614365	
P35241					x		x		x		Adult	16103422	
P35250						x		x		170650	+	Adult	20205380
P35268				x	x		x	x	x		Adult	17614365	
P35269					x			x	x		Adult	17614365	
P35270				x				x	x			18439290	
P35318	x								x		Adult	18361515	
P35321	x		x		x	x			x		Adult	18361515	
P35325	x		x		x				x		Adult	18361515	
P35326	x		x		x				x		Adult	18361515	
P35442				x	x			x	x		Adult	18361515	
P35475	x			x				x	x		Adult	18361515	
P35527	x	x	x		x	x	x	x	x		Adult	18361515	
P35556					x				x	x		18439290	
P35573					x		x	x	x		Adult	17614365	
P35579	x	x	x	x	x	x	x	x	x		Adult	18361515	
P35580	x				x				x	x	Adult	18361515	
P35606				x	x		x	x	x		Adult	17614365	
P35609					x		x	x	x		Adult	17614365	
P35749				x	x			x	x		Adult	17614365	
P35754		x		x	x				x		Adult	17614365	
P35813					x			x	x		Adult	17614365	
P35900					x	x		x		260950	-	Adult	20205380
P35908	x	x	x		x	x	x	x	x		Adult	18361515	
P35998					x		x	x	x		Adult	17614365	
P36222					x			x		125853	+	Adult	19118452
P36405				x				x	x			18439290	
P36406					x			x	x		Adult	15800970	
P36507					x			x	x		Adult	17614365	
P36542							x	x	x			18439290	
P36543		x			x		x	x	x		Adult	17614365	
P36578				x	x		x	x	x		Adult	17614365	
P36871			x		x		x	x	x		Adult	18361515	
P36871-2					x				x		Adult	16103422	
P36873				x	x		x		x		Adult	17614365	
P36952	x		x		x		x	x	x		Adult	18361515	
P36955	x		x		x			x	x		Adult	18361515	
P36957				x	x			x	x		Adult	17614365	

P37023	x						x	x	Adult	18361515
P37108				x			x	x		18439290
P37235				x			x	x		18439290
P37802	x	x	x	x	x	x	x	x	Adult	18361515
P37837	x		x	x	x	x	x	x	Adult	18361515
P38117						x	x	x		18439290
P38159						x	x	x		18439290
P38405			x		x			x	Adult	18361515
P38606		x	x		x	x	x	x	Adult	18361515
P38646			x	x	x	x	x	x	Adult	18361515
P38919					x	x	x	x	Adult	17614365
P38935			x				x	x	Adult	18361515
P39019	x			x	x	x	x	x	Adult	18361515
P39023					x	x		x	Adult	17614365
P39060	x						x	x	Adult	18361515
P39060-2					x			x	Adult	18361515
P39060-3					x			x	Adult	18361515
P39656				x	x	x		x	Adult	17614365
P39687					x		x	x	Adult	17614365
P40121			x		x	x	x	x	Adult	18361515
P40189	x		x				x	x	Adult	18361515
P40199			x				x	x	Adult	18361515
P40227			x	x	x	x	x	x	Adult	18361515
P40394	x				x	x	x	x	Adult	18361515
P40616				x			x	x		18439290
P40763					x	x	x	x	Adult	17614365
P40818					x		x	x	Adult	17614365
P40925			x	x	x	x	x	x	Adult	18361515
P40926	x		x	x	x	x	x	x	Adult	18361515
P40939					x	x	x	x	Adult	17614365
P41091					x	x	x	x	Adult	17614365
P41218					x		x	x	Adult	17614365
P41219					x		x	x	Adult	16103422
P41250					x		x	x	Adult	17614365
P41252						x	x	x		18439290
P42025					x		x	x	Adult	17614365
P42166						x	x	x		18439290
P42167-1					x			x	Adult	16103422
P42224						x	x	x		18439290
P42226					x		x	x	Adult	17614365
P42357			x				x	x	Adult	18361515
P42677				x		x		x	Adult	19364392
P42704						x	x	x		18439290
P42765					x		x	x	Adult	17614365
P42766				x	x			x	Adult	17614365
P42785	x		x		x		x	x	Adult	18361515

P43034				x			x	x	Adult	17614365
P43243				x		x	x	x	Adult	17614365
P43251	x		x	x			x	x	Adult	18361515
P43304						x	x	x		18439290
P43307			x	x			x	x	Adult	17614365
P43405				x			x	x	Adult	17614365
P43487				x				x	Adult	17614365
P43490			x	x		x	x	x	Adult	18361515
P43652			x	x			x	x	Adult	18361515
P43686				x	x	x	x	x	Adult	17614365
P45877	x		x				x	x	Adult	18361515
P45880				x	x	x	x	x	Adult	17614365
P45880-2	x							x	Adult	18361515
P45880-3			x					x	Adult	18361515
P45954				x			x	x	Adult	17614365
P45973			x					x	Adult	18361515
P45974				x		x	x	x	Adult	17614365
P45985				x			x	x	Adult	17614365
P46013						x	x	x		18439290
P46063				x			x	x		18439290
P46108				x			x	x	Adult	17614365
P46109				x		x	x	x	Adult	17614365
P46459				x		x	x	x	Adult	17614365
P46531				x			x	x		18439290
P46776				x	x	x		x	Adult	17614365
P46777			x	x	x	x	x	x	Adult	18361515
P46778						x		x	Adult	19297561
P46779				x			x	x		18439290
P46781				x	x	x		x	Adult	17614365
P46782			x	x	x		x	x	Adult	18361515
P46783				x		x	x	x		18439290
P46926		x			x			x	Adult	16103422
P46939					x		x	x		18439290
P46940	x	x	x	x	x	x	x	x	Adult	18361515
P46976			x		x		x	x	Adult	19118452
P46976-2					x			x	Adult	18361515
P47755				x	x		x	x	Adult	17614365
P47756	x	x	x	x	x	x	x	x	Adult	18361515
P47756-1					x			x	Adult	16103422
P47756-2	x							x	Adult	18361515
P47813					x		x	x	Adult	17614365
P47897					x	x	x	x	Adult	17614365
P47914				x	x	x	x	x	Adult	17614365
P47929	x	x	x		x	x	x	x	Adult	18361515
P47972				x			x	x		18439290
P47985						x		x	Adult	19297561

P48047	x		x	x		x	x		Adult	18361515	
P48147				x		x	x		Adult	17614365	
P48163	x		x	x		x	x		Adult	18361515	
P48444			x	x		x	x		Adult	17614365	
P48556						x	x			18439290	
P48594	x		x	x		x	x		Adult	18361515	
P48595				x		x	x		Adult	17614365	
P48634				x		x	x			18439290	
P48637				x		x	x		Adult	19118452	
P48643				x		x	x		Adult	17614365	
P48666				x		x	x		Adult	17614365	
P48667				x	x		x	260950	-	Adult	20205380
P48668	x		x	x	x	x	x		Adult	18361515	
P48669					x		x	260950	-	Adult	20205380
P48723		x					x	x		Adult	19199708
P48729						x	x	x			18439290
P48735			x	x	x	x	x		Adult	18361515	
P48739						x	x	x			18439290
P48741					x		x	x	Adult	17614365	
P49189			x	x	x	x	x		Adult	18361515	
P49207				x				270150		Adult	19364392
P49257		x	x		x	x	x		Adult	18361515	
P49327				x	x	x	x		Adult	18434574	
P49368					x	x	x		Adult	17614365	
P49411				x	x	x	x		Adult	17614365	
P49419						x	x	x			18439290
P49427					x			170650	+	Adult	20205380
P49441					x		x		Adult	17614365	
P49448					x		x		Adult	18361515	
P49588						x	x	x			18439290
P49591					x		x	x	Adult	17614365	
P49593					x		x	x	Adult	17614365	
P49720			x		x		x	x	Adult	18361515	
P49721					x		x	x	Adult	19118452	
P49736						x		170650	+	Adult	20205380
P49748				x	x		x	x	Adult	17614365	
P49755				x	x		x	x	Adult	17614365	
P49756					x		x	x	Adult	17614365	
P49773					x		x	x	Adult	17614365	
P49788	x		x				x	x	Adult	18361515	
P49788-2					x			x	Adult	18361515	
P49795					x			x	Adult	17614365	
P49821					x		x		Adult	17614365	
P49862				x	x		x	x	Adult	18361515	
P49902					x		x	x	Adult	17614365	
P49908	x		x	x			x	x	Adult	18361515	

P49913				x					x	Adult	17614365	
P50135				x					x	Adult	16103422	
P50148		x							x	x	Adult	19199708
P50213			x			x			x	x	Adult	18361515
P50225				x						x	Adult	17614365
P50226				x						x	Adult	17614365
P50238				x					x	x	Adult	17614365
P50395	x		x	x	x	x			x	x	Adult	18361515
P50402						x				x	Adult	19297561
P50440			x						x	x	Adult	18361515
P50440-2			x							x	Adult	18361515
P50452				x					x	x		18439290
P50453						x			x	x		18439290
P50454						x			x	x		18439290
P50502				x		x				x	Adult	17614365
P50549				x					x	x		18439290
P50552				x		x			x	x	Adult	17614365
P50570				x					x	x	Adult	17614365
P50570-2	x		x							x	Adult	18361515
P50851				x					x	x	Adult	17614365
P50897			x						x	x	Adult	18361515
P50914				x	x	x			x	x	Adult	17614365
P50990				x		x			x	x	Adult	17614365
P50991				x		x			x	x	Adult	17614365
P50993				x					x	x	Adult	17614365
P50995	x			x	x	x			x	x	Adult	18361515
P51148		x		x		x			x	x	Adult	17614365
P51149			x	x	x	x				x	Adult	18361515
P51153				x					x	x	Adult	17614365
P51452				x						x	Adult	17614365
P51571				x		x			x	x		18439290
P51572				x					x	x	Adult	17614365
P51648				x		x			x	x	Adult	17614365
P51659				x		x			x	x	Adult	17614365
P51665	x			x		x				x	Adult	18361515
P51884				x	x	x			x	x	Adult	19118452
P51888	x					x			x	x	Adult	18361515
P51911				x					x	x		18439290
P51991				x		x			x	x	Adult	17614365
P51993	x	x	x						x	x	Adult	18361515
P51993-2	x		x							x	Adult	18361515
P52209	x		x	x		x			x	x	Adult	18361515
P52272				x		x			x	x	Adult	17614365
P52272-1				x						x	Adult	16103422
P52294				x					x	x	Adult	17614365
P52565			x	x	x	x	x			x	Adult	18361515

P52566	x		x	x	x	x	x		Adult	18361515		
P52597	x		x	x	x	x	x		Adult	18361515		
P52746				x		x	x			18439290		
P52790				x		x	x		Adult	17614365		
P52823	x					x	x		Adult	18361515		
P52888					x	x	x			18439290		
P52895				x			x		Adult	17614365		
P52907				x	x	x	x		Adult	17614365		
P52943				x		x	x		Adult	17614365		
P53004				x		x	x		Adult	16103422		
P53396			x	x		x	x		Adult	18361515		
P53582					x	x	x			18439290		
P53597					x	x	x			18439290		
P53602				x		x	x		Adult	17614365		
P53618				x	x	x	x		Adult	17614365		
P53621		x		x	x	x	x		Adult	17614365		
P53634	x	x	x		x	x	x		Adult	18361515		
P53675				x	x		x	x	Adult	17614365		
P53680					x			x	Adult	19297561		
P53985					x	x	x			18439290		
P53990		x			x	x	x		Adult	19199708		
P53992				x		x	x		Adult	17614365		
P53999				x	x	x	x		Adult	17614365		
P54108	x		x		x		x	x	Adult	18361515		
P54136				x	x	x	x		Adult	17614365		
P54368				x		x	x			18439290		
P54577				x	x	x	x		Adult	17614365		
P54578					x	x	x			18439290		
P54652				x	x	x	x	170650	+	Adult	20205380	
P54709					x			x		Adult	19297561	
P54710				x		x	x			18439290		
P54725					x	x	x			18439290		
P54727					x	x	x			18439290		
P54802	x		x		x	x	x		Adult	18361515		
P54819				x	x	x	x		Adult	17614365		
P54819-2				x				x	Adult	19118452		
P54920				x	x	x	x		Adult	17614365		
P55008				x				x	Adult	16103422		
P55010				x		x	x		Adult	17614365		
P55011		x				x	x		Adult	19199708		
P55056				x		x	x			18439290		
P55058	x		x		x	x	x		Adult	18361515		
P55060				x	x	x	x		Adult	17614365		
P55064		x				x	x		Adult	19199708		
P55072	x		x	x	x	x	x		Adult	18361515		
P55081					x			x	170650	+	Adult	20205380

P55084				x		x		x	x	Adult	17614365	
P55196				x				x	x	Adult	17614365	
P55209						x			x	Adult	19297561	
P55211				x				x	x		18439290	
P55263						x		x	x		18439290	
P55268	x	x	x					x	x	Adult	18361515	
P55287-2	x								x	Adult	18361515	
P55327				x				x	x		18439290	
P55786	x		x	x	x			x	x	Adult	18361515	
P55795				x					x	Adult	17614365	
P55854				x					x	Adult	17614365	
P55884						x		x	x		18439290	
P56134				x					x	Adult	17614365	
P56381				x						270150	Adult	19364392
P56385				x				x	x		18439290	
P56537				x				x	x	Adult	17614365	
P56556						x			x	Adult	19297561	
P56945				x				x	x		18439290	
P57053				x	x			x	x	Adult	18361515	
P57078				x				x	x	Adult	17614365	
P57721				x				x	x	Adult	17614365	
P57735				x					x	Adult	17614365	
P58062				x					x	Adult	18361515	
P58107				x		x		x	x	Adult	17614365	
P58499	x	x	x	x					x	Adult	18361515	
P58499-1				x					x	Adult	16103422	
P58499-2	x		x						x	Adult	18361515	
P58546				x	x			x	x	Adult	17614365	
P58876				x	x	x			x	Adult	18361515	
P59190				x	x	x		x	x	Adult	17614365	
P59665	x	x	x	x	x	x		x	x	Adult	18361515	
P59666	x			x	x				x	Adult	18361515	
P59768	x							x	x	Adult	18361515	
P59998				x	x	x			x	Adult	17614365	
P60022	x			x					x	Adult	18361515	
P60033				x				x	x	Adult	17614365	
P60174				x	x	x		x	x	Adult	17614365	
P60174-1				x					x	Adult	16103422	
P60174-2				x					x	Adult	16103422	
P60228						x		x	x		18439290	
P60468				x		x				270150	Adult	19364392
P60510				x					x	Adult	17614365	
P60660	x			x	x	x			x	Adult	18361515	
P60709	x	x	x	x	x	x		x	x	Adult	18361515; 1843457	
P60763				x					x	Adult	17614365	

P60842		x	x	x		x		x		Adult	18361515	
P60866				x		x		x			18439290	
P60900		x		x		x		x		Adult	18361515	
P60903	x		x	x		x		x		Adult	18361515	
P60953		x		x				x		Adult	17614365	
P60953-2				x					125853	+	Adult	19118452
P60981			x	x		x		x		Adult	17614365	
P60983				x				x		Adult	17614365	
P60985				x				x		Adult	17614365	
P61006				x		x		x		Adult	17614365	
P61009			x						270150		Adult	19364392
P61018				x				x		Adult	17614365	
P61019			x	x		x		x		Adult	16103422	
P61020				x				x		Adult	17614365	
P61026	x		x	x		x		x		Adult	18361515	
P61077				x						Adult	17614365	
P61086						x		x			18439290	
P61088			x	x						Adult	16103422	
P61106	x		x	x		x				Adult	18361515	
P61158			x	x	x	x		x		Adult	18361515	
P61160		x		x		x		x		Adult	16103422	
P61163				x				x		Adult	17614365	
P61201						x		x			18439290	
P61204			x	x				x		Adult	17614365	
P61221						x		x			18439290	
P61224		x								Adult	19199708	
P61225				x						Adult	17614365	
P61247	x			x		x		x		Adult	18361515	
P61254			x	x		x				Adult	17614365	
P61289						x		x			18439290	
P61313			x	x		x		x		Adult	17614365	
P61353				x		x			270150		Adult	19364392
P61421		x						x		Adult	19199708	
P61513				x					270150		Adult	19364392
P61586	x		x	x	x	x				Adult	18361515	
P61604			x	x	x	x		x		Adult	18361515	
P61616	x								270150	+	Adult	16522680
P61619				x	x					Adult	17614365	
P61626	x	x	x	x	x	x		x		Adult	18361515; 1843457	
P61769	x	x	x	x	x	x		x		Adult	18361515; 1843457	
P61803				x					270150		Adult	19364392
P61916	x		x		x			x		Adult	18361515	
P61923				x		x			270150		Adult	19364392
P61956				x						Adult	17614365	

P61960					x			x	x	Adult	17614365
P61966				x			x	x	x		18439290
P61970					x				x	Adult	17614365
P61978			x	x	x		x	x	x	Adult	18361515
P61978-2			x						x	Adult	18361515
P61981	x	x	x		x		x	x	x	Adult	18361515
P62081			x	x	x		x		x	Adult	18361515
P62136					x		x	x	x	Adult	17614365
P62140		x			x			x	x	Adult	17614365
P62158	x	x	x	x	x			x	x	Adult	18361515
P62195							x	x	x		18439290
P62241				x			x	x	x		18439290
P62244			x	x			x	x	x	Adult	17614365
P62249			x	x			x	x	x	Adult	17614365
P62253					x			x	x	Adult	17614365
P62258	x	x	x	x	x		x	x	x	Adult	18361515
P62263				x	x		x	x	x	Adult	17614365
P62266			x	x			x		x	Adult	17614365
P62269			x	x			x	x	x	Adult	17614365
P62273					x		x		x	Adult	17614365
P62277			x	x			x		x	Adult	17614365
P62280			x	x			x		x	Adult	17614365
P62306			x	x				x	x	Adult	17614365
P62308							x		x	Adult	19297561
P62312			x							Adult	19364392
P62314					x			x	x	Adult	17614365
P62316					x				x	Adult	19118452
P62318							x	x	x		18439290
P62328	x		x		x	x		x	x	Adult	18361515
P62330					x				x	Adult	17614365
P62333					x		x	x	x	Adult	17614365
P62424	x			x	x		x	x	x	Adult	18361515
P62491					x			x	x	Adult	17614365
P62495							x	x	x		18439290
P62701			x	x			x	x	x	Adult	17614365
P62714					x			x	x	Adult	17614365
P62736			x	x			x	x	x	Adult	16103422
P62745					x				x	Adult	17614365
P62750				x	x		x		x	Adult	17614365
P62753			x	x	x		x		x	Adult	18361515
P62760					x			x	x	Adult	17614365
P62805	x	x	x	x	x	x	x	x	x	Adult	18361515
P62807			x		x	x	x		x	Adult	18361515
P62820			x	x	x			x	x	Adult	18361515
P62826					x			x	x	Adult	16103422
P62829					x		x	x	x	Adult	17614365

270150

P62837				x				x	x	Adult	17614365
P62841			x	x		x			x	Adult	17614365
P62847			x	x				x	x	Adult	17614365
P62851			x	x		x			x	Adult	17614365
P62854			x	x		x		x	x	Adult	17614365
P62857			x	x		x			x	Adult	17614365
P62873	x	x	x	x					x	Adult	18361515
P62879	x	x		x				x	x	Adult	18361515
P62888			x	x		x			x	Adult	17614365
P62899			x	x				x	x	Adult	17614365
P62906				x		x		x	x	Adult	19297561
P62910				x					x	Adult	17614365
P62913			x	x		x		x	x	Adult	17614365
P62917				x		x			x	Adult	17614365
P62937	x		x	x	x	x		x	x	Adult	18361515
P62942				x	x	x		x	x	Adult	17614365
P62979	x	x	x						x	Adult	18361515
P62987	x		x	x	x				x	Adult	18361515
P62988				x	x	x	x	x		Adult	170650 + 20205380
P62993					x			x	x	Adult	17614365
P62995			x					x	x	Adult	18361515
P63000					x				x	Adult	17614365
P63010				x	x				x	Adult	17614365
P63027	x				x				x	Adult	18361515
P63092				x	x				x	Adult	17614365
P63092-1					x				x	Adult	18361515
P63092-2					x				x	Adult	18361515
P63096					x			x	x	Adult	17614365
P63104	x	x	x	x	x	x		x	x	Adult	18361515
P63151					x				x	Adult	17614365
P63167					x				x	Adult	17614365
P63208					x			x	x	Adult	17614365
P63220				x	x	x		x	x	Adult	17614365
P63241	x		x	x	x	x			x	Adult	18361515
P63241-2	x		x						x	Adult	18361515
P63244			x	x	x	x		x	x	Adult	18361515
P63261	x		x		x			x	x	Adult	18361515
P63267					x				x	Adult	17614365
P63279						x			x	Adult	19297561
P63313					x			x	x	Adult	18439290
P67775					x			x	x	Adult	17614365
P67809				x	x	x		x	x	Adult	17614365
P67812				x				x	x	Adult	18439290
P67936					x	x		x	x	Adult	16103422
P67936-2					x					Adult	125853 - 19118452
P68032	x		x		x			x	x	Adult	18361515

P68036					x		x		x	x	Adult	16103422
P68104		x	x	x	x		x		x	x	Adult	18361515
P68133	x	x	x		x		x		x	x	Adult	18361515
P68363	x		x	x	x		x		x	x	Adult	18361515
P68366		x		x	x		x		x	x	Adult	17614365
P68371	x		x	x	x		x		x	x	Adult	18361515
P68400					x					x	Adult	17614365
P68402					x				x	x	Adult	17614365
P68431				x	x				x	x	Adult	17614365
P68871	x		x	x	x	x	x	x	x	x	Adult	18361515
P69891			x	x					x	x	Adult	17614365
P69892				x					x	x	Adult	17614365
P69905	x		x	x	x	x	x		x	x	Adult	18361515; 1843457
P78324-3	x		x							x	Adult	18361515
P78344					x		x		x	x	Adult	17614365
P78352	x								x	x	Adult	18361515
P78368						x					Adult	20205380
P78371			x		x		x		x	x	Adult	18361515
P78385					x					x	Adult	17614365
P78386			x	x	x				x	x	Adult	18361515
P78417			x	x	x		x		x	x	Adult	18361515
P78527				x			x		x	x		18439290
P80188	x		x	x	x	x			x	x	Adult	18361515; 1843457
P80303	x	x	x		x				x	x	Adult	18361515
P80362					x				x	x	Adult	17614365
P80404				x					x	x		18439290
P80419	x		x						x	x	Adult	18361515
P80511			x		x					x	Adult	18361515
P80723			x		x				x	x	Adult	18361515
P80748	x		x		x				x	x	Adult	18361515
P81605	x		x	x		x	x		x	x	Adult	18361515; 1843457
P83593			x		x				x	x	Adult	18361515
P83731				x					x	x		18439290
P84077		x			x					x	Adult	16103422
P84085	x				x					x	Adult	18361515
P84090					x		x			x	Adult	17614365
P84095					x				x	x	Adult	17614365
P84098					x		x		x	x	Adult	17614365
P84103							x		x	x		18439290
P84243	x		x		x					x	Adult	18361515
P97361					x					x	Adult	15386514
P98088	x	x	x		x					x	Adult	18361515
P98160		x	x	x					x	x	Adult	18361515

P98179					x					x	Adult	17614365	
P99999	x		x	x	x			x		x	Adult	18361515	
PO9211								x			275355 +	Adult	16568407
Q00169					x					x	x		18439290
Q00325			x	x	x			x		x	x	Adult	18361515
Q00325-2			x								x	Adult	18361515
Q00341								x		x	x		18439290
Q00403					x					x	x		18439290
Q00577					x					x	x	Adult	17614365
Q00610	x	x	x	x	x			x		x	x	Adult	18361515
Q00610-1					x						x	Adult	16103422
Q00610-2	x		x								x	Adult	18361515
Q00688								x		x	x		18439290
Q00765				x						x	x		18439290
Q00796					x			x		x	x	Adult	17614365
Q00839				x	x			x		x	x	Adult	17614365
Q00888-1	x										x	Adult	18361515
Q01082					x			x		x	x	Adult	16103422
Q01105			x		x			x		x	x	Adult	18361515
Q01105-2			x								x	Adult	18361515
Q01201								x		x	x	Adult	20205380
Q01212					x						x	Adult	18361515
Q01449								x		x	x		18439290
Q01459	x				x					x	x	Adult	18361515
Q01469	x		x		x	x		x		x	x	Adult	18361515
Q01518	x	x	x		x			x		x	x	Adult	18361515
Q01546	x		x		x	x				x	x	Adult	18361515
Q01650								x		x	x		18439290
Q01780					x					x	x	Adult	17614365
Q01813					x			x		x	x	Adult	17614365
Q01970					x					x	x		18439290
Q01995				x						x	x		18439290
Q02388								x		x	x		18439290
Q02413	x		x		x			x		x	x	Adult	18361515
Q02487	x	x	x		x			x		x	x	Adult	18361515
Q02487-2	x		x								x	Adult	18361515
Q02539					x					x	x	Adult	17614365
Q02543				x	x			x		x	x	Adult	17614365
Q02750					x						x	Adult	17614365
Q02790					x			x		x	x	Adult	17614365
Q02809	x		x							x	x	Adult	18361515
Q02817			x		x					x	x	Adult	18361515
Q02818	x	x	x		x					x	x	Adult	18361515
Q02878				x	x			x		x	x	Adult	17614365
Q03113			x	x						x	x	Adult	17614365
Q03135								x		x	x		18439290

Q03154				x				x	x	Adult	18361515
Q03167		x						x	x	Adult	19199708
Q03169						x		x	x	Adult	20205380
Q03252				x		x		x	x	Adult	17614365
Q03426				x				x	x	Adult	17614365
Q03518						x		x	x		18439290
Q03591				x				x	x	Adult	16103422
Q04118	x		x	x				x	x	Adult	18361515; 1843457
Q04446					x			x	x	Adult	17614365
Q04609	x	x						x	x	Adult	18361515
Q04609-2					x				x	Adult	18361515
Q04609-6					x				x	Adult	18361515
Q04637				x		x		x	x	Adult	17614365
Q04695	x	x	x	x	x	x		x	x	Adult	18361515
Q04760					x			x	x	Adult	17614365
Q04826					x				x	Adult	17614365
Q04828				x		x		x	x	Adult	16103422
Q04837					x			x	x	Adult	17614365
Q04864					x			x	x	Adult	17614365
Q04917	x	x	x	x		x			x	Adult	18361515
Q04941					x				x	Adult	17614365
Q05639					x			x	x	Adult	16103422
Q05655					x			x	x	Adult	17614365
Q05682						x		x	x		18439290
Q05707				x				x	x	Adult	18361515
Q06323				x	x		x	x	x	Adult	19118452
Q06481		x						x	x	Adult	19199708
Q06828	x			x				x	x	Adult	18361515
Q06830	x	x	x	x	x		x	x	x	Adult	18361515
Q07000					x				x	Adult	17614365
Q07020				x	x		x		x	Adult	16103422
Q07021							x	x	x		18439290
Q07065				x			x		x	Adult	19364392
Q07131					x			x	x	Adult	16103422
Q07157					x			x	x	Adult	17614365
Q07157-1					x				x	Adult	16103422
Q07283					x			x	x	Adult	17614365
Q07507					x				x	Adult	19364392
Q07654				x		x			x	Adult	18361515
Q07954					x			x	x		18439290
Q07955					x		x	x	x	Adult	17614365
Q07960					x		x	x	x	Adult	17614365
Q08043				x		x		x	x	Adult	18361515
Q08174				x				x	x	Adult	18361515
Q08174-2					x				x	Adult	18361515

Q08188	x	x	x	x	x	x	x	x	Adult	18361515
Q08209				x			x	x	Adult	17614365
Q08209-2				x				x	Adult	19118452
Q08211			x		x		x	x		18439290
Q08257			x		x		x	x		18439290
Q08345	x	x					x	x	Adult	18361515
Q08345-2				x				x	Adult	18361515
Q08357		x						x	Adult	19199708
Q08380	x	x	x	x	x		x	x	Adult	18361515
Q08426			x				x	x	Adult	18361515
Q08431		x					x	x	Adult	19199708
Q08554	x		x	x			x	x	Adult	18361515
Q08805				x				x	Adult	15800970
Q08828					x		x		Adult	20205380
Q08EQ4			x					x	Adult	18361515
Q09160				x				x	Adult	17614365
Q09666	x	x	x	x	x	x	x	x	Adult	18361515
Q0QEL2	x		x					x	Adult	18361515
Q0V924				x				x	Adult	19118452
Q0VAC5	x		x					x	Adult	18361515
Q0VAN4		x						x	Adult	19199708
Q0VDC6			x	x				x	Adult	18361515
Q0ZCG7	x		x					x	Adult	18361515
Q0ZCH1	x		x					x	Adult	18361515
Q10471	x						x	x	Adult	18361515
Q10567				x	x		x	x	Adult	17614365
Q10588				x			x	x	Adult	19118452
Q10589					x		x	x		18439290
Q10713				x			x	x	Adult	17614365
Q10981		x					x	x	Adult	19199708
Q11201	x	x					x	x	Adult	18361515
Q12792				x	x		x	x	Adult	17614365
Q12797	x		x				x	x	Adult	18361515
Q12805-3				x				x	Adult	19118452
Q12841				x			x	x	Adult	17614365
Q12904				x	x		x	x	Adult	17614365
Q12905			x		x				Adult	19364392
Q12906				x			x	x	Adult	17614365
Q12907				x	x			x	Adult	19118452
Q12931	x		x	x	x	x	x	x	Adult	18361515
Q12965				x			x	x	Adult	17614365
Q13011			x	x			x	x	Adult	17614365
Q13045				x			x	x	Adult	17614365
Q13113					x			x	Adult	19297561
Q13151			x		x		x	x	Adult	18361515
Q13155					x		x	x		18439290

Q13162	x	x	x	x	x	x	x	x	Adult	18361515		
Q13177						x	x	x		18439290		
Q13185			x		x			x	Adult	18361515		
Q13200			x		x	x	x	x	Adult	18361515		
Q13217	x	x	x		x			x	Adult	18361515		
Q13228				x			x	x		18439290		
Q13231					x		x	x	Adult	17614365		
Q13231-1					x			x	Adult	16103422		
Q13231-3					x				125853	-	Adult	19118452
Q13232	x						x	x	Adult	18361515		
Q13263						x	x	x		18439290		
Q13283						x	x	x		18439290		
Q13287						x	x	x		18439290		
Q13310			x		x	x	x	x	Adult	18361515		
Q13332	x		x				x	x	Adult	18361515		
Q13332-2	x		x					x	Adult	18361515		
Q13332-3	x		x					x	Adult	18361515		
Q13332-4	x		x					x	Adult	18361515		
Q13347				x		x		x	Adult	17614365		
Q13349				x			x	x	Adult	17614365		
Q13402	x						x	x	Adult	18361515		
Q13402-2				x				x	Adult	18361515		
Q13402-5				x				x	Adult	18361515		
Q13402-6				x				x	Adult	18361515		
Q13402-7				x				x	Adult	18361515		
Q13404				x			x	x		18439290		
Q13409				x				x	Adult	17614365		
Q13421			x				x	x	Adult	18361515		
Q13421-3			x					x	Adult	18361515		
Q13423						x	x	x		18439290		
Q13438			x				x	x	Adult	18361515		
Q13438-2	x		x					x	Adult	18361515		
Q13438-3			x					x	Adult	18361515		
Q13459-2			x					x	Adult	18361515		
Q13505					x			x	Adult	18829504		
Q13509	x		x		x	x	x	x	Adult	18361515		
Q13510	x		x	x			x	x	Adult	18361515		
Q13510-2	x							x	Adult	18361515		
Q13546					x		x	x	Adult	17614365		
Q13554	x			x			x	x	Adult	18361515		
Q13554-2	x							x	Adult	18361515		
Q13554-3	x							x	Adult	18361515		
Q13554-4	x							x	Adult	18361515		
Q13554-5	x							x	Adult	18361515		
Q13554-6	x							x	Adult	18361515		
Q13554-7	x							x	Adult	18361515		

Q13555				x			x	x	Adult	18361515
Q13557				x			x	x	Adult	17614365
Q13561				x		x	x	x	Adult	17614365
Q13576				x			x	x		18439290
Q13586				x			x	x	Adult	17614365
Q13617				x			x	x	Adult	17614365
Q13618				x			x	x	Adult	17614365
Q13630				x	x			x	Adult	17614365
Q13671						x			Adult	20205380
Q13724		x		x			x	x	Adult	19199708
Q13748				x	x		x	x	Adult	17614365
Q13749				x				x	Adult	18361515
Q13751						x	x	x		18439290
Q13753						x	x	x		18439290
Q13763					x			x	Adult	15800970
Q13765				x		x		x	Adult	18361515
Q13787					x				Adult	19118452
Q13813	x			x	x	x	x	x	Adult	18361515
Q13813-1					x			x	Adult	16103422
Q13813-2				x				x	Adult	18361515
Q13813-3				x				x	Adult	18361515
Q13835	x			x	x	x	x	x	Adult	18361515
Q13835-2	x			x				x	Adult	18361515
Q13838				x	x		x	x	Adult	18361515
Q13867				x	x		x	x	Adult	18361515
Q13882					x		x	x	Adult	17614365
Q13885						x	x	x		18439290
Q14019					x			x	Adult	19118452
Q14031					x		x	x		18439290
Q14050	x						x	x	Adult	18361515
Q14103					x	x		x	Adult	17614365
Q14112						x	x	x		18439290
Q14118	x	x	x				x	x	Adult	18361515
Q14126							x	x	Adult	19199708
Q14134					x	x	x	x	Adult	17614365
Q14134-1					x			x	Adult	16103422
Q14151						x	x	x		18439290
Q14152					x	x	x	x	Adult	17614365
Q14157					x		x	x	Adult	17614365
Q14166					x	x	x	x	Adult	17614365
Q14194	x						x	x	Adult	18361515
Q14195						x	x	x		18439290
Q14203					x		x	x	Adult	17614365
Q14204		x			x	x	x	x	Adult	17614365
Q14210					x		x	x	Adult	17614365
Q14240					x	x	x	x	Adult	17614365

Q14242			x					x	x	Adult	18361515
Q14244	x								x	Adult	18361515
Q14247					x		x	x	x	Adult	17614365
Q14254					x		x	x	x	Adult	17614365
Q14315					x			x	x	Adult	17614365
Q14318					x			x	x	Adult	17614365
Q14344					x			x	x	Adult	17614365
Q14508	x		x		x				x	Adult	18361515
Q14512							x		x	Adult	19297561
Q14515	x		x		x			x	x	Adult	18361515
Q14525	x		x	x	x			x	x	Adult	18361515
Q14532	x		x		x		x	x	x	Adult	18361515
Q14533	x		x		x			x	x	Adult	18361515
Q14552					x				x	Adult	16103422
Q14566							x	x	x		18439290
Q14574	x				x		x	x	x	Adult	18361515
Q14574-1					x				x	Adult	16103422
Q14574-2					x				x	Adult	18361515
Q14602			x						x	Adult	18361515
Q14624					x			x	x	Adult	18361515
Q14624-2	x		x		x			x	x	Adult	18361515
Q14651			x		x			x	x	Adult	18361515
Q14654					x			x	x	Adult	17614365
Q14667					x			x	x		18439290
Q14677					x		x	x	x	Adult	17614365
Q14683					x			x	x	Adult	17614365
Q14697	x		x	x	x		x	x	x	Adult	18361515
Q14697-2	x		x						x	Adult	18361515
Q14764	x		x		x		x	x	x	Adult	18361515
Q14766	x							x	x	Adult	18361515
Q14766-2	x		x						x	Adult	18361515
Q14802	x		x					x	x	Adult	18361515
Q14802-2	x								x	Adult	18361515
Q14847					x			x	x	Adult	17614365
Q14894				x				x	x		18439290
Q14896							x	x	x		18439290
Q14914			x		x		x	x	x	Adult	18361515
Q14916					x			x	x		18439290
Q14964					x				x	Adult	17614365
Q14974				x	x		x	x	x	Adult	16103422
Q14980					x		x	x	x	Adult	17614365
Q149N8					x			x	x		18439290
Q14CN2			x						x	Adult	18361515
Q14CN4	x		x						x	Adult	18361515
Q15005				x				x	x		18439290
Q15008					x		x	x	x	Adult	17614365

Q15019				x	x		x	x	Adult	17614365
Q15029			x				x	x	Adult	18361515
Q15042				x			x	x	Adult	17614365
Q15046				x	x			x	Adult	17614365
Q15056				x				x	Adult	17614365
Q15057				x			x	x	Adult	17614365
Q15063					x		x	x		18439290
Q15067				x			x	x	Adult	17614365
Q15067-1				x				x	Adult	16103422
Q15075				x	x		x	x	Adult	17614365
Q15080				x			x	x	Adult	19118452
Q15084			x	x	x		x	x	Adult	16103422
Q15084-2	x		x					x	Adult	18361515
Q15126				x	x		x	x	Adult	17614365
Q15139				x			x	x		18439290
Q15149		x	x	x	x		x	x	Adult	18361515
Q15149-1				x				x	Adult	16103422
Q15155					x		x	x		18439290
Q15166		x					x	x	Adult	19199708
Q15181				x				x	Adult	17614365
Q15185					x		x	x		18439290
Q15214				x				x	Adult	15800970
Q15233					x		x	x		18439290
Q15257				x				x	Adult	17614365
Q15286			x	x				x	Adult	17614365
Q15293	x		x				x	x	Adult	18361515
Q15300				x				x	Adult	19118452
Q15323			x	x	x		x	x	Adult	18361515
Q15363			x		x				Adult	19364392
Q15365			x	x	x		x	x	Adult	17614365
Q15366			x	x	x		x	x	Adult	17614365
Q15389		x					x	x	Adult	19199708
Q15393				x			x	x	Adult	17614365
Q15404				x			x	x	Adult	16103422
Q15413-2			x					x	Adult	18361515
Q15417				x			x	x	Adult	17614365
Q15418					x		x	x	Adult	19297561
Q15436					x		x	x		18439290
Q15459					x		x	x		18439290
Q15517	x		x				x	x	Adult	18361515
Q15546				x				x	Adult	17614365
Q15582	x	x	x		x		x	x	Adult	18361515
Q15631				x			x	x	Adult	17614365
Q15642				x			x	x	Adult	16103422
Q15650				x			x	x	Adult	17614365
Q15661					x			x	Adult	19297561

270150

Q15691				x	x		x	x	Adult	17614365
Q15717					x			x	Adult	19297561
Q15738				x	x		x	x	Adult	17614365
Q15771				x			x	x	Adult	17614365
Q15782	x		x	x			x	x	Adult	18361515
Q15819				x				x	Adult	16103422
Q15836				x				x	Adult	17614365
Q15843					x		x	x		18439290
Q15847	x			x			x	x	Adult	18361515
Q15904	x		x				x	x	Adult	18361515
Q15907				x	x			x	Adult	17614365
Q16181				x	x		x	x	Adult	17614365
Q16186			x				x	x		18439290
Q16270	x						x	x	Adult	18361515
Q16348		x					x	x	Adult	19199708
Q16352				x			x	x	Adult	17614365
Q16363	x	x	x	x			x	x	Adult	18361515
Q16378	x		x	x				x	Adult	18361515
Q16401					x		x	x		18439290
Q16543				x	x		x	x	Adult	17614365
Q16555	x		x		x		x	x	Adult	18361515
Q16563			x						Adult	19364392
Q16566				x			x	x	Adult	16103422
Q16586	x							x	Adult	18361515
Q16586-2				x				x	Adult	18361515
Q16610	x	x	x	x			x	x	Adult	18361515
Q16651	x	x	x	x			x	x	Adult	18361515
Q16658				x	x		x	x	Adult	17614365
Q16659			x				x	x	Adult	18361515
Q16666					x		x	x		18439290
Q16695				x	x			x	Adult	17614365
Q16698			x				x	x		18439290
Q16706	x	x	x	x			x	x	Adult	18361515
Q16719				x	x		x	x		18439290
Q16762				x				x	Adult	17614365
Q16769	x		x	x			x	x	Adult	18361515
Q16774				x			x	x	Adult	17614365
Q16777	x		x	x				x	Adult	18361515
Q16778		x		x				x	Adult	16103422
Q16787					x		x	x		18439290
Q16824				x				x	Adult	18361515
Q16831				x			x	x	Adult	17614365
Q16842				x			x	x		18439290
Q16851	x			x	x			x	Adult	18361515
Q16851-2				x				x	Adult	18361515
Q16864		x					x	x	Adult	19199708

270150

Q16891			x		x		x	x				18439290
Q197M4				x				x			Adult	19118452
Q1HBA5				x				x			Adult	19118452
Q1T7A3				x				x			Adult	19118452
Q24JP5	x		x					x			Adult	18361515
Q24JP5-2				x				x			Adult	18361515
Q29685				x				x			Adult	15800970
Q29836				x				x			Adult	17614365
Q29940				x				x			Adult	17614365
Q29960				x				x			Adult	17614365
Q29963				x			x	x			Adult	17614365
Q29RF7-2			x					x			Adult	18361515
Q2I0M4	x	x	x					x			Adult	18361515
Q2KHM7				x				x	275355		Adult	18829504
Q2QD09				x				x			Adult	16103422
Q2TAL4				x				x			Adult	19118452
Q2TAY7						x		x			Adult	19297561
Q31612				x				x			Adult	17614365
Q32MM0				x				x			Adult	19118452
Q3KQV9-1			x					x			Adult	18361515
Q3L8U1	x						x	x			Adult	18361515
Q3LX97				x				x			Adult	19118452
Q3MNF1							x		275355	+	Adult	14730689
Q3ZCM7	x		x					x			Adult	18361515
Q49A69				x				x			Adult	19898684
Q4KMQ2		x						x			Adult	19199708
Q4LE82				x				x			Adult	19118452
Q4QZ40				x				x			Adult	19118452
Q4VAX6				x					125853	+	Adult	19118452
Q4VAY2	x		x					x			Adult	18361515
Q4VB24				x					125853	+	Adult	19118452
Q4VXC1				x				x			Adult	19118452
Q4W4Y1				x				x			Adult	19118452
Q53EL6						x		x			Adult	19297561
Q53EM5				x				x			Adult	19118452
Q53F10				x				x			Adult	19118452
Q53F48				x				x			Adult	19118452
Q53F89		x						x			Adult	19199708
Q53FT9				x				x			Adult	19118452
Q53G35				x				x			Adult	19118452
Q53G71				x				x			Adult	19118452
Q53H01				x				x			Adult	19118452
Q53H57				x				x			Adult	19118452
Q53HE2		x		x				x			Adult	19199708
Q53HM4				x				x			Adult	19118452
Q53HP2				x				x			Adult	19898684

Q53HS5				x				x	Adult	19118452
Q53RT3			x				x	x	Adult	18361515
Q53XB4				x				x	Adult	19118452
Q53YE8				x				x	Adult	19118452
Q548L2				x				x	Adult	19118452
Q549C7				x				x	Adult	19118452
Q562R1	x		x	x				x	Adult	18361515
Q56G89		x		x				x	Adult	19199708
Q58FF8			x					x	Adult	18361515
Q596K9					x		170650	+	Adult	20205380
Q59E99				x				x	Adult	19118452
Q59ER3				x				x	Adult	19118452
Q59FH0			x					x	Adult	18361515
Q59FP5				x				x	Adult	19118452
Q59HE3				x				x	Adult	19118452
Q5CAQ7				x				x	Adult	19118452
Q5D862	x		x					x	Adult	18361515
Q5EB52		x						x	Adult	19199708
Q5EBM2				x				x	Adult	18361515
Q5EFE5	x		x					x	Adult	18361515
Q5FBW3	x	x	x					x	Adult	18361515
Q5FC00	x	x	x	x				x	Adult	18361515
Q5GFL6	x	x	x					x	Adult	18361515
Q5J8M3-2	x							x	Adult	18361515
Q5JQ14				x				x	Adult	19118452
Q5JRR8				x				x	Adult	19118452
Q5JSZ5	x						x	x	Adult	18361515
Q5JSZ5-2			x					x	Adult	18361515
Q5JTH9	x		x				x	x	Adult	18361515
Q5JVP2				x				x	Adult	16103422
Q5JWF2		x		x				x	Adult	18361515
Q5JYW6			x					x	Adult	18361515
Q5M7Z5				x				x	Adult	18361515
Q5NV61	x		x					x	Adult	18361515
Q5NV62	x		x					x	Adult	18361515
Q5NV69	x	x						x	Adult	18361515
Q5NV79	x		x					x	Adult	18361515
Q5NV81	x		x					x	Adult	18361515
Q5NV82				x				x	Adult	19118452
Q5NV90	x		x					x	Adult	18361515
Q5NV91				x				x	Adult	19118452
Q5NV92	x		x					x	Adult	18361515
Q5QJE6	x							x	Adult	18361515
Q5QNW6			x					x	Adult	18361515
Q5SGD2	x	x						x	Adult	18361515
Q5SPY9				x				x	Adult	18361515

Q5STU3				x				x	Adult	18361515
Q5STX8				x				x	Adult	19118452
Q5SX90		x		x				x	Adult	19199708
Q5SYT8				x				x	Adult	18361515
Q5T0D9		x						x	Adult	19199708
Q5T0S6				x				x	Adult	18361515
Q5T1R4				x				x	Adult	15800970
Q5T230				x				x	Adult	15800970
Q5T2P7	x							x	Adult	18361515
Q5T2P8	x							x	Adult	18361515
Q5T3N1				x				x	Adult	18361515
Q5T3P3				x				x	Adult	19118452
Q5T4B6				x			275355		Adult	18829504
Q5T5G4				x				x	Adult	19118452
Q5T749	x		x					x	Adult	18361515
Q5T8U3				x				x	Adult	18361515
Q5T949				x				x	Adult	19118452
Q5T9C2						x		x	Adult	19297561
Q5T9E4				x				x	Adult	18361515
Q5TBN4				x				x	Adult	19118452
Q5TCI8				x			125853	-	Adult	19118452
Q5TD07				x				x	Adult	19118452
Q5TEC6				x				x	Adult	18361515
Q5TFM2				x				x	Adult	18361515
Q5TG39				x				x	Adult	18361515
Q5TZA2						x		x	Adult	19297561
Q5TZZ9							x		Adult	19522851
Q5U071				x				x	Adult	19118452
Q5UGI3	x		x					x	Adult	18361515
Q5VSP4			x					x	Adult	18361515
Q5VTE0	x		x					x	Adult	18361515
Q5VTM1	x			x				x	Adult	18361515
Q5VUP2				x				x	Adult	16103422
Q5VV63-2	x		x					x	Adult	18361515
Q5VW32		x						x	Adult	19199708
Q5VWQ0			x					x	Adult	18361515
Q5VXV3				x				x	Adult	19118452
Q5VY30			x	x				x	Adult	18361515
Q5VZE3				x			275355		Adult	18829504
Q5VZK9		x						x	Adult	19199708
Q5W0H4			x					x	Adult	18361515
Q5W9G3				x				x	Adult	18361515
Q5XKE5	x	x	x	x				x	Adult	18361515
Q5XXA6		x						x	Adult	19199708
Q60FE7				x				x	Adult	18361515
Q641Q3		x						x	Adult	19199708

Q658S9		x				x		Adult	19199708	
Q65ZC8	x		x			x		Adult	18361515	
Q65ZC9	x	x	x			x		Adult	18361515	
Q66K66	x					x		Adult	18361515	
Q68CN4	x		x			x		Adult	18361515	
Q68D45	x		x			x		Adult	18361515	
Q68D80			x			x		Adult	18361515	
Q6B6N3	x					x		Adult	18361515	
Q6DEN2	x					x		Adult	18361515	
Q6DHV4					x	x		Adult	19118452	
Q6DHW4	x		x			x		Adult	18361515	
Q6FG38		x				x		Adult	19199708	
Q6FG96					x	x		Adult	19118452	
Q6FGD7					x	x		Adult	19118452	
Q6FGI1					x	x		Adult	19118452	
Q6FGL0					x	x		Adult	19118452	
Q6FGX5					x	x		Adult	19118452	
Q6FHH3					x		125853	+	Adult	19118452
Q6FHP9	x		x		x	x		Adult	18361515	
Q6FHR0					x	x		Adult	19118452	
Q6FHS5					x	x		Adult	19118452	
Q6FI13	x	x	x		x	x		Adult	18361515	
Q6GMV7	x		x			x		Adult	18361515	
Q6GMV8	x		x			x		Adult	18361515	
Q6GMW3	x		x			x		Adult	18361515	
Q6GMW4	x		x			x		Adult	18361515	
Q6GMW6	x		x			x		Adult	18361515	
Q6GMX0	x		x			x		Adult	18361515	
Q6GMX4	x		x			x		Adult	18361515	
Q6GTG1					x	x		Adult	19118452	
Q6IAT8					x		181750		Adult	17722226
Q6IBM4					x	x		Adult	19118452	
Q6IBS0		x				x		Adult	19199708	
Q6ICG6			x			x		Adult	18361515	
Q6ICG6-2					x	x		Adult	18361515	
Q6ICN0					x	x		Adult	19118452	
Q6ICQ8					x		170650	+	Adult	20205380
Q6IN99	x		x			x		Adult	18361515	
Q6IPQ0	x		x			x		Adult	18361515	
Q6KB66-2	x		x			x		Adult	18361515	
Q6LAF7					x	x		Adult	15800970	
Q6LAJ8					x	x		Adult	15800970	
Q6LBL5					x	x		Adult	19118452	
Q6LES2			x			x		Adult	18361515	
Q6MZM9	x	x	x			x		Adult	18361515	
Q6MZQ6	x		x			x		Adult	18361515	

Q6MZU6	x		x							Adult	18361515
Q6MZV6	x	x	x							Adult	18361515
Q6MZV7	x		x							Adult	18361515
Q6MZW0	x	x	x							Adult	18361515
Q6MZX7	x		x							Adult	18361515
Q6MZX9	x		x							Adult	18361515
Q6N030	x		x							Adult	18361515
Q6N041	x		x							Adult	18361515
Q6N045	x		x							Adult	18361515
Q6N089	x		x							Adult	18361515
Q6N090	x	x	x							Adult	18361515
Q6N091	x	x	x							Adult	18361515
Q6N092	x	x	x							Adult	18361515
Q6N094	x		x							Adult	18361515
Q6N096	x		x	x						Adult	18361515
Q6N097	x		x							Adult	18361515
Q6NR85				x						Adult	19118452
Q6NS95	x		x							Adult	18361515
Q6NSB4			x	x	x		x	x		Adult	18361515
Q6NUR7				x						Adult	16103422
Q6NW22				x						Adult	19118452
Q6NXT2						x				Adult	19297561
Q6NZI2						x	x	x			18439290
Q6P080				x						Adult	16103422
Q6P089	x		x							Adult	18361515
Q6P1J9			x							Adult	18361515
Q6P2J1	x		x							Adult	18361515
Q6P3U9				x						Adult	19118452
Q6P4A8				x						Adult	19118452
Q6P531	x									Adult	18361515
Q6P5S2	x		x	x	x					Adult	18361515; 1843457
Q6P5S3	x		x							Adult	18361515
Q6P5S8	x		x							Adult	18361515
Q6P9D1					x					Adult	19118452
Q6PCB0	x	x	x							Adult	18361515
Q6PII3			x							Adult	18361515
Q6PIK1		x								Adult	19199708
Q6PIL0	x									Adult	18361515
Q6PIL8	x		x							Adult	18361515
Q6PIQ7	x		x							Adult	18361515
Q6PJF2	x	x	x							Adult	18361515
Q6PJG0	x		x							Adult	18361515
Q6PKX4			x							Adult	18361515
Q6PN97					x		x	x		Adult	16103422
Q6S381				x						Adult	19118452

Q6S8J3-1				x				x	Adult	18361515
Q6U2E9	x		x					x	Adult	18361515
Q6U2M5		x						x	Adult	19199708
Q6UVK1	x							x	Adult	18361515
Q6UWF7		x						x	Adult	19199708
Q6UWP8	x	x	x	x				x	Adult	18361515
Q6UWT4	x	x	x					x	Adult	18361515
Q6UWW8		x						x	Adult	19199708
Q6UX06	x	x		x				x	Adult	18361515
Q6UX56				x				x	Adult	16103422
Q6UX81				x				x	Adult	19118452
Q6UXB2	x							x	Adult	18361515
Q6UXG2		x						x	Adult	19199708
Q6WKZ4-3				x				x	Adult	18361515
Q6WKZ4-4	x							x	Adult	18361515
Q6XPR3				x				x	Adult	17614365
Q6XQN5				x				x	Adult	19118452
Q6YHK3	x							x	Adult	18361515
Q6YNQ1				x				x	Adult	19118452
Q6ZMP0		x						x	Adult	19199708
Q6ZMR3				x			x	x	Adult	17614365
Q6ZN66	x	x						x	Adult	18361515
Q6ZNH5				x			275355	+	Adult	21035601
Q6ZP85	x		x					x	Adult	18361515
Q6ZP87	x		x					x	Adult	18361515
Q6ZS17		x						x	Adult	19199708
Q6ZS99			x					x	Adult	18361515
Q6ZSI9				x			x	x	Adult	17614365
Q6ZSL4	x		x					x	Adult	18361515
Q6ZTQ4	x							x	Adult	18361515
Q6ZVX0	x		x					x	Adult	18361515
Q6ZVX7	x	x	x					x	Adult	18361515
Q6ZW52				x				x	Adult	19118452
Q6ZW53				x				x	Adult	16103422
Q6ZW62	x		x					x	Adult	18361515
Q6ZW64	x		x	x				x	Adult	18361515
Q6ZWI9	x							x	Adult	18361515
Q6ZWK7				x				x	Adult	16103422
Q70J99				x			x	x	Adult	17614365
Q71DI3		x						x	Adult	19199708
Q71ME5				x				x	Adult	15800970
Q71U36	x		x	x				x	Adult	18361515
Q71UI9				x			x	x	Adult	16103422
Q71UM5			x		x		270150		Adult	19364392
Q71V99		x						x	Adult	19199708
Q7KZF4			x	x	x		x	x	Adult	17614365

Q7L5N1					x			x	Adult	19297561
Q7LBE3		x						x	Adult	19199708
Q7M4Q5	x		x	x				x	Adult	18361515
Q7RTS7	x		x					x	Adult	18361515
Q7RTT2				x				x	Adult	16103422
Q7RTV0				x				x	Adult	17614365
Q7Z2U7	x		x					x	Adult	18361515
Q7Z2W4					x		x	x		18439290
Q7Z351	x		x					x	Adult	18361515
Q7Z374	x	x	x	x				x	Adult	18361515
Q7Z379	x		x					x	Adult	18361515
Q7Z3V5	x							x	Adult	16402355
Q7Z3Y4	x		x	x				x	Adult	18361515
Q7Z3Y5				x				x	Adult	19118452
Q7Z3Y6	x		x					x	Adult	18361515
Q7Z3Y8	x		x					x	Adult	18361515
Q7Z406	x				x			x	Adult	18361515
Q7Z4W1			x	x			x	x	Adult	17614365
Q7Z5F4	x		x					x	Adult	18361515
Q7Z5N9				x				x	Adult	15800970
Q7Z5P9			x					x	Adult	18361515
Q7Z5R6			x					x	Adult	18434574
Q7Z666				x				x	Adult	15800970
Q7Z6J6					x		170650	+	Adult	20205380
Q7Z744				x				x	Adult	16103422
Q7Z794	x		x	x			x	x	Adult	18361515
Q7Z7H5			x	x				x	Adult	17614365
Q7Z7M9			x				x	x	Adult	18361515
Q7Z7Q4				x				x	Adult	19118452
Q86SF2			x				x	x	Adult	18361515
Q86SG5				x			x	x	Adult	17614365
Q86T26		x						x	Adult	19199708
Q86T65				x			x	x	Adult	17614365
Q86TB3-2	x							x	Adult	18361515
Q86TW2			x					x	Adult	18434574
Q86U44			x				x	x	Adult	18361515
Q86U61				x				x	Adult	15800970
Q86U62				x			125853	-	Adult	19118452
Q86UD1	x							x	Adult	18361515
Q86UE4				x			x	x	Adult	17614365
Q86UP2				x	x		x	x	Adult	17614365
Q86UQ4			x				x	x	Adult	18434574
Q86UX7				x			x	x	Adult	17614365
Q86V81					x		x	x		18439290
Q86VP6				x	x		x	x	Adult	17614365
Q86VR7	x		x	x				x	Adult	18361515

Q86VS8				x			x	x	Adult	17614365
Q86W04				x				x	Adult	19118452
Q86X29	x	x	x					x	Adult	18361515
Q86Y42				x				x	Adult	16103422
Q86Y46	x	x	x	x			x	x	Adult	18361515
Q86Y82				x			x	x	Adult	17614365
Q86YA1				x				x	Adult	15800970
Q86YB8				x			x	x	Adult	17614365
Q86Y16				x				x	Adult	16103422
Q86YQ8			x				x	x	Adult	18361515
Q86YU6				x				x	Adult	15800970
Q86YZ3	x		x	x			x	x	Adult	18361515
Q8IU89				x				x	Adult	17614365
Q8IUC0				x				x	Adult	17614365
Q8IUC1			x					x	Adult	19364392
Q8IUE6				x			114480	-	Adult	20052393
Q8IUG2				x				x	Adult	15800970
Q8IUG5						x	x	x		18439290
Q8IUX7		x						x	Adult	19199708
Q8IV08		x						x	Adult	19199708
Q8IVE3				x				x	Adult	15800970
Q8IVF2	x							x	Adult	18361515
Q8IWS0			x				x	x	Adult	18361515
Q8IWU5	x						x	x	Adult	18361515
Q8IWU5-2				x				x	Adult	18361515
Q8IWX2				x				x	Adult	15800970
Q8IXL6		x					x	x	Adult	19199708
Q8IXQ6						x	x	x		18439290
Q8IYA5	x							x	Adult	18361515
Q8IYB3				x				x	Adult	18829504
Q8IYS5				x				x	Adult	15800970
Q8IYV6				x				x	Adult	15800970
Q8IZA0-1			x					x	Adult	18361515
Q8IZA0-2			x					x	Adult	18361515
Q8IZD8	x		x					x	Adult	18361515
Q8IZG0				x				x	Adult	15800970
Q8IZP0				x			x	x	Adult	17614365
Q8IZP9		x					x	x	Adult	19199708
Q8IZY7				x			x	x		18439290
Q8MGZ9				x				x	Adult	15800970
Q8N0Y7				x				x	Adult	16103422
Q8N1C8				x				x	Adult	19118452
Q8N1D8				x				x	Adult	15800970
Q8N1G4						x		x	Adult	19297561
Q8N1K5				x				x	Adult	15800970
Q8N1N4		x						x	Adult	19199708

Q8N1N4-1	x		x						x	Adult	18361515
Q8N1N4-2	x		x						x	Adult	18361515
Q8N257									x	Adult	17614365
Q8N271		x							x	Adult	19199708
Q8N274									x	Adult	19118452
Q8N2N5									x	Adult	18361515
Q8N2N9	x								x	Adult	18361515
Q8N2Y8							x		x		18439290
Q8N355									x	Adult	16103422
Q8N357									x	Adult	15800970
Q8N3C0-1									x	Adult	16103422
Q8N3I8									x	Adult	15800970
Q8N428	x								x	Adult	18361515
Q8N428-2	x								x	Adult	18361515
Q8N474	x	x	x						x	Adult	18361515
Q8N499									x	Adult	15800970
Q8N4A0		x							x	Adult	16103422
Q8N4F0	x		x	x	x				x	Adult	19364392
Q8N4I2									x		18439290
Q8N4N0									x	Adult	19118452
Q8N5F4	x		x						x	Adult	18361515
Q8N6I3									x	Adult	16103422
Q8N6L1									x	Adult	19364392
Q8N6R3									x	Adult	16103422
Q8N7E6									x	Adult	18361515
Q8N7G1									x	Adult	18361515
Q8N7J2									x	Adult	18361515
Q8N7J2-2	x								x	Adult	18361515
Q8N7K7									x	Adult	15800970
Q8N803									x	Adult	15800970
Q8N8S7									x		18439290
Q8N9C4									x	Adult	18361515
Q8NAB7	x								x	Adult	18361515
Q8NAC5									x	Adult	15800970
Q8NAE0									x	Adult	15800970
Q8NB78									x	Adult	15800970
Q8NBI4									x	Adult	18361515
Q8NBJ4									x	Adult	18361515
Q8NB7	x								x	Adult	18361515
Q8NB7-2	x								x	Adult	18361515
Q8NB7-3	x								x	Adult	18361515
Q8NBL8		x							x	Adult	18361515
Q8NBS9									x		18439290
Q8NBZ7		x							x	Adult	19199708
Q8NC51									x	Adult	18434574
Q8NCH0		x							x	Adult	19199708

Q8NCH3				x						Adult	15800970
Q8NCL4	x		x	x			x	x		Adult	18361515
Q8NCL6				x				x		Adult	15800970
Q8NCR0	x							x		Adult	18361515
Q8NCW6				x			x	x			18439290
Q8NDD3				x				x		Adult	15800970
Q8NDV3				x			x	x			18439290
Q8NE03				x				x		Adult	15800970
Q8NE39				x				x		Adult	15800970
Q8NEC0		x						x		Adult	19199708
Q8NEE8				x			x	x			18439290
Q8NEJ1	x		x				x	x		Adult	18361515
Q8NEL9	x						x	x		Adult	18361515
Q8NEL9-3				x				x		Adult	18361515
Q8NEP4				x				x		Adult	15800970
Q8NES3			x				x	x		Adult	18361515
Q8NES3-2			x					x		Adult	18361515
Q8NES3-3			x					x		Adult	18361515
Q8NEZ3				x			x	x			18439290
Q8NF17				x			x	x		Adult	16103422
Q8NF52				x				x		Adult	16103422
Q8NFF9				x				x		Adult	15800970
Q8NFT8	x		x	x				x		Adult	18361515
Q8NFU3				x					270150	Adult	19364392
Q8NFU4	x		x	x			x	x		Adult	18361515; 1843457
Q8NFW8				x			x	x		Adult	17614365
Q8NG53				x				x		Adult	15800970
Q8NGT9				x				x		Adult	15800970
Q8NGW8				x				x		Adult	15800970
Q8NHM4	x		x					x		Adult	18361515
Q8NHW5			x					x		Adult	18361515
Q8NI22	x		x				x	x		Adult	18361515
Q8TAA3						x	x	x			18439290
Q8TAE6						x	x	x			18439290
Q8TAR3				x				x		Adult	15800970
Q8TAX7	x	x	x	x	x			x		Adult	18361515; 1843457
Q8TAY6					x			x		Adult	15800970
Q8TBD0	x							x		Adult	18361515
Q8TBQ9				x					270150	Adult	19364392
Q8TBR0				x					275355	Adult	18829504
Q8TCD0	x		x					x		Adult	18361515
Q8TCD2				x				x		Adult	19118452
Q8TCE1	x		x					x		Adult	18361515
Q8TCJ2						x		x		Adult	19297561

Q8TD06			x	x				x	Adult	17614365		
Q8TD14		x						x	Adult	19199708		
Q8TD16						x		x		18439290		
Q8TD47				x				x	Adult	17614365		
Q8TDJ2				x				x	Adult	19118452		
Q8TDL5	x	x	x	x				x	x	Adult	18361515	
Q8TDM6	x							x	x	Adult	18361515	
Q8TDR6				x					x	Adult	18361515	
Q8TE27				x						275355	Adult	18829504
Q8TE63	x		x					x	x	Adult	18361515	
Q8TED4		x							x	Adult	19199708	
Q8TEE7				x					x	Adult	15800970	
Q8TF05				x				x	x	Adult	17614365	
Q8TF09				x					x	Adult	17614365	
Q8TF72				x				x	x		18439290	
Q8WTU7				x					x	Adult	15800970	
Q8WTY5				x					x	Adult	15800970	
Q8WUA7				x				x	x	Adult	17614365	
Q8WUD1				x		x		x	x	Adult	17614365	
Q8WUF5						x		x	x		18439290	
Q8WUM4	x	x	x	x		x		x	x	Adult	18361515	
Q8WUV7				x					x	Adult	15800970	
Q8WV45				x					x	Adult	15800970	
Q8WVA9				x					x	Adult	15800970	
Q8WVQ1	x		x	x					x	Adult	18361515	
Q8WVV4	x		x	x					x	Adult	18361515	
Q8WVW5				x					x	Adult	15800970	
Q8WW57				x					x	Adult	16103422	
Q8WWA0			x	x					x	Adult	18361515	
Q8WWI1				x				x	x	Adult	17614365	
Q8WWQ5				x					x	Adult	19118452	
Q8WWU7				x				x	x	Adult	17614365	
Q8WWY9				x					x	Adult	16103422	
Q8WXE0				x				x	x		18439290	
Q8WXG9			x					x	x	Adult	18361515	
Q8WXI7		x		x				x	x	Adult	19199708	
Q8WXQ7			x						x	Adult	18361515	
Q8WY24	x		x	x					x	Adult	18361515	
Q8WYA1				x					x	Adult	15800970	
Q8WYB5	x								x	Adult	18361515	
Q8WYS7				x					x	Adult	15800970	
Q8WZ42-7			x						x	Adult	18361515	
Q92485-2			x						x	Adult	18361515	
Q92499						x		x	x		18439290	
Q92504				x				x	x		18439290	
Q92520	x		x					x	x	Adult	18361515	

Q92522		x	x			x		x	x	Adult	18361515
Q92526				x		x		x	x	Adult	17614365
Q92530						x		x	x		18439290
Q92562				x				x	x		18439290
Q92597				x		x		x	x	Adult	17614365
Q92598				x		x		x	x	Adult	18361515
Q92598-2		x							x	Adult	18361515
Q92598-3				x					x	Adult	18361515
Q92599						x		x	x		18439290
Q92614				x				x	x	Adult	17614365
Q92616			x	x					x	Adult	17614365
Q92623				x				x	x	Adult	17614365
Q92673	x		x	x				x	x	Adult	18361515
Q92688				x		x		x	x	Adult	17614365
Q92696				x				x	x	Adult	17614365
Q92734						x		x	x		18439290
Q92743	x	x	x	x				x	x	Adult	18361515
Q92747				x				x	x	Adult	17614365
Q92764	x		x	x	x			x	x	Adult	18361515
Q92777	x							x	x	Adult	18361515
Q92777-2				x					x	Adult	18361515
Q92804						x		x	x		18439290
Q92817	x	x		x		x		x	x	Adult	18361515
Q92820			x	x				x	x	Adult	18361515
Q92835	x								x	Adult	18361515
Q92841				x		x		x	x	Adult	17614365
Q92876			x	x				x	x	Adult	18361515
Q92878-2				x					x	Adult	18361515
Q92878-3			x						x	Adult	18361515
Q92889			x					x	x	Adult	18361515
Q92896				x		x			x	Adult	16103422
Q92896-2	x		x						x	Adult	18361515
Q92911		x						x	x	Adult	19199708
Q92928				x					x	Adult	18361515
Q92930				x				x	x	Adult	17614365
Q92945				x		x		x	x	Adult	17614365
Q92973						x		x	x		18439290
Q93008				x				x	x	Adult	17614365
Q93020				x					x	Adult	18361515
Q93063		x						x	x	Adult	19199708
Q93077				x					x	Adult	17614365
Q93079			x	x		x			x	Adult	18361515
Q93081				x					x	Adult	17614365
Q93084				x				x	x	Adult	17614365
Q95365				x		x			x	Adult	17614365
Q95604				x				x	x	Adult	17614365

Q96HG5				x					270150	+	Adult	17436266
Q96HY6						x		x				18439290
Q96IU4		x		x		x					Adult	17614365
Q96IU4-1					x						Adult	16103422
Q96IX5				x		x			270150		Adult	19364392
Q96IX9					x						Adult	18361515
Q96J42	x										Adult	18361515
Q96JB3				x				x		x	Adult	18361515
Q96JB6		x						x		x	Adult	19199708
Q96JD0	x			x				x		x	Adult	18361515
Q96JD1	x			x							Adult	18361515
Q96JJ7					x						Adult	17614365
Q96JY6					x						Adult	17614365
Q96K17							x				Adult	19297561
Q96K68	x	x	x					x		x	Adult	18361515
Q96KB3		x									Adult	19199708
Q96KK5	x		x								Adult	18361515
Q96KP4				x	x	x		x		x	Adult	17614365
Q96L21					x		x		x	x	Adult	17614365
Q96L34	x								x	x	Adult	18361515
Q96L34-2					x						Adult	18361515
Q96L46							x		x	x		18439290
Q96L93					x				x	x		18439290
Q96LB3				x					x	x	Adult	18361515
Q96LJ5					x						Adult	15800970
Q96LJ7					x				x	x	Adult	17614365
Q96LK4					x						Adult	15800970
Q96LY3					x						Adult	15800970
Q96MH4	x			x							Adult	18361515
Q96MK3	x	x							x	x	Adult	18361515
Q96MT8							x		x	x		18439290
Q96P44				x							Adult	18361515
Q96P63	x								x	x	Adult	18361515
Q96PD5	x			x	x				x	x	Adult	18361515
Q96PD5-2	x			x					x	x	Adult	18361515
Q96PF6				x							Adult	18361515
Q96PP8							x		x	x		18439290
Q96Q27					x				x	x		18439290
Q96QE0					x						Adult	15800970
Q96QK1					x		x		x	x	Adult	17614365
Q96QR1	x	x	x	x					x	x	Adult	18361515
Q96QS0	x			x							Adult	18361515
Q96QV6							x				Adult	19297561
Q96RM1					x						Adult	17614365
Q96RP7				x					x	x	Adult	18361515
Q96RU1					x						Adult	15800970

Q96RW7	x							x	x	Adult	18361515	
Q96S53								x	x		18439290	
Q96S96	x		x						x	Adult	18361515	
Q96SB0	x		x						x	Adult	18361515	
Q96SJ5									x	Adult	15800970	
Q96SQ9								x	x	Adult	17614365	
Q96ST3	x							x	x	Adult	18361515	
Q96TA1	x			x	x		x	x	x	Adult	18361515	
Q99102		x							x	Adult	19199708	
Q99436					x			x	x	Adult	17614365	
Q99439					x			x	x	Adult	16103422	
Q99456	x	x	x	x	x	x		x	x	Adult	18361515	
Q99460					x		x	x	x	Adult	17614365	
Q99493					x				x	Adult	15800970	
Q99497		x	x	x					x	Adult	18361515	
Q99519	x								x	Adult	18361515	
Q99523	x		x						x	Adult	18361515	
Q99536			x						x	Adult	18361515	
Q99538	x								x	Adult	18361515	
Q99552					x				x	Adult	19118452	
Q99574	x		x						x	Adult	18361515	
Q99584				x						270150	Adult	19364392
Q99608								x	x		18439290	
Q99613					x				x	Adult	17614365	
Q99623					x					270150	Adult	19364392
Q99674			x						x	Adult	18361515	
Q99683					x				x	Adult	17614365	
Q99685					x				x	Adult	17614365	
Q99714					x				x	Adult	17614365	
Q99715								x	x		18439290	
Q99729					x				x	Adult	16103422	
Q99733								x	x		18439290	
Q99735								x	x		18439290	
Q99758								x	x		18439290	
Q99798					x				x	Adult	18361515	
Q99805		x							x	Adult	19199708	
Q99816-1					x				x	Adult	16103422	
Q99829					x				x	Adult	17614365	
Q99832					x				x	Adult	17614365	
Q99867					x				x	Adult	17614365	
Q99877					x				x	Adult	18361515	
Q99878	x								x	Adult	18361515	
Q99879					x				x	Adult	17614365	
Q99880	x								x	Adult	18361515	
Q99954	x			x	x				x	Adult	18361515; 1843457	

Q99961				x			x	x	Adult	17614365
Q9BPY8			x	x			x	x	Adult	18361515
Q9BQ66				x				x	Adult	18361515
Q9BQE3	x		x	x			x	x	Adult	18361515
Q9BQE5						x	x	x		18439290
Q9BQI0				x				x	Adult	16103422
Q9BQR3			x				x	x	Adult	18361515
Q9BR76		x		x			x	x	Adult	17614365
Q9BRA2				x		x		x	Adult	16103422
Q9BRD0				x				x	Adult	15800970
Q9BRF8				x				x	Adult	19118452
Q9BRK5	x	x	x	x			x	x	Adult	18361515
Q9BRL5	x		x					x	Adult	18361515
Q9BRQ8	x		x	x			x	x	Adult	18361515
Q9BRX8						x		x	Adult	19297561
Q9BS26	x	x		x				x	Adult	18361515
Q9BS92				x			x	x	Adult	17614365
Q9BSJ8						x		x	Adult	19297561
Q9BSQ2				x				x	Adult	16103422
Q9BTD2				x				x	Adult	15800970
Q9BTI0				x				x	Adult	15800970
Q9BTM1	x							x	Adult	18361515
Q9BTM1-2	x							x	Adult	18361515
Q9BUF5				x		x	x	x	Adult	17614365
Q9BUQ8		x						x	Adult	19199708
Q9BUR5				x					Adult	19364392
Q9BV40				x		x		x	Adult	17614365
Q9BV73				x			x	x		18439290
Q9BVA1	x		x					x	Adult	18361515
Q9BVC6		x		x		x		x	Adult	19199708
Q9BVK6				x	x	x		x	Adult	17614365
Q9BVW5				x				x	Adult	15800970
Q9BW30				x				x	Adult	17614365
Q9BW34				x				x	Adult	19118452
Q9BWD1				x			x	x	Adult	17614365
Q9BWM7						x	x	x		18439290
Q9BWR0				x				x	Adult	15800970
Q9BWS9	x	x						x	Adult	18361515
Q9BWS9-2	x		x					x	Adult	18361515
Q9BWS9-3	x							x	Adult	18361515
Q9BX68				x			x	x	Adult	16103422
Q9BX69						x	x	x		18439290
Q9BXJ1		x					x	x	Adult	19199708
Q9BXJ4	x			x			x	x	Adult	18361515
Q9BXJ4-2	x							x	Adult	18361515
Q9BXR6				x			x	x	Adult	17614365

Q9BXS4		x		x				x	Adult	17614365
Q9BY12				x			x	x		18439290
Q9BYC5	x							x	Adult	18361515
Q9BYE4				x				x	Adult	17614365
Q9BYF7			x					x	Adult	18361515
Q9BYQ5			x					x	Adult	18361515
Q9BYR0				x				x	Adult	18361515
Q9BYR2				x				x	Adult	18361515
Q9BYR6				x				x	Adult	17614365
Q9BYR9					x			x	Adult	19364392
Q9BYX7	x		x					x	Adult	18361515
Q9BYZ2				x			x	x	Adult	17614365
Q9BZE1						x		x	Adult	19297561
Q9BZF1						x	x	x		18439290
Q9BZJ3						x	x	x		18439290
Q9BZK3			x				x	x	Adult	18361515
Q9BZQ8		x		x			x	x	Adult	19199708
Q9BZS0				x				x	Adult	15800970
Q9BZW5	x		x				x	x	Adult	18361515
Q9BZZ5						x		x	Adult	19297561
Q9C002				x				x	Adult	17614365
Q9C005				x				x	Adult	17614365
Q9C075				x	x		x	x	Adult	20205380
Q9C0A8				x				x	Adult	15800970
Q9C0C2				x		x	x	x	Adult	17614365
Q9C0D5	x							x	Adult	18361515
Q9C0H6					x		x	x	Adult	20205380
Q9GZM5						x		x	Adult	19297561
Q9GZM7	x	x						x	Adult	18361515
Q9GZT3						x		x	Adult	19297561
Q9GZZ8			x	x				x	Adult	18361515
Q9H082			x	x	x		x	x	Adult	18361515
Q9H0A0	x						x	x	Adult	18361515
Q9H0E2				x			x	x	Adult	17614365
Q9H0E9			x					x	Adult	18361515
Q9H0H5		x						x	Adult	19199708
Q9H0P0						x		x	Adult	19297561
Q9H0U4	x		x	x	x		x	x	Adult	18361515
Q9H0X4				x				x	Adult	15800970
Q9H107				x				x	Adult	15800970
Q9H115				x			x	x	Adult	17614365
Q9H173	x		x					x	Adult	18361515
Q9H223						x	x	x		18439290
Q9H254				x			x	x	Adult	17614365
Q9H299	x		x	x	x	x		x	Adult	18361515
Q9H2G2		x						x	Adult	19199708

Q9H336	x	x						x	Adult	18361515
Q9H361				x			x	x	Adult	17614365
Q9H367	x							x	Adult	18361515
Q9H3K6				x	x			x	Adult	17614365
Q9H3M1		x						x	Adult	19199708
Q9H3N1				x				x	Adult	17614365
Q9H3U1				x				x	Adult	15800970
Q9H400						x		x	Adult	19297561
Q9H410				x			x	x		18439290
Q9H444				x				x	Adult	17614365
Q9H497		x					x	x	Adult	19199708
Q9H4A4		x		x	x		x	x	Adult	17614365
Q9H4B7	x		x	x			x	x	Adult	18361515
Q9H4E5				x				x	Adult	17614365
Q9H4G4				x			x	x	Adult	17614365
Q9H4M9		x		x	x		x	x	Adult	17614365
Q9H552	x		x	x				x	Adult	18361515
Q9H5A4				x				x	Adult	16103422
Q9H5V2				x				x	Adult	15800970
Q9H622				x				x	Adult	16103422
Q9H625				x				x	Adult	16103422
Q9H6K9				x				x	Adult	16103422
Q9H6S3	x	x				x	x	x	Adult	18361515
Q9H6Z5				x				x	Adult	15800970
Q9H813	x							x	Adult	18361515
Q9H895				x				x	Adult	16103422
Q9H8J5	x						x	x	Adult	18361515
Q9H8T0				x				x	Adult	17614365
Q9H8U7				x				x	Adult	15800970
Q9H8W2				x				x	Adult	15800970
Q9H8Y8			x				x	x	Adult	18361515
Q9H927				x				x	Adult	15800970
Q9H9B4				x			x	x	Adult	17614365
Q9HAB8				x				x	Adult	17614365
Q9HAT2	x							x	Adult	18361515
Q9HAV0			x	x				x	Adult	18361515
Q9HB00	x						x	x	Adult	18361515
Q9HB40	x	x						x	Adult	18361515
Q9HBG4		x					x	x	Adult	19199708
Q9HBQ3				x				x	Adult	15800970
Q9HBR0	x		x					x	Adult	18361515
Q9HC84	x		x	x	x		x		Adult	20052393
Q9HCC1	x		x				x	x	Adult	18361515
Q9HCY8	x	x	x	x	x		x	x	Adult	18361515
Q9HD20	x			x			x	x	Adult	18361515
Q9HD89				x			x	x	Adult	16103422

Q9HDC9					x			x	x	Adult	17614365
Q9NP29	x	x	x					x	x	Adult	18361515
Q9NP55	x		x	x				x	x	Adult	18361515
Q9NP72					x			x	x	Adult	17614365
Q9NP79		x						x	x	Adult	19199708
Q9NP92						x		x	x		18439290
Q9NP97					x				x	Adult	17614365
Q9NPF5			x					x	x	Adult	18361515
Q9NPG3	x							x	x	Adult	18361515
Q9NPP4						x		x	x		18439290
Q9NPP6	x		x						x	Adult	18361515
Q9NQ38	x		x	x				x	x	Adult	18361515
Q9NQ66		x						x	x	Adult	19199708
Q9NQC3				x	x			x	x	Adult	17614365
Q9NQI0				x				x	x	Adult	17614365
Q9NQW5			x						x	Adult	18434574
Q9NQX5	x		x					x	x	Adult	18361515
Q9NQX7		x						x	x	Adult	19199708
Q9NR30			x					x	x	Adult	18361515
Q9NR30-2			x						x	Adult	18361515
Q9NR31				x				x	x		18439290
Q9NR45			x	x	x			x	x	Adult	17614365
Q9NR46						x		x	x		18439290
Q9NRA1	x	x							x	Adult	18361515
Q9NRD8		x						x	x	Adult	19199708
Q9NRJ3	x	x	x						x	Adult	18361515
Q9NRN2					x				x	Adult	19118452
Q9NRR5						x		x	x		18439290
Q9NRV9						x			x	Adult	19297561
Q9NRW1					x				x	Adult	17614365
Q9NRX4					x				x	Adult	17614365
Q9NRY6					x			x	x	Adult	17614365
Q9NS15		x						x	x	Adult	19199708
Q9NS68			x					x	x	Adult	18361515
Q9NS68-2					x				x	Adult	18361515
Q9NS69	x					x		x	x	Adult	18361515
Q9NS98	x	x							x	Adult	18361515
Q9NSA3					x			x	x	Adult	16103422
Q9NSB2	x		x	x				x	x	Adult	18361515
Q9NSB4	x		x	x	x	x		x	x	Adult	18361515
Q9NSC7			x					x	x	Adult	18361515
Q9NSD6	x								x	Adult	18361515
Q9NSD7					x			x	x		18439290
Q9NSD9						x		x	x		18439290
Q9NSE4						x			x	Adult	19297561
Q9NTK5			x	x				x	x	Adult	18361515

Q9NTK5-3		x					x	Adult	18361515
Q9NTK6				x			x	Adult	16103422
Q9NTQ4				x			x	Adult	19118452
Q9NUQ9				x	x		x x	Adult	16103422
Q9NV24				x			x	Adult	15800970
Q9NV92				x			x	Adult	15800970
Q9NVD7					x		x x		18439290
Q9NVR9				x			x	Adult	15800970
Q9NVU6				x			x	Adult	15800970
Q9NVZ3				x			x	Adult	17614365
Q9NW78				x			x	Adult	15800970
Q9NXG7				x			x	Adult	16103422
Q9NY33					x		x x		18439290
Q9NY65	x			x			x x	Adult	18361515
Q9NYI7				x			x	Adult	16103422
Q9NYL4			x				x x		18439290
Q9NYL9				x	x		x x	Adult	16103422
Q9NYQ8	x	x					x x	Adult	18361515
Q9NYS0				x		275355	-	Adult	21035601
Q9NYU2		x					x	Adult	19199708
Q9NZ01				x	x		x	Adult	17614365
Q9NZ08		x	x	x			x x	Adult	19199708
Q9NZ08-1	x						x	Adult	18361515
Q9NZ08-2	x		x				x	Adult	18361515
Q9NZ45					x		x	Adult	19297561
Q9NZD2	x			x			x x	Adult	18361515
Q9NZH0		x					x x	Adult	19199708
Q9NZH8			x	x			x	Adult	18361515
Q9NZH8-2				x			x	Adult	18361515
Q9NZM1			x				x x	Adult	18361515
Q9NZM1-2				x			x	Adult	18361515
Q9NZM1-3				x			x	Adult	18361515
Q9NZR1				x	x		x x	Adult	17614365
Q9NZT1			x	x			x x	Adult	18361515
Q9P0C3				x			x	Adult	15800970
Q9P0G3				x			x x	Adult	17614365
Q9P0J0					x		x	Adult	19297561
Q9P0L0				x	x		x x	Adult	17614365
Q9P0M6			x				x x	Adult	18361515
Q9P0S2	x						x	Adult	18361515
Q9P0V0				x			x	Adult	19118452
Q9P0V9				x			x	Adult	17614365
Q9P173	x		x				x	Adult	18361515
Q9P227		x					x	Adult	19199708
Q9P2B2					x		x x		18439290
Q9P2E9	x		x	x	x		x x	Adult	18361515

Q9P2E9-2											Adult	18361515
Q9P2E9-3											Adult	18361515
Q9P2J5											Adult	17614365
Q9P2K2			x								Adult	19199708
Q9P2M7	x										Adult	18361515
Q9P2P5											Adult	18361515
Q9P2R7											Adult	17614365
Q9P2X0											Adult	19364392
Q9TNN7											Adult	17614365
Q9TQE0												18439290
Q9UBC9	x	x	x	x	x	x	x	x	x		Adult	18361515
Q9UBD6	x										Adult	18361515
Q9UBG3	x	x	x	x							Adult	18361515
Q9UBH0											Adult	17614365
Q9UBI6												18439290
Q9UBQ0											Adult	17614365
Q9UBQ5											Adult	17614365
Q9UBQ7											Adult	18361515
Q9UBR2	x										Adult	18361515
Q9UBS3	x	x	x								Adult	18361515
Q9UBW8												18439290
Q9UBX7	x										Adult	18361515
Q9UBX7-1	x										Adult	18361515; 1843457
Q9UCV4											Adult	19118452
Q9UDW1											Adult	19297561
Q9UDX3												18439290
Q9UDY2											Adult	17614365
Q9UE58											Adult	16103422
Q9UEI6											Adult	15800970
Q9UES7											Adult	15800970
Q9UEV9											Adult	19118452
Q9UFN0											Adult	17614365
Q9UGL9											Adult	17614365
Q9UGM2											Adult	16103422
Q9UGM3	x	x	x	x	x						Adult	18361515
Q9UGM3-2	x										Adult	18361515
Q9UGM3-3	x										Adult	18361515
Q9UGM3-4	x										Adult	18361515
Q9UGP3	x										Adult	18361515
Q9UGV6											Adult	17614365; 18439290; 19297561
Q9UH99											Adult	17614365
Q9UHA7											Adult	18361515
Q9UHB6												18439290

Q9UHB9					x		x	x			18439290	
Q9UHD8				x	x		x	x		Adult	16103422	
Q9UHG3				x			x	x		Adult	17614365	
Q9UHK0						x			275355	+	Adult	14730689
Q9UHL4	x			x			x	x			Adult	18361515
Q9UHQ9		x						x			Adult	19199708
Q9UHV9						x	x	x				18439290
Q9UI12		x		x			x	x		Adult	17614365	
Q9UI17						x	x	x				18439290
Q9UI42			x	x			x	x		Adult	18361515	
Q9UI65				x				x		Adult	15800970	
Q9UIV8	x		x	x	x		x	x		Adult	18361515	
Q9UIV8-1				x				x		Adult	16103422	
Q9UIV8-2	x		x					x		Adult	18361515	
Q9UJ68				x			x	x		Adult	16103422	
Q9UJ70	x			x	x		x	x		Adult	18361515	
Q9UJC5				x			x	x		Adult	17614365	
Q9UJJ9	x	x	x				x	x		Adult	18361515	
Q9UJM3				x			x	x				18439290
Q9UJU6				x	x		x	x		Adult	17614365	
Q9UJY1				x				x		Adult	17614365	
Q9UJZ1						x	x	x				18439290
Q9UK10				x			x	x				18439290
Q9UK31				x				x		Adult	18361515	
Q9UK41		x					x	x		Adult	19199708	
Q9UK77				x				x		Adult	19118452	
Q9UKK9				x			x	x		Adult	17614365	
Q9UKM7			x				x	x		Adult	18361515	
Q9UKR0			x	x			x	x		Adult	18361515	
Q9UKR0-2			x					x		Adult	18361515	
Q9UKR3			x	x			x	x		Adult	18361515	
Q9UKS6				x			x	x		Adult	17614365	
Q9UKV0-3			x					x		Adult	18361515	
Q9UKV0-4				x				x		Adult	18361515	
Q9UKV0-5				x				x		Adult	18361515	
Q9UKV0-7				x				x		Adult	18361515	
Q9UKW4				x			x	x				18439290
Q9UKX2			x	x			x	x		Adult	18361515	
Q9UKX3				x			x	x		Adult	17614365	
Q9UL25						x	x	x				18439290
Q9UL26		x					x	x		Adult	19199708	
Q9UL46				x	x	x		x		Adult	16103422	
Q9UL52	x			x			x	x		Adult	18361515	
Q9UL70	x		x				x	x		Adult	18361515	
Q9UL71	x		x	x				x		Adult	18361515	
Q9UL72	x		x				x	x		Adult	18361515	

Q9UL74	x		x					x	Adult	18361515	
Q9UL75	x							x	Adult	18361515	
Q9UL77	x		x					x	Adult	18361515	
Q9UL79	x							x	Adult	18361515	
Q9UL81	x		x					x	x	Adult	18361515
Q9UL82	x		x					x	x	Adult	18361515
Q9UL83	x	x	x		x			x	x	Adult	18361515
Q9UL84	x							x	x	Adult	18361515
Q9UL85	x		x						x	Adult	18361515
Q9UL86	x		x		x			x	x	Adult	18361515
Q9UL88	x		x		x			x	x	Adult	18361515
Q9UL89	x							x	x	Adult	18361515
Q9UL91	x		x						x	Adult	18361515
Q9UL92	x		x					x	x	Adult	18361515
Q9UL93	x								x	Adult	18361515
Q9UL94	x		x						x	Adult	18361515
Q9UL95	x		x						x	Adult	18361515
Q9UL96			x						x	Adult	18361515
Q9ULC6					x			x	x	Adult	17614365
Q9ULH1					x			x	x	Adult	17614365
Q9ULL4			x					x	x	Adult	18361515
Q9ULL5					x			x	x		18439290
Q9ULU8			x						x	Adult	18361515
Q9ULU8-2					x				x	Adult	18361515
Q9ULU8-3					x				x	Adult	18361515
Q9ULV4					x		x	x	x	Adult	17614365
Q9ULZ3					x		x		x	Adult	17614365
Q9ULZ3-1					x				x	Adult	16103422
Q9UM07					x			x	x	Adult	17614365
Q9UM21			x					x	x	Adult	19199708
Q9UM54					x			x	x	Adult	17614365
Q9UMD9							x	x	x		18439290
Q9UML6					x				x	Adult	19118452
Q9UMR2					x			x	x	Adult	17614365
Q9UMS4					x			x	x	Adult	17614365
Q9UMX0							x	x	x		18439290
Q9UMY1					x				x	Adult	15800970
Q9UMY4							x		x	Adult	19297561
Q9UN36	x		x		x			x	x	Adult	18361515
Q9UN36-2					x				x	Adult	18361515
Q9UN36-3					x				x	Adult	18361515
Q9UN36-4					x				x	Adult	18361515
Q9UN37			x		x			x	x	Adult	17614365
Q9UN76			x					x	x	Adult	19199708
Q9UNF7					x				x	Adult	16103422
Q9UNL2					x		x	x	x	Adult	17614365

Q9UNM6				x		x	Adult	19297561
Q9UNX3			x	x	x	x	Adult	17614365
Q9UNX4	x					x	Adult	18361515
Q9UNZ2			x	x	x	x	Adult	16103422
Q9UP43			x				Adult	18361515
Q9UPC5			x			x		18439290
Q9UPN3			x			x		18439290
Q9UPN9			x			x		18439290
Q9UPQ2			x				Adult	15800970
Q9UPQ9			x			x		18439290
Q9UPV0			x			x		18439290
Q9UPY7			x				Adult	16103422
Q9UQ16			x			x		18439290
Q9UQ80			x	x			Adult	17614365
Q9UQB8				x		x		18439290
Q9UQM3		x					Adult	19199708
Q9UQM7			x			x	Adult	17614365
Q9UQV1			x				Adult	15800970
Q9Y211			x				Adult	19118452
Q9Y224			x	x	x	x	Adult	17614365
Q9Y230				x	x	x		18439290
Q9Y238		x				x	Adult	18361515
Q9Y262			x	x	x	x	Adult	17614365
Q9Y265				x	x	x		18439290
Q9Y266			x				Adult	17614365
Q9Y274	x	x				x	Adult	18361515
Q9Y277			x			x		18439290
Q9Y281			x			x	Adult	17614365
Q9Y284	x		x				Adult	18361515
Q9Y285			x	x	x	x	Adult	17614365
Q9Y287		x					Adult	19199708
Q9Y2A9	x					x	Adult	18361515
Q9Y2B0			x	x			Adult	17614365
Q9Y2E9			x				Adult	15800970
Q9Y2G0			x				Adult	16103422
Q9Y2I7	x					x	Adult	18361515
Q9Y2J0	x					x	Adult	18361515
Q9Y2J8			x			x	Adult	17614365
Q9Y2M2		x					Adult	18361515
Q9Y2Q0		x				x	Adult	18361515
Q9Y2Q0-2			x				Adult	18361515
Q9Y2Q3		x	x	x	x	x	Adult	17614365
Q9Y2T4			x			x	Adult	17614365
Q9Y2T7			x			x	Adult	17614365
Q9Y2V2			x				Adult	16103422
Q9Y2Z0			x			x	Adult	17614365

Q9Y316					x				x	x	Adult	17614365
Q9Y333								x	x	x		18439290
Q9Y337			x						x	x	Adult	18361515
Q9Y371					x				x	x	Adult	17614365
Q9Y376		x						x	x	x	Adult	19199708
Q9Y394				x					x	x		18439290
Q9Y3A5					x				x	x	Adult	17614365
Q9Y3A6				x							Adult	19364392
Q9Y3B3				x		x			x	x		18439290
Q9Y3E8					x					x	Adult	19118452
Q9Y3F4					x	x			x	x	Adult	17614365
Q9Y3L3					x				x	x	Adult	17614365
Q9Y3L5					x				x	x	Adult	17614365
Q9Y3Q3					x				x	x		18439290
Q9Y3R5		x							x	x	Adult	19199708
Q9Y3U8				x		x				x	Adult	19364392
Q9Y3Z3						x			x	x		18439290
Q9Y446	x				x	x			x	x	Adult	18361515
Q9Y490			x	x	x	x			x	x	Adult	18361515
Q9Y4G6	x								x	x	Adult	18361515
Q9Y4K1					x				x	x	Adult	17614365
Q9Y4L1	x	x	x	x	x	x			x	x	Adult	18361515
Q9Y509	x			x					x	x	Adult	18361515
Q9Y5G0		x							x	x	Adult	19199708
Q9Y5K6				x					x	x		18439290
Q9Y5K8		x								x	Adult	19199708
Q9Y5M8						x			x	x		18439290
Q9Y5S9						x			x	x		18439290
Q9Y5W7					x				x	x	Adult	17614365
Q9Y5X1					x				x	x	Adult	17614365
Q9Y5Z4			x		x					x	Adult	18361515
Q9Y5Z5					x					x	Adult	16103422
Q9Y623			x		x				x	x	Adult	18361515
Q9Y624		x							x	x	Adult	19199708
Q9Y646					x					x	Adult	18361515
Q9Y653	x								x	x	Adult	18361515
Q9Y653-2	x		x							x	Adult	18361515
Q9Y678				x	x	x			x	x	Adult	17614365
Q9Y6B6				x					x	x		18439290
Q9Y6C9					x	x				x	Adult	17614365
Q9Y6G9						x				x	Adult	19297561
Q9Y6N5				x	x	x			x	x	Adult	17614365
Q9Y6R7	x		x	x	x				x	x	Adult	18361515; 1843457
Q9Y6U3						x			x	x		18439290
Q9Y6W5					x					x	Adult	15800970
Q9Y6X7					x					x	Adult	15800970

Tabela ii - Lista de revisões e actualizações a que foram sujeitas as proteínas identificadas nos estudos de proteómica da cavidade oral

Código Original	Observações	Ações Tomadas	Novo IPI	Novo Uniprot ID
IPI00006146	IPI incorporado noutro	Entrada actualizada	IPI00552578	
IPI00011654	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00909140	
IPI00013444	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI00783879	
IPI00013769	IPI já não existe	Entrada eliminada		
IPI00013896	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI00848226	
IPI00014260	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI00873417	
IPI00014537	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI00941900	
IPI00014537	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI00789155	
IPI00014919	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI00329331	
IPI00018873	Nome do gene desactualizado	Nome do gene actualizado		
IPI00019591	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI00921523	
IPI00019617	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado		
IPI00020430	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado		
IPI00021048	Nome do gene desactualizado	Nome do gene actualizado		
IPI00021560	IPI já não existe	Entrada eliminada		
IPI00021716	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00643920	
IPI00021739	Nome do gene desactualizado	Nome do gene actualizado		
IPI00021751	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI00910602	
IPI00021751	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado		
IPI00021794	Nome do gene desactualizado	Nome do gene actualizado		
IPI00021923	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00334282	
IPI00022080	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI00514983	
IPI00022230	IPI já não existe	Entrada eliminada		
IPI00022368	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00552578	
IPI00022434	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00384697	
IPI00022434			IPI00745872	
IPI00022733	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00643034	
IPI00022891	Nenhuma fonte identificada			
IPI00023858	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado		
IPI00024057	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00550363	
IPI00024102	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00744692	
IPI00024138	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI00829834	
IPI00024213	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00026256	
IPI00024989	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI00828189	
IPI00024989	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado		
IPI00025447	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00396485	
IPI00025499	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína		

		atualizado	
IPI00025861	Nome da proteína desatualizado	Nome da proteína atualizado	
IPI00026119	IPI desatualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00645078
IPI00026175	IPI desatualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00743390
IPI00026195	IPI desatualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00550731
IPI00026216	Nome da proteína desatualizado	Nome da proteína atualizado	
IPI00026259	Nome da proteína desatualizado	Nome da proteína atualizado	
IPI00026260	Nome do gene desatualizado	Nome do gene atualizado	
IPI00026530	Nome da proteína desatualizado	Nome da proteína atualizado	
IPI00026836	Nenhuma fonte identificada		
IPI00027146	Nenhuma fonte identificada		
IPI00027239	Nome do gene desatualizado	Nome do gene eliminado	
IPI00027434	Nenhuma fonte identificada		
IPI00027499	IPI desatualizado	Entrada atualizada	IPI00549248
IPI00027500	IPI desatualizado	Entrada atualizada	IPI00478231
IPI00027851	Nome da proteína desatualizado	Nome da proteína atualizado	
IPI00028066	Nome da proteína desatualizado	Nome da proteína atualizado	
IPI00028091	Nome da proteína desatualizado	Nome da proteína atualizado	
IPI00029717	Nome da proteína desatualizado	Nome da proteína atualizado	
IPI00029928	IPI desatualizado	Entrada atualizada	IPI00925620
IPI00030460	IPI incorporado noutro	Entrada atualizada	IPI00893786
IPI00030460	Nenhuma fonte identificada		
IPI00030757	Nome da proteína desatualizado	Nome da proteína atualizado	
IPI00030828	IPI incorporado noutro	Entrada atualizada	IPI00607861
IPI00031564	Nome da proteína desatualizado	Nome da proteína atualizado	
IPI00031564	Nome do gene desatualizado	Nome do gene atualizado	
IPI00032234	IPI desatualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00419833
IPI00032258	Nome do gene desatualizado	Nome do gene atualizado	
IPI00037070	IPI incorporado noutro	Entrada atualizada	IPI00003865
IPI00045536	Nome da proteína desatualizado	Nome da proteína atualizado	
IPI00045547	IPI desatualizado	Entrada atualizada	IPI00827522
IPI00050211	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00051152	IPI desatualizado	Entrada atualizada	IPI00304171
IPI00051152	Nome da proteína desatualizado	Nome da proteína atualizado	
IPI00051152	Nome do gene desatualizado	Nome do gene atualizado	
IPI00060800	Nome da proteína desatualizado	Nome da proteína atualizado	
IPI00061116	Nome da proteína desatualizado	Nome da proteína atualizado	
IPI00061116	Nome do gene desatualizado	Nome do gene atualizado	
IPI00061246	IPI já não existe	Entrada atualizada	Q96E61

IPI00061977	IPI já não existe	Entrada actualizada		P01876
IPI00066193	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado		
IPI00066374	IPI já não existe	Entrada eliminada		
IPI00072917	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI00022200	
IPI00100930	IPI desactualizado	Entrada actualizada		B4DRA4
IPI00102495	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado		
IPI00103397	IPI desactualizado	Entrada actualizada		P98088
IPI00103397	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado		
IPI00103397	Nome do gene desactualizado	Nome do gene actualizado		
IPI00103481	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado		
IPI00151990	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado		
IPI00151990	Nome do gene desactualizado	Nome do gene actualizado		
IPI00154742	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado		
IPI00154742	Nome do gene desactualizado	Nome do gene actualizado		
IPI00156829	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00017987	
IPI00161229	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI00743963	P01601
IPI00161966	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI0084323	
IPI00161966	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado		
IPI00161966	Nome do gene desactualizado	Nome do gene actualizado		
IPI00163202	Nenhuma fonte identificada			
IPI00163446	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado		
IPI00163866	IPI já não existe	Entrada eliminada		
IPI00164540	IPI já não existe	Entrada eliminada		
IPI00164623	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI00783987	
IPI00164623	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado		
IPI00164755	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00304962	
IPI00164776	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado		
IPI00165421	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI00844156	
IPI00165652	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI00443799	
IPI00165652	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado		
IPI00165949	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado		
IPI00166205	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado		
IPI00166261	IPI já não existe	Entrada eliminada		
IPI00166729	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado		
IPI00166866	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00386524	
IPI00167222	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado		
IPI00167808	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado		
IPI00168398	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00440764	
IPI00168905	Nome do gene desactualizado	Nome do gene		

		atualizado	
IPI00169440	IPI desatualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00550090
IPI00170493	IPI desatualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00010949
IPI00171411	Nome da proteína desatualizado	Nome da proteína atualizado	
IPI00171411	Nome do gene desatualizado	Nome do gene atualizado	
IPI00171834	IPI desatualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00479145
IPI00172579	IPI desatualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00479877
IPI00173946	Nome da proteína desatualizado	Nome da proteína atualizado	
IPI00174775	Nome da proteína desatualizado	Nome da proteína atualizado	
IPI00174886	Nome da proteína desatualizado	Nome da proteína atualizado	
IPI00176458	IPI desatualizado	Entrada atualizada	IPI00872579
IPI00176458	Nenhuma fonte identificada		
IPI00177942	Nenhuma fonte identificada		
IPI00178071	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00179044	Nenhuma fonte identificada		
IPI00180386	Nome da proteína desatualizado	Nome da proteína atualizado	
IPI00180675	Nome da proteína desatualizado	Nome da proteína atualizado	
IPI00181352	Nenhuma fonte identificada		
IPI00182540	Nenhuma fonte identificada		
IPI00182562	IPI desatualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00217963
IPI00182654	IPI desatualizado	Entrada atualizada	IPI00760863
IPI00184844	IPI desatualizado	Entrada atualizada	IPI00935840
IPI00184978	IPI desatualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00450768
IPI00185398	Nome da proteína desatualizado	Nome da proteína atualizado	
IPI00185600	IPI desatualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00414320
IPI00186145	Nome da proteína desatualizado	Nome da proteína atualizado	
IPI00186299	Nenhuma fonte identificada		
IPI00186448	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00186581	IPI desatualizado	Entrada atualizada	IPI00873981
IPI00187003	Nome da proteína desatualizado	Nome da proteína atualizado	
IPI00215699	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00215730	Nenhuma fonte identificada		
IPI00215753	Nenhuma fonte identificada		
IPI00215756	Nenhuma fonte identificada		
IPI00215758	Nenhuma fonte identificada		
IPI00215759	Nenhuma fonte identificada		
IPI00215946	Nenhuma fonte identificada		
IPI00215992	IPI desatualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00000024
IPI00216005	IPI desatualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00646909
IPI00216024	IPI desatualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00024145

IPI00216027	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00024145
IPI00216039	Nenhuma fonte identificada		
IPI00216106	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00216106	Nome do gene desactualizado	Nome do gene actualizado	
IPI00216115	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00216268	Nenhuma fonte identificada		
IPI00216269	Nenhuma fonte identificada		
IPI00216318	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00216910	Nenhuma fonte identificada		
IPI00216953	Nenhuma fonte identificada		
IPI00217001	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI00856045
IPI00217001	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00217001	Nome do gene desactualizado	Nome do gene actualizado	
IPI00217045	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00739205
IPI00217506	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00604620
IPI00217966	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00217976	Nenhuma fonte identificada		
IPI00218108	Nenhuma fonte identificada		
IPI00218109	Nenhuma fonte identificada		
IPI00218136	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI00844508
IPI00218136	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00218343	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00218343	Nome do gene desactualizado	Nome do gene actualizado	
IPI00218461	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI00218460
IPI00218462	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00218733	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00218782	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI00642256
IPI00218816	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00654755
IPI00218835	IPI incorporado noutra já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00924896
IPI00218928	Nenhuma fonte identificada		
IPI00219041	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI00878690
IPI00219077	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00219179	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00219182	Nenhuma fonte identificada		
IPI00219231	Nenhuma fonte identificada		
IPI00219299	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00219455	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00000024
IPI00219480	Nenhuma fonte identificada		
IPI00219725	Nenhuma fonte identificada		
IPI00219726	Nenhuma fonte identificada		

IPI00219727	Nenhuma fonte identificada		
IPI00219728	Nenhuma fonte identificada		
IPI00219730	Nenhuma fonte identificada		
IPI00219731	Nenhuma fonte identificada		
IPI00219732	Nenhuma fonte identificada		
IPI00219733	Nenhuma fonte identificada		
IPI00219734	Nenhuma fonte identificada		
IPI00219735	Nenhuma fonte identificada		
IPI00219737	Nenhuma fonte identificada		
IPI00219738	Nenhuma fonte identificada		
IPI00219739	Nenhuma fonte identificada		
IPI00219741	Nenhuma fonte identificada		
IPI00219742	Nenhuma fonte identificada		
IPI00219743	Nenhuma fonte identificada		
IPI00219744	Nenhuma fonte identificada		
IPI00219745	Nenhuma fonte identificada		
IPI00219746	Nenhuma fonte identificada		
IPI00219824	IPI desatualizado	Entrada atualizada	IPI00873201
IPI00219825	IPI desatualizado	Entrada atualizada	IPI00873201
IPI00219835	Nenhuma fonte identificada		
IPI00219919	Nenhuma fonte identificada		
IPI00219996	Nenhuma fonte identificada		
IPI00220120	IPI desatualizado	Entrada atualizada	IPI00827940
IPI00220171	Nenhuma fonte identificada		
IPI00220173	Nenhuma fonte identificada		
IPI00220174	Nenhuma fonte identificada		
IPI00220175	Nenhuma fonte identificada		
IPI00220391	IPI desatualizado	Entrada atualizada	IPI00783826
IPI00220391	Nenhuma fonte identificada		
IPI00220840	IPI desatualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00220839
IPI00220967	Nenhuma fonte identificada		
IPI00220985	IPI desatualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00554788
IPI00221038	Nenhuma fonte identificada		
IPI00221225	IPI desatualizado	Entrada atualizada	IPI00872780
IPI00232519	Nenhuma fonte identificada		
IPI00236149	IPI desatualizado	Entrada atualizada	IPI00063907
IPI00236149	Nenhuma fonte identificada		
IPI00240503	IPI desatualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00450768
IPI00241841	Nome da proteína desatualizado	Nome da proteína atualizado	
IPI00243603	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00246058	Nome da proteína desatualizado	Nome da proteína atualizado	
IPI00247167	Nome da proteína desatualizado	Nome da proteína atualizado	
IPI00248359	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00248359	IPI desatualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00552432
IPI00248922	IPI desatualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00552432

IPI00260838	Nenhuma fonte identificada		
IPI00289870	Nenhuma fonte identificada		
IPI00289877	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI00787385
IPI00289877	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00289877	Nome do gene desactualizado	Nome do gene actualizado	
IPI00290078	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00290410	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00290416	Nenhuma fonte identificada		
IPI00290566	Nome do gene desactualizado	Nome do gene actualizado	
IPI00291175	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00291410	Nome do gene desactualizado	Nome do gene actualizado	
IPI00291467	Nenhuma fonte identificada		
IPI00291641	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI00844511
IPI00292496	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI00844511
IPI00292496	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00292657	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00292657	Nome do gene desactualizado	Nome do gene actualizado	
IPI00292715	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI00796822
IPI00292715	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00292732	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00000860
IPI00292993	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI00827847
IPI00292993	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00293659	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI00749513
IPI00293659	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00293683	Nenhuma fonte identificada		
IPI00293898	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00004573
IPI00294193	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI00896419
IPI00294193	Nenhuma fonte identificada		
IPI00294649	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI00790172
IPI00294649	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00294834	Nome do gene desactualizado	Nome do gene actualizado	
IPI00295684	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00009865
IPI00296120	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00296170	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI00477597
IPI00296350	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00293665
IPI00297160	Nenhuma fonte identificada		
IPI00297233	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00297959	Nenhuma fonte identificada		
IPI00298082	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00298690	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI00793522

IPI00298853	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00555812
IPI00298860	IPI desactualizado	Entrada actualizada	P02788
IPI00298994	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00299026	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI00843910
IPI00299026	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00299103	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00414896
IPI00299116	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI00926421
IPI00299116	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00299145	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00299453	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00478816
IPI00299633	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI00719405
IPI00300265	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00550364
IPI00300786	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00301099	Nenhuma fonte identificada		
IPI00301185	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00301503	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00301503	Nome do gene desactualizado	Nome do gene actualizado	
IPI00301865	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00302328	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI00514201
IPI00302328	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00302840	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00303063	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00303401	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00303401	Nome do gene desactualizado	Nome do gene actualizado	
IPI00303434	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00304557	Nome do gene desactualizado	Nome do gene actualizado	
IPI00305266	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00480121
IPI00305282	Nenhuma fonte identificada		
IPI00305383	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00306933	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00307621	Nenhuma fonte identificada		
IPI00328103	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00328127	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00553138
IPI00328130	Nenhuma fonte identificada		
IPI00328343	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00641829
IPI00328348	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00456429
IPI00328493	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	

IP100328703	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IP100328781	Nenhuma fonte identificada		
IP100328960	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IP100329108	Nenhuma fonte identificada		
IP100329213	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IP100329305	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IP100329306	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IP100329685	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IP100744184
IP100329685	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IP100329784	Nenhuma fonte identificada		
IP100332588	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IP100450768
IP100332711	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IP100396930
IP100332887	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IP100333234	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IP100830044
IP100333234	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IP100333429	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IP100450768
IP100333662	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IP100334276	Nenhuma fonte identificada		
IP100334347	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IP100334775	IPI incorporado noutro já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IP100414676
IP100334799	Nenhuma fonte identificada		
IP100335614	IPI incorporado noutro já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IP100217963
IP100335789	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IP100334344
IP100335789	Nenhuma fonte identificada		
IP100336047	Nenhuma fonte identificada		
IP100336075	IPI incorporado noutro	Entrada actualizada	IP100792557
IP100374128	Nenhuma fonte identificada		
IP100374249	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IP100478896
IP100374249	Nenhuma fonte identificada		
IP100374519	Nenhuma fonte identificada		
IP100374551	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IP100375746	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IP100376163	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IP100816288
IP100376379	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IP100376403	Nenhuma fonte identificada		
IP100376441	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IP100024134
IP100376441	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IP100376941	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IP100376942	Nenhuma fonte identificada		
IP100376964	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IP100853061
IP100377025	IPI incorporado noutro já identificado no proteoma	Entrada eliminada	IP100299078

	salivar			
IPI00377087	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00026314	
IPI00377199	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI00794461	
IPI00382404	IPI incorporado noutro já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00019482	
IPI00382405	IPI incorporado noutro já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00019482	
IPI00382440	Nenhuma fonte identificada			
IPI00382470	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado		
IPI00382480	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI00827482	
IPI00382532	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00026256	
IPI00382696	Nenhuma fonte identificada			
IPI00382697	Nenhuma fonte identificada			
IPI00382698	Nenhuma fonte identificada			
IPI00382699	Nenhuma fonte identificada			
IPI00382700	Nenhuma fonte identificada			
IPI00382727	IPI já não existe	Entrada eliminada		
IPI00382937	IPI já não existe	Entrada eliminada		
IPI00382938	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado		
IPI00382938	Nome do gene desactualizado	Nome do gene actualizado		
IPI00382995	Nenhuma fonte identificada			
IPI00383000	IPI já não existe	Entrada eliminada		
IPI00383111	IPI incorporado noutro já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00009865	
IPI00383237	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI00847989	
IPI00383237	Nenhuma fonte identificada			
IPI00383467	IPI incorporado noutro já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00019482	
IPI00383591	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00217882	
IPI00383708	IPI já não existe	Entrada eliminada		
IPI00383709	IPI já não existe	Entrada eliminada		
IPI00383710	IPI já não existe	Entrada eliminada		
IPI00383717	IPI incorporado noutro	Entrada actualizada	IPI00930404	
IPI00383717	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado		
IPI00383758	IPI incorporado noutro já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00219018	
IPI00383759	IPI incorporado noutro já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00032513	
IPI00383814	Nenhuma fonte identificada			
IPI00383932	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00021812	
IPI00384052	Nenhuma fonte identificada			
IPI00384121	Nenhuma fonte identificada			
IPI00384293	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00296777	
IPI00384391	IPI já não existe	Entrada actualizada		Q9UL71
IPI00384396	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00742233	
IPI00384404	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado		
IPI00384406	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma	Entrada eliminada	IPI00783244	

	salivar			
IPI00384608	Nenhuma fonte identificada			
IPI00384856	IPI incorporado noutro	Entrada actualizada	IPI00555879	
IPI00384856	Nenhuma fonte identificada			
IPI00384863	Nenhuma fonte identificada			
IPI00384929	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00151990	
IPI00384931	IPI desactualizado	Entrada actualizada		Q7 z2U7
IPI00384948	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00642017	
IPI00385025	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00011107	
IPI00385058	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00784773	
IPI00385244	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00549725	
IPI00385332	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI00828182	
IPI00385507	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00788824	
IPI00385683	Nome do gene desactualizado	Nome do gene eliminado		
IPI00385804	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00604620	
IPI00386035	Nenhuma fonte identificada			
IPI00386158	IPI já não existe	Entrada actualizada		Q8NEJ1
IPI00386158	IPI desactualizado	Entrada actualizada		Q8NEJ1
IPI00386259	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI00384808	
IPI00386259	Nenhuma fonte identificada			
IPI00386438	IPI incorporado noutro já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00300725	
IPI00386597	Nenhuma fonte identificada			
IPI00386604	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00025491	
IPI00386630	Nenhuma fonte identificada			
IPI00386785	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00719373	
IPI00387066	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI00412407	
IPI00387111	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00736885	
IPI00387144	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI00930688	
IPI00387144	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado		
IPI00387164	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI00798127	
IPI00394834	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado		
IPI00394838	Nenhuma fonte identificada			
IPI00395398	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI00829837	
IPI00395398	Nenhuma fonte identificada			
IPI00395676	Nenhuma fonte identificada			
IPI00395750	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00746165	
IPI00396145	Nome do gene desactualizado	Nome do gene actualizado		
IPI00396171	Nenhuma fonte identificada			
IPI00396348	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00328609	
IPI00396373	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI00871646	
IPI00396383	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína		

		actualizado	
IPI00396929	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00396930	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00397198	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00397204	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00024134
IPI00397676	Nenhuma fonte identificada		
IPI00397801	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00397949	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00397984	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00072377
IPI00398124	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00398625	Nome do gene desactualizado	Nome do gene actualizado	
IPI00398958	IPI incorporado noutro	Entrada actualizada	IPI00553164
IPI00398958	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00399007	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00399190	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00399193	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI00873759
IPI00399260	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00456158
IPI00399379	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00400860	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00401264	Nome do gene desactualizado	Nome do gene actualizado	
IPI00401264	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00401264	Nome do gene desactualizado	Nome do gene actualizado	
IPI00401614	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI00479743
IPI00401614	Nenhuma fonte identificada		
IPI00410152	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI00784258
IPI00410155	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00410377	Nenhuma fonte identificada		
IPI00411375	Nenhuma fonte identificada		
IPI00411463	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI00797560
IPI00411506	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI00180956
IPI00411692	Nenhuma fonte identificada		
IPI00411702	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00411726	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00396383
IPI00411815	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00216026
IPI00411959	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00873417
IPI00412365	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00450768
IPI00412473	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00412556	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00216917
IPI00412608	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00154742

IPI00412663	Nenhuma fonte identificada		
IPI00412929	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI00478115
IPI00413112	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI00872295
IPI00413201	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI00556308
IPI00413201	Nenhuma fonte identificada		
IPI00413368	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00413508	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00385250
IPI00413728	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI00844215
IPI00413826	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00413835	Nenhuma fonte identificada		
IPI00413922	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00414173	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00414282	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI00411462
IPI00414489	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00003815
IPI00414694	Nenhuma fonte identificada		
IPI00414741	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI00829752
IPI00414759	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00414835	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI00744135
IPI00414835	Nenhuma fonte identificada		
IPI00414884	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00415056	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00099110
IPI00418138	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI00783931
IPI00418138	Nenhuma fonte identificada		
IPI00418153	Nome do gene desactualizado	Nome do gene actualizado	
IPI00418157	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI00894384
IPI00418376	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00018236
IPI00418411	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00554648
IPI00418422	IPI incorporado noutro	Entrada actualizada	IPI00893578
IPI00418422	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00418465	Nenhuma fonte identificada		
IPI00418517	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00296654
IPI00418700	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00021812
IPI00418813	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00419164	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00419215
IPI00419209	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00419215	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00419219	Nenhuma fonte identificada		
IPI00419262	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00646304
IPI00419307	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI00554737
IPI00419307	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00419384	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00026154

IPI00419424	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00419442	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00419453	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00784430
IPI00419517	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00419517	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00419574	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI00297632
IPI00419574	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00419779	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00010418
IPI00420079	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI00554711
IPI00423445	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00645363
IPI00425976	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI00930111
IPI00426007	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00784842
IPI00426056	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00784950
IPI00426057	IPI desactualizado	Entrada actualizada	Q6MZV7
IPI00426069	IPI desactualizado	Entrada actualizada	Q6MZX7
IPI00426070	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00784758
IPI00430804	IPI já não existe	Entrada actualizada	Q6GMV7
IPI00430804	IPI desactualizado	Entrada actualizada	Q6GMV7
IPI00430808	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00909649
IPI00430820	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00430822	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00784935
IPI00430823	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI00829640
IPI00430824	IPI já não existe	Entrada actualizada	Q6GMW6
IPI00430824	IPI desactualizado	Entrada actualizada	Q6GMW6
IPI00430839	IPI já não existe	Entrada actualizada	Q6GMX0
IPI00430839	IPI desactualizado	Entrada actualizada	Q6GMX0
IPI00430840	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00448925
IPI00430842	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00449920
IPI00430844	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00783993
IPI00430847	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	Q6GMX0
IPI00430848	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00909649
IPI00430856	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00479708
IPI00431749	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00432063	Nenhuma fonte identificada		
IPI00433678	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00384952
IPI00434943	Nenhuma fonte identificada		
IPI00437593	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00414694
IPI00437847	Nenhuma fonte identificada		
IPI00439447	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00439491	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00785067

IPI00440162	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI00845431
IPI00440162	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00440192	IPI já não existe	Entrada actualizada	Q6P2J1
IPI00440192	IPI desactualizado	Entrada actualizada	Q6P2J1
IPI00440577	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00440764	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00441042	IPI já não existe	Entrada actualizada	Q6P5S3
IPI00441042	IPI desactualizado	Entrada actualizada	Q6P5S3
IPI00441043	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00784865
IPI00441196	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00426051
IPI00445702	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00472548
IPI00446503	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00647704
IPI00446534	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00784830
IPI00448517	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00300659
IPI00448707	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00448707	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00448792	IPI desactualizado	Entrada actualizada	B9 zVX6
IPI00448925	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00448938	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00448984	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00448985	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00784985
IPI00448996	IPI já não existe	Entrada actualizada	Q6PJG0
IPI00448996	IPI desactualizado	Entrada actualizada	Q6PJG0
IPI00449202	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI00830051
IPI00449202	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00449920	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00449920	Nome do gene desactualizado	Nome do gene actualizado	
IPI00450309	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00450931	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI00744476
IPI00452748	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00552578
IPI00453459	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI00892604
IPI00453476	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00549725
IPI00454686	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00454960	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI00219477
IPI00455115	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00455296	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00455457	Nenhuma fonte identificada		
IPI00455535	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00387117
IPI00455552	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI00888712
IPI00455589	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00455599	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	

IPI00456158	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00456195	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00456429	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00456619	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00719373
IPI00456637	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00555872
IPI00456666	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI00784990
IPI00456772	IPI já não existe	Entrada actualizada	Q6DHW4
IPI00456772	IPI desactualizado	Entrada actualizada	Q6DHW4
IPI00456832	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI00741537
IPI00457054	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00457080	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00465028	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00465032	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI00744115
IPI00465032	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00465081	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00550069
IPI00465151	Nenhuma fonte identificada		
IPI00465186	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00465248	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00470525	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI00783313
IPI00470554	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00013909
IPI00470619	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00470653	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00748998
IPI00470657	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00470728	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00793522
IPI00470777	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00784990
IPI00470798	IPI incorporado noutro	Entrada actualizada	IPI00930072
IPI00470798	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI00930072
IPI00470833	Nome do gene desactualizado	Nome do gene actualizado	
IPI00470852	Nenhuma fonte identificada		
IPI00470919	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00411462
IPI00471941	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI00914849
IPI00471941	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00471965	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI00940245
IPI00471986	Nome do gene desactualizado	Nome do gene actualizado	
IPI00472068	IPI incorporado noutro já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00011454
IPI00472082	IPI incorporado noutro já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00783625
IPI00472102	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI00784154
IPI00472102	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00472119	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00419880
			Q68CN4

IPI00472218	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI00743117
IPI00472218 z	Nenhuma fonte identificada		
IPI00472226	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00449920
IPI00472334	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI00552873
IPI00472345	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI00827754
IPI00472382	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00332272
IPI00472548	Nenhuma fonte identificada		
IPI00472610	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI008163147
IPI00472610	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00472610	Nome do gene desactualizado	Nome do gene actualizado	
IPI00472627	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI00829663
IPI00472627	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00472724	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00472762	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00472879	Nenhuma fonte identificada		
IPI00472961	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00784773
IPI00473011	Nome do gene desactualizado	Nome do gene actualizado	
IPI00473015	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00449920
IPI00473036	Nenhuma fonte identificada		
IPI00473069	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00473097	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00909649
IPI00477046	Nome do gene desactualizado	Nome do gene actualizado	
IPI00477069	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00477086	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00477090	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00479708
IPI00477183	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI00790778
IPI00477206	Nenhuma fonte identificada		
IPI00477225	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00216694
IPI00477298	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00477336	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00022429
IPI00477365	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00216550
IPI00477452	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00477457	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00003881
IPI00477463	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00914849
IPI00477495	Nenhuma fonte identificada		
IPI00477536	Nenhuma fonte identificada		
IPI00477644	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00477693	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00477703	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00099433
IPI00477796	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00334799

IPI00477804	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI00876888
IPI00477804	Nome da proteína desactualizado IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma	Nome da proteína actualizado	
IPI00477807	salivar	Entrada eliminada	IPI00418471
IPI00477925	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00477962	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00478156	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00478162	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00477714
IPI00478198	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00478198	Nome do gene desactualizado	Nome do gene actualizado	
IPI00478276	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00478292	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI00871535
IPI00478348	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00478375	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI00552323
IPI00478522	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00410017
IPI00478540	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00022774
IPI00478599	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00478600	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI00829912
IPI00478600	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00478621	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00477714
IPI00478671	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00218460
IPI00478672	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00478761	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00304273
IPI00478853	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00022822
IPI00478991	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00479003	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00479018	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00479169	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00479708
IPI00479186	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00479191	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00013881
IPI00479267	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00332887
IPI00479309	Nenhuma fonte identificada		
IPI00479315	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00299573
IPI00479319	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00382995
IPI00479359	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI00843975
IPI00479359	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00479359	Nome do gene desactualizado	Nome do gene actualizado	
IPI00479403	IPI incorporado noutra já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00299145
IPI00479461	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00479484	IPI já não existe	Entrada eliminada	

IPI00479490	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00414499
IPI00479493	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00479553	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00479555	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00479579	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00329306
IPI00479708	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína atualizado	
IPI00479708	Nome do gene desactualizado	Nome do gene atualizado	
IPI00479805	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00304273
IPI00479877	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína atualizado	
IPI00479883	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00743963
IPI00479894	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00477714
IPI00479902	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00009865
IPI00479952	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00218999
IPI00479981	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00480016	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00480034	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00154742
IPI00480035	IPI desactualizado	Entrada atualizada	IPI00719452
IPI00480035	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína atualizado	
IPI00480091	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00480131	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00289334
IPI00480183	IPI desactualizado	Entrada atualizada	IPI00853169
IPI00480183	Nenhuma fonte identificada		
IPI00480193	Nenhuma fonte identificada		
IPI00513726	Nenhuma fonte identificada		
IPI00513736	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00219919
IPI00513743	Nenhuma fonte identificada		
IPI00513786	IPI desactualizado	Entrada atualizada	IPI00843765
IPI00513808	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00514055	Nenhuma fonte identificada		
IPI00514114	Nenhuma fonte identificada		
IPI00514124	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00011692
IPI00514196	Nenhuma fonte identificada		
IPI00514381	IPI incorporado noutro	Entrada atualizada	IPI00790636
IPI00514381	Nenhuma fonte identificada		
IPI00514392	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00169276
IPI00514424	Nenhuma fonte identificada		
IPI00514438	Nenhuma fonte identificada		
IPI00514466	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00514508	Nenhuma fonte identificada		
IPI00514540	Nenhuma fonte identificada		
IPI00515046	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00478493

IPI00549172	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI00909140
IPI00549190	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI00930684
IPI00549220	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00549254	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00549259	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00014572
IPI00549291	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00549304	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00549319	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00843975
IPI00549363	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00549400	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00549414	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI00894384
IPI00549422	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00479708
IPI00549440	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00549462	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00549482	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00549485	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00549504	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00021997
IPI00549514	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00549519	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00025840
IPI00549520	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00549576	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00549594	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00549614	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00290078
IPI00549615	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00479708
IPI00549654	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00549682	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00465439
IPI00549705	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00719452
IPI00549707	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00549728	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00075248
IPI00549747	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00030205
IPI00549769	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00549776	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00549788	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00549805	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00440493
IPI00549831	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00549837	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00550364
IPI00549839	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00300725
IPI00549848	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00023748
IPI00549878	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00296526
IPI00549884	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00075248
IPI00549969	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI00399307

IPI00549998	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00550000	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00550025	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00784990
IPI00550048	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00550061	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00550062	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00550066	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00396434
IPI00550073	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00550089	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI00748145
IPI00550090	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00550090	Nome do gene desactualizado	Nome do gene actualizado	
IPI00550111	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00550142	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00550162	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00550166	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00550184	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00550204	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00550207	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00418471
IPI00550213	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00550241	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00021840
IPI00550245	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00419880
IPI00550292	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00550293	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00550296	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00550305	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00021447
IPI00550315	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00550317	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00550347	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00784990
IPI00550367	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI00448925
IPI00550392	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00550438	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00550456	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00550462	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00550488	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00744692
IPI00550508	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00550509	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00550513	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00550584	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00550589	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00550591	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00290566
IPI00550599	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00550640	IPI já não existe	Entrada eliminada	

IPI00550647	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00550654	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00550069
IPI00550663	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00550701	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00556308
IPI00550717	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00017855
IPI00550731	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00550751	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00550769	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00414315
IPI00550818	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00479145
IPI00550861	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00304171
IPI00550874	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00550069
IPI00550909	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00450768
IPI00550932	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00550935	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00643184
IPI00550945	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00550947	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00550964	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00419215
IPI00550976	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00550991	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00550996	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00909649
IPI00551005	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00551041	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI00913957
IPI00551049	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00551050	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00453473
IPI00554788	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00555900	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00888712
IPI00555945	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00788824
IPI00607792	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI00883885
IPI00639933	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00640653	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI00186004
IPI00640653	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00641829	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00641950	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00848226
IPI00642017	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00643184	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00643920	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00645078	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00645363	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	

IPI00646010	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00646304	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00654888	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00658130	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00718819	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00154742
IPI00719373	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00735451	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00736507	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00737141	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00737304	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00737498	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00737498	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI00741005
IPI00737498	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00737886	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI00829833
IPI00737886	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00738024	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00829912
IPI00740545	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00742233	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00742691	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00743389	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI00953695
IPI00743389	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00743963	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI00829699
IPI00744561	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00745035	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00746963	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00747373	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI00936444
IPI00747752	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00748158	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00479708
IPI00760678	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI00944677
IPI00761159	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00783540	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00337548
IPI00783625	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00783879	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00783993	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00784070	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00784519	IPI já não existe	Entrada actualizada	Q7 z2U7
IPI00784545	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00719373
IPI00784627	IPI já não existe	Entrada actualizada	Q6GMW6
IPI00784661	IPI já não existe	Entrada actualizada	Q6GMW6
IPI00784669	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI00889156

IPI00784711	IPI já não existe	Entrada actualizada	Q6GMW6
IPI00784713	IPI já não existe	Entrada actualizada	Q6P5S3
IPI00784807	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00784810	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00828182
IPI00784828	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI00930124
IPI00784865	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00784935	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00784942	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI00930072
IPI00784950	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00784969	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00784983	IPI já não existe	Entrada actualizada	Q6P5S3
IPI00784985	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00784998	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI00930442
IPI00785050	IPI já não existe	Entrada actualizada	Q6GMV8
IPI00785067	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00785079	IPI já não existe	Entrada actualizada	Q6P2J1
IPI00785164	IPI já não existe	Entrada actualizada	Q96E61
IPI00785196	IPI já não existe	Entrada actualizada	Q6PJG0
IPI00785200	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI00887169
IPI00787305	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00787844	IPI já não existe	Entrada eliminada	
IPI00789259	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI00719452
IPI00789324	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00790669	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00298860
IPI00793199	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00794268	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00373937
IPI00794549	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00796364	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00032513
IPI00796909	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00299078
IPI00807428	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00807531	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI00785084
IPI00827522	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI00887169
IPI00827754	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00829663	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI00939996
IPI00829814	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00930442
IPI00829980	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI00854582
IPI00867509	Nome da proteína desactualizado	Nome da proteína actualizado	
IPI00872531	Nenhuma fonte identificada		
IPI00886990	IPI desactualizado. IPI novo já identificado no proteoma salivar	Entrada eliminada	IPI00936444
IPI00893578	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI00829636

IPI00909649	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI00940069
IPI00930111	IPI desactualizado	Entrada actualizada	IPI00425976
Q7Z2U7	Entrada repetida	Entrada eliminada	