

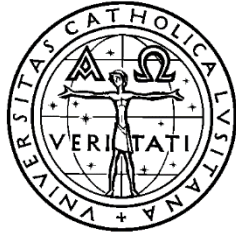
UNIVERSIDADE
CATÓLICA | INSTITUTO DE
PORTUGUESA | CIÊNCIAS DA SAÚDE

INTERACTOMA DA CAVIDADE ORAL EM CANCRO ORAL

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

Por
Carolina Andreia Coelho Mendes

Viseu, 2014



UNIVERSIDADE CATÓLICA PORTUGUESA | INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

INTERACTOMA DA CAVIDADE ORAL EM CANCRO ORAL

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

Por

Carolina Andreia Coelho Mendes

Sob a orientação de Professor Doutor Nuno Rosa

Viseu, 2014

Aos meus Pais, Cláudia e Rui, pelo amor, esforço, carinho e por estarem sempre presentes. Obrigada.

Aos meus Irmãos, André e Pedro, por serem os meus melhores amigos e o meu orgulho.

Ao Rodolfo por todo o amor, ajuda, alegria e paciência.

A toda a minha Família por me transmitir os valores de união, partilha e amizade.

Agradecimentos

Ao Professor Doutor Nuno Rosa pela ajuda e motivação durante a elaboração deste trabalho.

À Professora Doutora Maria José Correia por todas as críticas construtivas e pela disponibilidade.

A todos os Professores pelos conhecimentos transmitidos.

A todos os Funcionários pela simpatia e disponibilidade.

A todos os Amigos que fizeram parte do meu percurso académico.

Resumo

Introdução: a cavidade oral é um ecossistema complexo com um papel crucial em processos biológicos como a fala, respiração e digestão, e é influenciada por fatores físicos, químicos, nutricionais e ambientais, refletindo as interações moleculares estabelecidas entre proteínas do hospedeiro e proteínas produzidas pelo microbiota que o coloniza.

O cancro da cavidade oral é dos mais prevalentes em todo o mundo e, por este mesmo motivo, a investigação científica tende a desenvolver novas técnicas no sentido de clarificar a fisiopatologia e descobrir novos métodos de diagnóstico, tratamento e prevenção.

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

Objetivos: determinar e interpretar, do ponto de vista fisiopatológico, o conjunto de interações entre as proteínas microbianas e do hospedeiro na cavidade oral, no contexto do cancro oral, isto é, identificar as moléculas envolvidas, mas também os mecanismos moleculares em que elas participam.

Material e métodos: as proteínas humanas do cancro oral foram submetidas ao OralInt – ferramenta informática que identifica interações moleculares interorganismo na cavidade oral – de modo a estabelecer o interactoma hospedeiro-microbiota. As proteínas com interação foram submetidas ao AgBase com o intuito de verificar os processos biológicos em que participam.

Resultados e Conclusão: o conhecimento do Interactoma do cancro oral permitiu verificar quais os eventos biológicos com maior relevância em cancro oral, que poderão estar sob influência do microbiota oral. Algumas das proteínas poderão ser utilizadas para o diagnóstico precoce constituindo um painel de biomarcadores e no tratamento mais direcionado e menos invasivo, formando potenciais alvos terapêuticos.

Palavras-chave: proteínas da cavidade oral, OralOme, OralCard, interações proteína-proteína, interatómica, cancro oral, OralInt

Abstract

Introduction: the oral cavity is a complex ecosystem with a crucial role in biological processes such as speech, breathing and digestion, and is influenced by physical, chemical, nutritional and environmental factors, reflecting the molecular interactions established between host proteins and proteins produced by the colonizing microbiota.

Oral cavity cancer is one of the most prevalent worldwide and, on that basis, scientific research is needed to develop new techniques to clarify the pathophysiology and discover new methods of diagnosis, treatment and prevention.

Bioinformatics tools play an important role in this task by providing the means for establishing the pairs of interacting proteins, which is in this work we considered the host-microbial interactome in oral cancer.

Objectives: to determine and interpret, from a pathophysiological point of view, the set of interactions between the host and microbial proteins in the oral cavity, in the oral cancer context that's, the identification of the molecules involved and the molecular mechanisms in which they participate.

Methods: human proteins of oral cancer were submitted to Oralint – software tool that identifies interorganism molecular interactions in the oral cavity- to establish the microbial–host interactome. The proteins with interaction were submitted to AgBase in order to verify the biological processes in which they participate.

Results and Conclusion: the knowledge of the Interactome of oral cancer has shown the biological processes with higher relevance in oral cancer, which may be under the influence of the oral microbiota. Some of the proteins may be used for early diagnosis in a panel of biomarkers and more targeted and less invasive treatments, becoming potential therapeutic targets.

Keywords: oral cavity proteins, OralOme, OralCard, protein-protein interactions, interatomic, oral cancer, OralInt

Índice

Agradecimentos	vii
Resumo	ix
Abstract.....	xi
Índice	xiii
Lista de Tabelas	xv
Lista de Figuras	xvii
Lista de Abreviaturas.....	xix
Nota Prévia	xxi
1. Introdução.....	1
1.1. Cavidade oral.....	3
1.1.1. Anatomia da cavidade oral	3
1.1.2. Microbiologia da cavidade oral	4
1.2. Saliva	6
1.2.1. Origem e Composição	7
1.2.2. Funções.....	8
1.2.3. A saliva como fluido de diagnóstico	9
1.3. Cancro da cavidade oral	11
1.3.1. Definição e epidemiologia do cancro oral.....	11
1.3.2. Processos biológicos em cancro e sua associação com o microbiota oral.....	12
1.3.3. Métodos de diagnóstico.....	21
1.3.4. Fatores etiológicos de cancro oral	23
1.3.5. Tratamento.....	24
1.4. Ferramentas Bioinformáticas.....	24
2. Objetivos.....	27
3. Materiais e Métodos	31
4. Resultados.....	39
5. Discussão.....	55
6. Conclusão	63
7. Trabalho Futuro	67
8. Bibliografia.....	71
9. Anexos.....	79

Lista de Tabelas

Tabela 1 - Funções da saliva e componentes salivares envolvidos (adaptado de Kaufman E. 2002 ⁽¹⁴⁾ e Seeley 2003 ⁽¹⁾)	9
Tabela 2 - Proteínas envolvidas no processo de apoptose (<i>Apoptotic process</i>)	45
Tabela 3 - Proteínas envolvidas na regulação negativa do processo de apoptose (<i>Negative regulation of apoptotic process</i>)	46
Tabela 4 - Proteínas envolvidas na organização da matriz extracelular (<i>extracelular matrix organization</i>)	47
Tabela 5 - Proteínas envolvidas no processo viral (<i>viral process</i>)	48
Tabela 6 - Proteínas envolvidas na transcrição (<i>Transcription, DNA-templated</i>) e na regulação da transcrição (<i>Regulation of transcription, DNA-templated</i>)	49
Tabela 7 - Proteínas envolvidas na resposta imune inata (Inate immune response)	49
Tabela 8 - Proteínas envolvidas na angiogénese (<i>angiogenesis</i>)	50
Tabela 9 - Processos biológicos em que participam as proteínas mais relevantes	51

Lista de Figuras

Figura 1 - Vias de sinalização da apoptose (http://www.genome.jp/kegg-bin/show_pathway?map04210).....	14
Figura 2 - Via de sinalização da angiogénese (http://www.cellsignal.com/common/content/content.jsp?id=pathways-angiogenesis)	16
Figura 3 - Via de sinalização do ciclo celular (http://www.genome.jp/kegg-bin/show_pathway?hsa04110).....	18
Figura 4 - Via de sinalização da replicação de ADN (http://www.genome.jp/kegg/pathway/map/map03030.html).....	19
Figura 5 - Exemplo de regulação da proliferação celular (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3472758/figure/f1-ijms-13-11471/)..	20
Figura 6 - Via de sinalização da adesão celular (http://www.genome.jp/kegg-bin/show_pathway?hsa04514).....	21
Figura 7 - Página web do OralCard referente ao Cancro Oral (http://bioinformatics.ua.pt/OralCard/diseases/view/68009062).....	34
Figura 8 - Portal AgBase e seleção da ferramenta de classificação funcional GoRetriever (http://www.agbase.msstate.edu/).....	35
Figura 9 - Página web do AgBase e seleção do tipo de acesso na ferramenta de classificação funcional GoRetriever (http://www.agbase.msstate.edu/cgi-bin/tools/goretriever_select.pl).....	35
Figura 10 - Portal do AgBase e demonstração da seleção do GoSummary file (http://www.agbase.msstate.edu/cgi-bin/tools/goretriever_select.pl)	36
Figura 11 - Ferramenta GoSlimViewer em que se submetem os resultados obtidos no GoRetriever através do GoSummary File no AgBase (http://www.agbase.msstate.edu/cgi-bin/tools/goslimviewer_select.pl)	36
Figura 12 - Ferramenta informática do AgBase e visualização dos resultados obtidos no GoSlimViewer (http://www.agbase.msstate.edu/cgi-bin/tools/goslimviewer.pl)	37
Figura 13 - Metodologia do trabalho	37
Figura 14 - Número de proteínas envolvidas nos processos biológicos de cancro oral .	42
Figura 15 - Proteínas que participam em mais processos biológicos	43
Figura 16 - Processos biológicos com maior número de proteínas envolvidas.....	44
Figura 17 - Rede do Interactoma humano-microbiota em cancro oral por processo biológico obtida através da ferramenta Cytoscape	54

Lista de Abreviaturas

ADN: ácido desoxirribonucleico
ARN: ácido ribonucleico
BID: BID – BH3 interacting-domain death agonist
Ca²⁺: íão cálcio
CDKs: cinases dependentes de ciclina
Cl⁻: íão cloreto
ECM: matriz extacelular
EGF: fator de crescimento epidermal
EGFR: recetor do fator de crescimento epidérmico
H₂PO₄⁻: íão hidrogenofosfato
HCO₃⁻: íão hidrogenocarbonato
HIF: hypoxia-inducible factor
HPV: vírus do papiloma humano
I⁻: íão iodeto
IgA: imunoglobulina A
IGF-I e IGF-II: fator de crescimento semelhante a insulina
K⁺: íão potássio
mARN: ácido ribonucleico mensageiro
MCM: mini chromosome maintenance complex
MeSH: Medical Subject Headings
Mg²⁺: íão magnésio
MHC: major histocompatibility complex
MMPs: matrix metalloproteinases
Na⁺: íão sódio
NGF: fator de crescimento neuronal
OMS: Organização Mundial de Saúde
p53: cellular tumor antigen p53
PET-TAC: tomografia com emissão de positrões
RAGE: receptor for advanced glycation endproducts
RM: ressonância magnética
TAC: tomografia axial computadorizada
TGF α e TGF β : fator de crescimento transformador

TNFr: tumoral necrotic fator receptor

UniProt: Universal Protein Resource

VIH: vírus da imunodeficiência humana

Nota Prévia

Ao longo desta dissertação aparecem algumas expressões em língua Inglesa, escritas em itálico. Estas surgem da necessidade de uniformização global dos termos usados para descrever conceitos biológicos, entre culturas e línguas diferentes. A tradução destas expressões poderia implicar a distorção do seu significado original e a alteração do conceito biológico que se pretende identificar.

1. Introdução

1. Introdução

1.1. Cavidade oral

1.1.1. Anatomia da cavidade oral

A cavidade oral, vulgarmente conhecida por boca, é a porção do tubo digestivo delimitada anteriormente pelos lábios, posteriormente pela fauce (orofaringe), lateralmente pela mucosa jugal, superiormente pelo palato e inferiormente por um pavimento muscular – o pavimento da boca. A cavidade oral encontra-se dividida em duas secções: o vestíbulo, que corresponde ao espaço entre os lábios, as bochechas e os processos alveolares – que contêm os dentes – e a cavidade oral propriamente dita que se encontra numa posição mediana relativamente aos processos alveolares⁽¹⁾.

A cavidade oral e o esófago são revestidos por epitélio escamoso estratificado idêntico às outras mucosas de revestimento como as da pele e da vagina, mas apresenta maior variação na zona epitelial devido a diferentes percentagens de queratinização, dependendo do local e da função. Nas zonas sujeitas a forças mecânicas, tal como a gengiva e o palato duro, verifica-se a presença de uma camada de epitélio queratinizado, que está aderido a uma camada de tecido conjuntivo, denominada lâmina própria. Esta camada, conhecida como estrato córneo, permite a dissipação das forças mecânicas exercidas. As regiões que não estão sujeitas a forças mecânicas tão intensas, como por exemplo, o pavimento da cavidade oral e as regiões jugais, têm epitélio não queratinizado, o que confere uma maior flexibilidade que as funções como a mastigação, a fonação e a deglutição exigem. Os epitélios referidos anteriormente possuem camadas lipídicas nas zonas epiteliais mais externas que servem de barreiras de proteção contra vários agentes, tais como toxinas microbianas, enzimas e carcinogénios⁽²⁾. Algumas das reações da mucosa oral assemelham-se às apresentadas pela pele. Isto poderá dever-se ao fato da mucosa oral fazer a transição entre o trato gastrointestinal e a pele. Como resultado, tanto as doenças das membranas mucosas como as da pele podem originar lesões na boca.

A cavidade oral é conhecida como um “espelho que reflete a condição geral do indivíduo”, pois alterações provocadas por algumas patologias podem ser observadas na mucosa oral, tais como a diabetes e deficiências vitamínicas⁽²⁾ e é uma estrutura com um papel importante na comunicação verbal, na relação social e na respiração e digestão⁽³⁾.

As glândulas salivares encontram-se distribuídas pela cavidade oral e assumem um papel importante no equilíbrio da mesma. Há três pares de glândulas multicelulares – glândulas salivares *major*: as parótidas, as sublinguais e as submandibulares. Existem, ainda, glândulas tubulares enoveladas localizadas abaixo do epitélio da língua (glândulas linguais), do palato (glândulas palatinas), região jugal (glândulas bucais) e lábios (glândulas labiais), sendo conhecidas por glândulas salivares *minor*. As secreções destas glândulas ajudam a manter a cavidade oral húmida e iniciam o processo da digestão⁽¹⁾.

Todas as glândulas salivares principais são constituídas por glândulas alveolares compostas ramificadas. 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 glândulas parótidas são serosas e produzem principalmente saliva aquosa. São as maiores de todas e estão localizadas anteriormente ao ouvido de cada lado da cabeça. As submandibulares são mistas, com mais alvéolos serosos do que mucosos. Cada glândula pode ser palpada ao longo do limite inferior da metade posterior da mandíbula. As glândulas sublinguais, localizadas imediatamente abaixo da mucosa do pavimento da boca, são mistas e apesar de terem alguns alvéolos serosos, são principalmente constituídas por alvéolos mucosos.

As glândulas salivares sofrem alterações estruturais com a idade e isso reflete-se na quantidade da saliva produzida e no tipo de componentes segregados, tendo implicações profundas na composição e funções da saliva produzida e, conseqüentemente, na saúde oral⁽²⁾.

1.1.2. Microbiologia da cavidade oral

A cavidade oral é um ecossistema complexo onde fatores humanos, microbianos e ambientais interagem numa dinâmica de equilíbrio⁽⁴⁾. A cavidade oral representa a “porta de entrada” do trato respiratório e do trato gastrointestinal e, como tal, está sujeita a condições ecológicas únicas. Deste modo, as populações microbianas que encontramos neste ecossistema diferem das encontradas em qualquer outro lugar do corpo. A maioria destes microrganismos é inofensiva, embora em certas situações, como por exemplo imunodeficiências, podem ser o fator etiológico de diversas patologias, como a cárie ou a doença periodontal.

O termo biofilme é definido como “organismos que colonizam uma superfície e que se encontram embebidos numa matriz rica em polímero”. A placa bacteriana é o exemplo de um biofilme⁽⁵⁾. O conhecimento dos microrganismos que constituem o biofilme oral é fundamental para compreender a ecologia microbiana e o desenvolvimento de doenças orais.

Entre os microrganismos que colonizam a cavidade oral encontramos vírus, protozoários, fungos, *archaea* e bactérias, com comunidades bacterianas altamente complexas, constituídas por cerca de 1000 espécies^(6, 7). A cavidade oral inclui vários *habitats* microbianos, nomeadamente os dentes, o sulco gengival e/ou bolsa periodontal, gengiva aderida, língua, bochecha, lábio, palato duro e palato mole. Contiguamente à cavidade oral estão as amígdalas, faringe, esófago, tubo de Eustáquio, ouvido médio, traqueia, pulmões, seios e cavidades nasais. O microbioma oral humano é definido como o conjunto de todos os microrganismos que podem ser encontrados na cavidade oral humana e nas extensões contíguas (terminam no esófago distal)⁽⁸⁾. Os constituintes da microflora oral têm um papel importante para a homeostasia dos tecidos na cavidade oral. Estas populações, normalmente benignas, que colonizam as superfícies da boca estabelecem-se logo após o nascimento e persistem durante toda a vida do indivíduo. A menos que haja perturbações significativas induzidas por *stress* ambiental adverso, tais como, um aumento de hidratos de carbono na dieta ou redução do fluxo salivar, que podem levar a uma redução sustentada do pH da placa, não existem danos consideráveis para os tecidos colonizados. Assim, os microbiotas da cavidade oral não têm, necessariamente, um efeito adverso sobre a saúde do indivíduo⁽⁵⁾.

Estão relatados alguns parâmetros que são capazes de afetar a microflora oral do hospedeiro através da colonização, sendo importante referir⁽⁵⁾:

- Temperatura: a temperatura da boca de uma pessoa saudável pode ter variações consideráveis. Estas diferenças de temperatura podem influenciar a síntese de reguladores globais de expressão de genes em bactérias, como os reguladores da transcrição, exemplo do fator sigma.

- pH: as bactérias da placa oral são capazes de produzir ácido lático e outros ácidos orgânicos a partir do metabolismo de açúcares simples provenientes da dieta. As bactérias sensíveis aos ácidos são eliminadas e as bactérias tolerantes a ácidos aumentam na microflora. Esta mudança ecológica provoca uma diminuição do pH e aumenta o potencial cariogénico.

- Oxigênio: a concentração de oxigênio na boca varia dependendo do local em que é medida. A placa bacteriana recém-formada é relativamente rica em oxigênio, mas a placa madura é anaeróbia. A produção e o metabolismo de espécies altamente reativas de oxigênio pelas bactérias e pelo hospedeiro são altamente tóxicas para as bactérias e provocam danos irreversíveis nas membranas e proteínas.

- Forças abrasivas mecânicas: a distribuição da placa sobre os dentes não é homogênea. Normalmente, as superfícies vestibular e lingual/palatina dos dentes são as que acumulam menos placa, mesmo em pacientes com maus hábitos de higiene. Isto deve-se à ação de limpeza abrasiva do movimento dos lábios, da língua e da mucosa jugal ao longo da superfície dos dentes.

- Fluxo salivar: a saliva é importante no controle da formação da placa bacteriana e na patogênese de patologias que acometem a cavidade oral.

- Idade do hospedeiro: a literatura sugere que a boca é suscetível à colonização por diferentes espécies bacterianas em diversos momentos no decurso da vida humana.

Em suma, os hábitos sociais e o estado de saúde geral do indivíduo podem levar ao crescimento excessivo de alguns componentes não expressivos da microflora oral e podem predispor certas patologias. Da mesma forma, a resposta imune pode diminuir com o avançar da idade, o que pode levar à colonização por microrganismos exógenos e frequentemente patogênicos. Os microbiotas orais também podem agir como agentes patogênicos oportunistas e causar doenças graves em outras partes do corpo quando entram na circulação⁽⁹⁾.

Os biofilmes demonstram resistência a antibióticos e ao sistema de defesa do hospedeiro. Por este motivo, doenças induzidas pelo biofilme são de difícil tratamento⁽⁵⁾.

1.2. Saliva

Entender a biologia da cavidade oral e as doenças que a afetam, bem como as doenças sistêmicas que nela se refletem, depende da compilação e integração de informação gerada por técnicas não-invasivas de análise salivar⁽⁴⁾.

A saliva é um fluido corporal que lubrifica e protege os tecidos orais contra cáries, traumas, inflamações e facilita a remineralização dos dentes.

1.2.1. Origem e Composição

A saliva é o fluido biológico hipotônico que banha toda a cavidade oral. Por dia são segregados cerca de 1 a 1,5 litros de saliva, sendo que a secreção salivar é estimulada pelos sistemas simpático e parassimpático, tendo este último um papel mais proeminente. A saliva é uma mistura complexa constituída maioritariamente por água (99%), mas contém também uma mistura de eletrólitos (sódio, potássio, cálcio, cloro, magnésio, bicarbonato e fosfato), proteínas (incluindo enzimas, imunoglobulinas e outros fatores antimicrobianos, glicoproteínas da mucosa, vestígios de albumina e vários polipéptidos e oligopéptidos) e, em menores quantidades, glucose e produtos nitrogenados (ureia e amónia). Estes componentes não são apenas importantes para manter a saúde da cavidade oral, mas também para fornecer informações sobre estados de doença. Em situação fisiológica, a saliva apresenta-se incolor e inodora, tendo um papel crucial no sistema digestivo e estomatognático⁽¹⁰⁾.

A saliva total (*whole* saliva) é o fluido composto por diferentes tipos de saliva, com origem nas glândulas *majores*⁽¹¹⁻¹³⁾. Cerca de 90% do volume salivar resulta da produção destas glândulas, sendo que 65 a 70% são provenientes das submandibulares, 20% das parótidas e 7 a 8% das sublinguais. As glândulas salivares *minor*, dispersas pela mucosa oral, são as responsáveis pela produção da restante saliva (<10%)^(11, 12). Para além da saliva proveniente das glândulas salivares, a saliva total é constituída por outros elementos. A recolha da saliva específica de uma determinada glândula é possível, embora se trate de um procedimento mais complexo e, geralmente, com interesse apenas para estudo ou diagnóstico de situações de patologia glandular⁽¹⁴⁾.

Os outros elementos que entram na composição da saliva provêm do fluido crevicular, secreções nasais e brônquicas, derivados do plasma sanguíneo, bactérias e produtos bacterianos, vírus, fungos, células epiteliais que sofreram descamação, componentes celulares e restos alimentares. Podem ainda ser encontrados constituintes do plasma sanguíneo que não são normalmente associados à constituição salivar. Fármacos e hormonas podem chegar à saliva através de transporte passivo ou difusão a partir do meio intracelular.

Os componentes salivares podem ser divididos em inorgânicos e orgânicos e conferem à saliva o seu pH ligeiramente ácido (entre 6 e 7). Os componentes inorgânicos, além da água, são os iões Na^+ , Cl^- , Ca^{2+} , K^+ , HCO_3^- , H_2PO_4^- , F^- , I^- e Mg^{2+} . Dos elementos orgânicos destacam-se a ureia, o ácido úrico, a glicose, o colesterol, os

ácidos gordos, os aminoácidos e as proteínas como as mucinas, as amilases, as glicoproteínas, as lisozimas, as peroxidases, as histatinas, as cistatinas, as imunoglobulinas e as defensinas. Estas moléculas criam uma película que, associada ao componente microbiano, forma o biofilme oral^(2, 12, 13, 15).

A ausência de secreções salivares aumenta a probabilidade de ulceração e de infecções da mucosa oral, bem como do aparecimento de cáries dentárias⁽¹⁾.

1.2.2. Funções

A saliva está envolvida em diversas funções, estando as mesmas intimamente relacionadas com a sua composição em proteínas. As principais funções da saliva são o auxílio na digestão, mastigação, deglutição, fonação, proteção antibacteriana, antifúngica e antiviral e, por último, a ação lubrificante e de tampão. Destacam-se, ainda, as propriedades de retenção de dispositivos protéticos e o importante papel desempenhado no sentido do paladar. Para além destas funções atribuídas “classicamente” à saliva, ela poderá ter muitas mais, conferidas pela enorme variabilidade de proteínas que apresenta^(10, 14). A tabela 1 apresenta a síntese das principais funções da saliva.

Tabela 1 - Funções da saliva e componentes salivares envolvidos (adaptado de Kaufman E. 2002 ⁽¹⁴⁾ e Seeley 2003⁽¹⁾)

Função salivar	Constituintes salivares
Lubrificação	Mucinas, glicoproteínas, água
Ação antimicrobiana	Amilase, elementos do complemento, defensinas, lisozimas, mucinas, cistatinas, histatinas, glicoproteínas, IgA
Limpeza	Água
Remineralização	Iões de cálcio, fosfato e componente proteico
Solução tampão	Iões bicarbonato, cálcio e componente proteico
Fatores de crescimento	Fator de crescimento epidermal (EGF), fator de crescimento neuronal (NGF), fator de crescimento de fibroblastos (FGF), fatores de crescimento transformador (TGF α e TGF β) e fatores de crescimento semelhante a insulina (IGF-I e IGF-II)
Digestão	Mucinas, água, amilases, lipases, ribonucleases, protéases
Fala	Água e mucinas
Sabor	Água e gustina
Proteção da mucosa	Mucinas, electrólitos, água

1.2.3. A saliva como fluido de diagnóstico

O sangue, a urina, o soro e a saliva são fluidos usados para o diagnóstico de várias doenças. A análise da saliva tem um enorme potencial no diagnóstico clínico, particularmente em condições que envolvem a cavidade oral, como é o caso do cancro oral⁽¹⁴⁾.

A alteração do perfil das comunidades microbianas orais em várias patologias tem particular interesse para o diagnóstico precoce, principalmente em doenças que envolvem a cavidade oral⁽¹⁶⁾.

Atualmente, os cientistas 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 em ambiente clínico. Um desafio para a ciência moderna é a realização de estudos longitudinais sobre a diversidade bacteriana da saliva, bem como a obtenção de amostras de tecido em diferentes fases de progressão do cancro oral. Estes dados podem fornecer fundamentos críticos na identificação de bactérias indicadoras de carcinogénese e sugerir novas estratégias no diagnóstico precoce e tratamentos mais direcionados^(16, 17).

A saliva foi inicialmente usada como fluido de diagnóstico na medicina tradicional chinesa, há mais de duzentos anos atrás. Nessa altura, acreditava-se que as alterações na saliva eram indicadoras de doenças nos pacientes⁽¹⁷⁾.

Dos fluidos biológicos usados para diagnóstico de patologias, a saliva tem algumas vantagens distintas. A recolha de saliva trata-se de um método simples e não-invasivo que leva a um maior aceiteamento por parte dos pacientes, uma vez que não é necessário equipamento especial, tratando-se de um método económico e rápido e conseguem-se obter quantidades suficientes para a sua análise. Para os profissionais de saúde, a recolha de saliva é mais segura em comparação com os testes sanguíneos, que os podem expor a vírus como o VIH – vírus da imunodeficiência humana – e o vírus da hepatite, pois o risco de contágio pela saliva é muito baixo devido, por um lado, a uma menor concentração viral e, por outro, pela presença na saliva de vários fatores que conferem proteção antiviral^(7, 14, 18).

É possível detetar várias drogas através da saliva e a sua quantificação também é exequível, sendo um substituto viável aos testes sanguíneos. Atualmente é possível a deteção 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 fatores de risco genéticos⁽¹⁹⁾.

A saliva é 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 e apresenta menos risco para o paciente e para o profissional de saúde comparativamente a metodologias tradicionais⁽¹⁹⁾.

O aumento exponencial da incidência de cancro da cabeça e pescoço e o seu diagnóstico tardio dirigem a investigação científica no sentido de clarificar a fisiopatologia e descobrir novos métodos de diagnóstico, tratamento e prevenção.

Assim, a análise abrangente e a identificação do conteúdo do proteoma da saliva humana podem contribuir para o entendimento da fisiopatologia oral e fornecer uma base para o reconhecimento de potenciais biomarcadores de doenças humanas⁽²⁰⁾. O desenvolvimento de técnicas como a espectrometria de massa e a cromatografia líquida permitem fazer diagnósticos de patologias a partir da saliva^(17, 21).

Neste sentido, a detecção de proteínas presentes nos diversos tipos de cancro pode abrir novas vertentes na compreensão da relação entre elas, bem como a sua importância na patologia⁽²²⁾.

Existem evidências de que a microflora oral poderá desempenhar um papel fulcral na etiologia de cancro oral^(22, 23). De modo a esclarecer este papel, urge identificar não só as moléculas envolvidas, mas também os mecanismos moleculares em que elas participam.

1.3. Cancro da cavidade oral

1.3.1. Definição e epidemiologia do cancro oral

O cancro da cavidade oral é definido, pela Classificação Internacional de Doenças, como um conjunto de tumores malignos que afetam qualquer localização da cavidade oral. Alguns tumores que acometem a cavidade oral podem ter uma ação negativa em funções fisiológicas essenciais ao ser humano⁽³⁾.

De todos os cancros, cerca de 2 a 3% correspondem a cancros da cavidade oral, sendo diagnosticados, a nível mundial, cerca de 300000 novos casos todos os anos^(11, 24).

Segundo a OMS – Organização Mundial de Saúde, o cancro da cavidade oral é o sexto mais prevalente em todo o mundo, havendo uma maior predileção pelo sexo masculino⁽²⁵⁾.

A língua é o local com maior taxa de incidência. O bordo da língua e as superfícies ventrais adjacentes são os locais mais vezes envolvidos. O cancro da língua é de início assintomático, porém dada a sua capacidade de invasão, a mobilidade da língua é comprometida, originando dificuldades na articulação das palavras e em mastigar ou deglutir⁽³⁾. Outras possíveis localizações são os lábios, gengiva, pavimento da boca, palato e trígono retromolar^(3, 25, 26).

A incidência de cancro oral aumenta com a idade e varia de acordo a região geográfica, mas nos países ocidentais 98% dos casos ocorrem a partir dos 40 anos. Na maioria dos países, as taxas de sobrevivência aos 5 anos são de 50%, sendo que o

melhor prognóstico está dependente do estadió e da localização – melhor para o lábio (mais de 90%) e menor para a hipofaringe^(25, 26). Em Portugal, a seguir às patologias cardiovasculares, o cancro é a segunda causa de morte mais comum. O cancro da cabeça e pescoço perfaz cerca de 10% de todos os casos, sendo a sua incidência maior do que o cancro do útero e da laringe. Cerca de 80% dos casos foram diagnosticados em indivíduos do sexo masculino. No entanto, o género não é considerado um fator de risco, embora exista uma associação de outros fatores, como os hábitos alcoólicos e tabágicos. A idade média a nível internacional é, aproximadamente, 62,2 anos⁽²⁷⁾.

Em relação ao tipo histológico, 90% dos casos tratam-se de carcinomas espinocelulares^(3, 11, 21, 26).

A deteção precoce de alterações malignas na mucosa oral, seguida de tratamento adequado pode aumentar a taxa de recuperação em cerca de 80-90%. Consequentemente, o diagnóstico precoce de lesões malignas ou pré-malignas poderá reduzir a mortalidade e morbilidade associada ao cancro oral⁽³⁾.

Devido à anatomia complexa da região da cabeça e pescoço, os pacientes sujeitos a tratamento para esta patologia apresentam, muitas vezes, alterações na fonação, na deglutição e na respiração e têm um risco aumentado de desenvolver cancro nas vias aéreas superiores^(21, 28).

1.3.2. Processos biológicos em cancro e sua associação com o microbiota oral

O papel do microbiota oral no desenvolvimento de cancro ainda não foi totalmente esclarecido. Algumas espécies de bactérias orais têm sido associadas com doenças malignas, mas as evidências ainda são fracas a este respeito. A inflamação causada por infeções é um dos fatores causais de cancro que podem ser prevenidos. Os microrganismos orais, influenciam as citocinas e outros mediadores inflamatórios que afetam as vias metabólicas que podem estar envolvidas nos processos carcinogénicos. Parece existir ligação entre infeções crónicas e o metabolismo do açúcar, por exemplo, o RAGE (*receptor for advanced glycation endproducts*) que está associado a respostas pró-inflamatórias, foi descrito como recetor que tem influência na carcinogénese e pode influenciar a saúde oral através de infeções por via oral⁽²⁹⁾.

Vários estudos, utilizando modelos experimentais animais, têm sido conduzidos para entender a fisiopatologia e os eventos moleculares envolvidos no estabelecimento do cancro. Estudos, *in vitro*, utilizando o teste de *Salmonella* demonstram uma associação significativa entre o alto índice de placa e o elevado número de cáries com a

atividade genotóxica da saliva. A diversidade microbiana do biofilme oral pode possuir interações mutagênicas com a saliva, que podem atuar como cofatores na carcinogênese. Populações microbianas na mucosa da boca parecem diferir entre os locais saudáveis e malignos. Por exemplo, o *Streptococcus anginosus* e a *Treponema denticola* estão associados a carcinomas do trato gastrointestinal superior. A infecção por *S. anginosus* pode estar implicada na carcinogênese do cancro da cabeça e pescoço. Outros estudos demonstram que *Capnocytophaga gingivalis*, *Prevotella melaninogenica* e *Streptococcus mitis* se encontram aumentadas em amostras de pacientes com carcinoma de células escamosas⁽²⁹⁾. O cancro da cavidade oral desenvolve-se através de uma acumulação de alterações genéticas que controlam o crescimento celular, a diferenciação, a proliferação e o processo de metastização. Os mecanismos moleculares subjacentes a esta doença ainda não estão claros⁽³⁰⁾. Fenómenos como crescimento, apoptose, proliferação celular descontrolada, angiogênese, invasão de tecidos e metástase levam ao desenvolvimento de cancro⁽³¹⁾.

Deste modo, na carcinogênese várias vias celulares, reguladoras de processos essenciais para a homeostasia celular, estão alteradas. A descoberta dos mecanismos a nível molecular que estão envolvidos na desregulação dos processos biológicos mais relevantes em cancro oral é um dos objetivos da área oncológica, já que podem, eventualmente, permitir a identificação de moléculas chave que posteriormente serão utilizadas em métodos de diagnóstico e estratégias terapêuticas mais direcionadas⁽³²⁾. Dos processos biológicos alterados em cancro oral é importante salientar:

- Apoptose: a morte celular programada é um processo biológico essencial para o desenvolvimento tecidual normal e manutenção da homeostasia celular. A alteração dos mecanismos de regulação da apoptose verifica-se em várias situações fisiológicas e patológicas, das quais se destacam o desenvolvimento embrionário, as doenças neurodegenerativas e o cancro. No caso do cancro, verifica-se que há uma desregulação dos processos apoptóticos, associada a uma proliferação celular ilimitada^(33, 34).

A apoptose caracteriza-se por vários atributos morfológicos, incluindo vesículas da membrana plasmática, exposição de fosfatidilserina à superfície externa da membrana celular, condensação da cromatina e fragmentação do ADN (ácido desoxirribonucleico). Estas alterações distintas são desencadeadas pela atividade proteolítica de uma família de proteases, as caspases, que destroem as células por clivagem de substratos celulares. Esta destruição celular termina com a formação de corpos apoptóticos que são subseqüentemente eliminados por fagocitose⁽³⁵⁾.

Existem duas vias distintas para a apoptose: 1) a via extrínseca que é desencadeada pela ligação de substratos específicos a recetores de membrana da família dos recetores de fatores de necrose tumoral - *TNFr* (*Tumoral Necrotic Fator Receptor*); e 2) a via intrínseca que é ativada em situações de *stress* celular ou por vários estímulos, dos quais se destacam a radiação UV (ultravioleta), a radiação gama, fatores virais, danos no ADN e fatores oncogénicos. A libertação de moléculas pró-apoptóticas ocorre porque em situações de *stress* a permeabilidade da membrana mitocondrial aumenta⁽³⁵⁾.

As duas vias de sinalização da apoptose estão intimamente ligadas pela proteína *BID* (*BH3-interacting domain death agonist*). A ativação da *BID* pela caspase 8 é o elo de ligação entre as duas vias. A ativação da caspase 8 pela via extrínseca permite que a proteína *BID* seja ativada e migre para a mitocôndria, estimulando assim a via de sinalização intrínseca⁽³⁶⁾. As vias de sinalização da apoptose encontram-se assinaladas na figura 1.

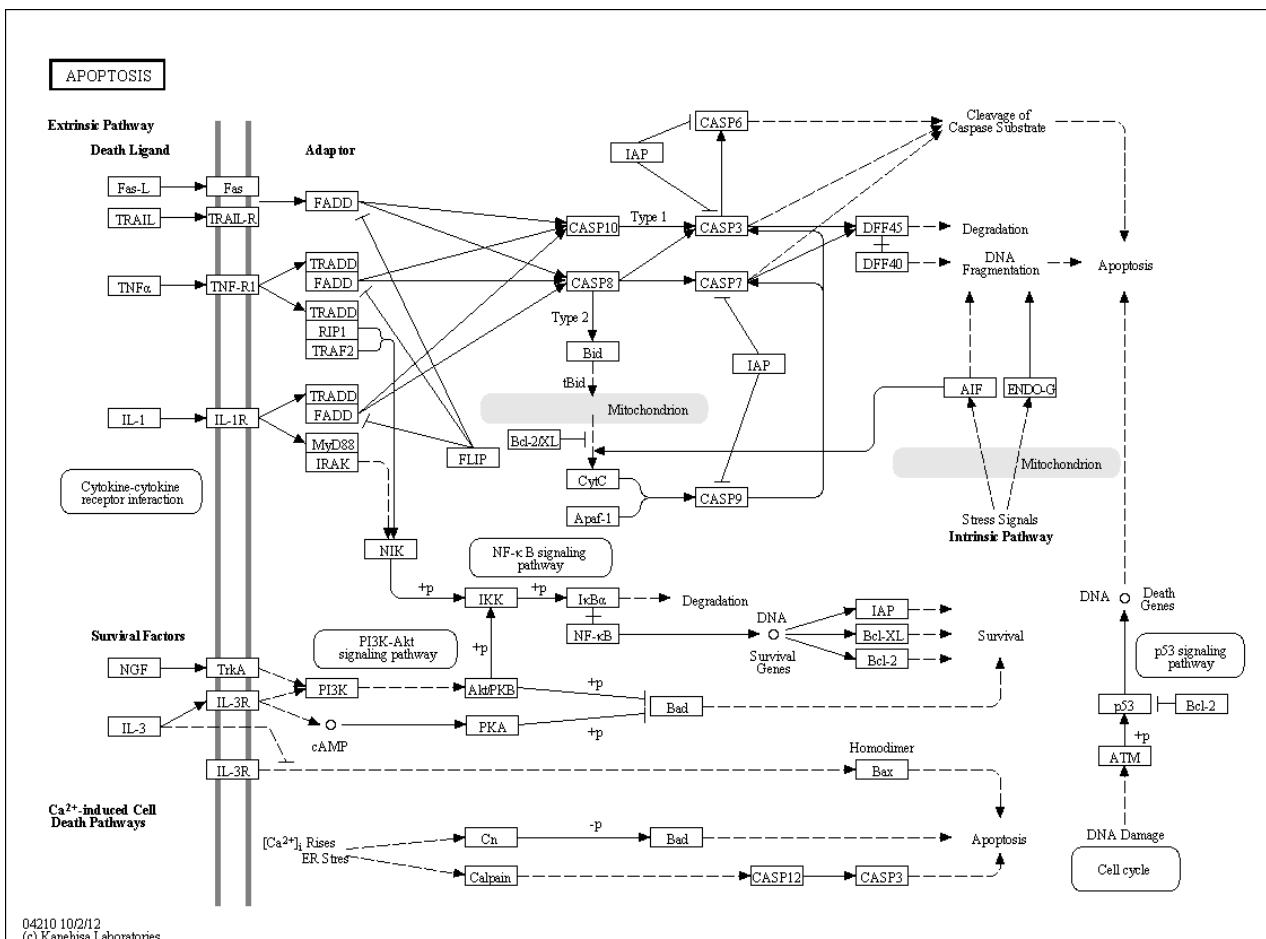


Figura 1 - Vias de sinalização da apoptose (http://www.genome.jp/kegg-bin/show_pathway?map04210)

- Angiogénese: o desenvolvimento de novos vasos sanguíneos tem um papel fulcral no desenvolvimento do cancro. O *stress* metabólico e mecânico, a resposta imune e as mutações genéticas são responsáveis por desencadear a angiogénese. A literatura demonstra que células pré-malignas adquirem capacidade angiogénica para se transformarem em malignas. Verificou-se, em estudos experimentais animais, que quando a angiogénese é inibida pela administração de moléculas que suprimem o crescimento de células endoteliais vasculares, os tumores reduzem o seu tamanho⁽³⁷⁻³⁹⁾. No crescimento de células tumorais verifica-se hipóxia intracelular. O *HIF* (*hypoxia-inducible factors*) é um fator de transcrição que responde há mudança de concentração de oxigénio intracelular. O *HIF* é transportado para o núcleo, onde induz a expressão de vários produtos de genes que instigam as vias de sinalização o que leva à proliferação de células endoteliais, aumento da permeabilidade vascular e à migração celular. A figura 2 demonstra a via de sinalização da angiogénese.

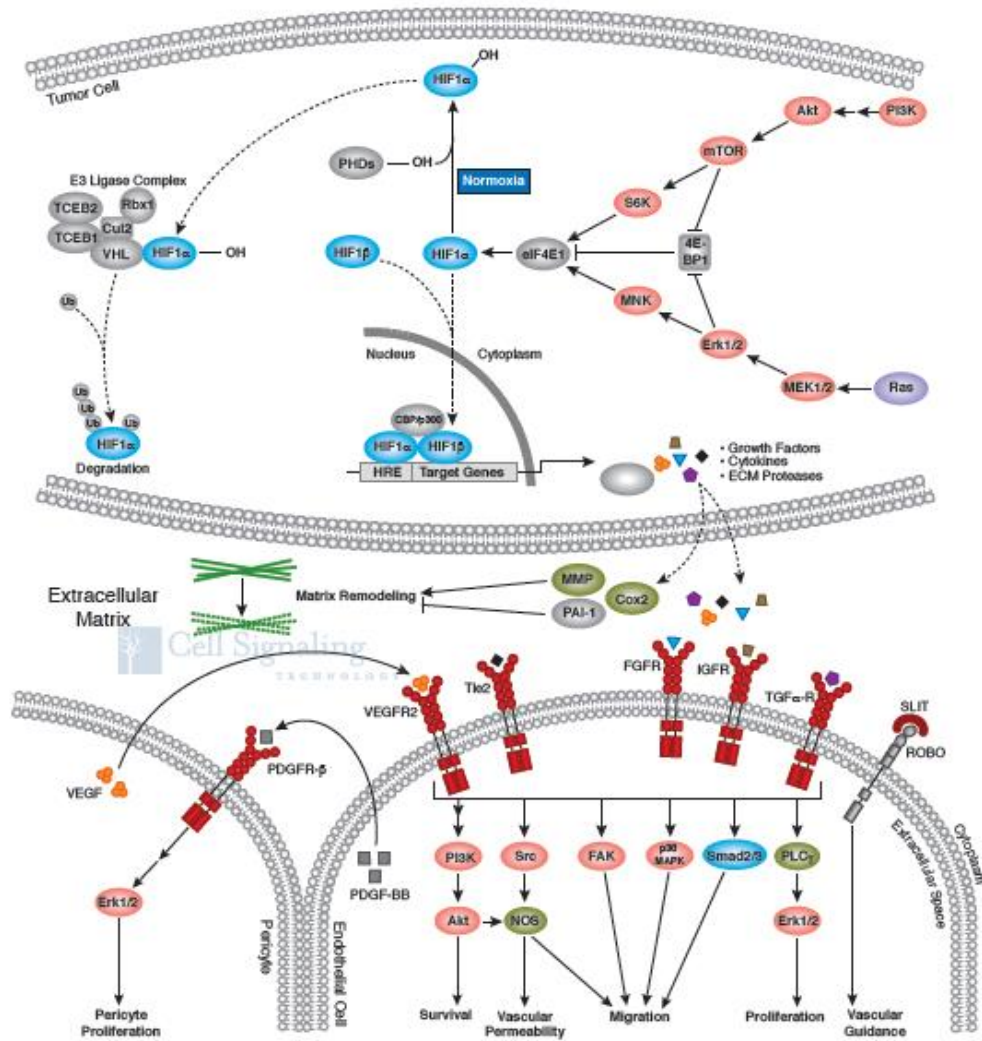


Figura 2 - Via de sinalização da angiogénese
<http://www.cellsignal.com/common/content/content.jsp?id=pathways-angiogenesis>

- Hipoxia e organização da matriz extracelular: a rápida proliferação das células malignas deve-se a alterações funcionais e estruturais dos vasos sanguíneos que resulta em regiões intra-tumorais com baixo teor em oxigénio. A hipoxia leva a alterações na matriz extracelular (*ECM*) que podem potencializar a metastização do cancro⁽⁴⁰⁾.

- Ciclo celular: a regulação adequada do ciclo de divisão das células é crucial para o crescimento e desenvolvimento de todos os organismos. Durante o ciclo celular a célula passa por uma série de eventos sequenciais. Esta progressão linear é alcançada de duas maneiras: cada etapa requer um produto da fase anterior para seu início ou há um mecanismo regulatório de *feedback* que assegura que o estágio subsequente do ciclo celular não seja iniciado antes que um evento crucial tenha sido completado corretamente. As células eucarióticas desenvolveram mecanismos de controlo,

chamados de *checkpoints*, que asseguram a correta execução dos eventos do ciclo celular, garantindo, dessa forma, a estabilidade genética.

Os *checkpoints* protegem as células contra agentes nocivos, tais como os agentes endógenos (produtos químicos, radicais livres ou radiação ionizante) que induzem diversas alterações na molécula de ADN. Se a reparação não for bem-sucedida as células podem entrar em senescência ou apoptose. A acumulação de alterações do ADN pode resultar em transformações celulares e oncogénese^(41, 42).

As cinases dependentes da ciclina (*CDKs*) são enzimas reguladoras-chave no ciclo celular. Estas regulam a progressão da célula através das fases do ciclo celular pela modulação da atividade dos substratos principais. A figura 3 representa, de forma esquemática, a via de sinalização do ciclo celular.

A proteína p53 (*cellular tumoral antigen p53*) é uma das mais estudadas pelo seu papel na tumorigénese. Esta proteína tem um papel essencial no *checkpoint G1* do ciclo celular, permitindo a iniciação de vias de reparação celular. Quando se verifica dano a nível genético nesta fase do ciclo celular, há um aumento da expressão da p53, que resulta numa paragem do ciclo celular para permitir a reparação das alterações. A presença de mutações no gene p53 tem como consequência uma desregulação no controlo na fase G1, permitindo que células danificadas prossigam no ciclo celular⁽³⁴⁾.

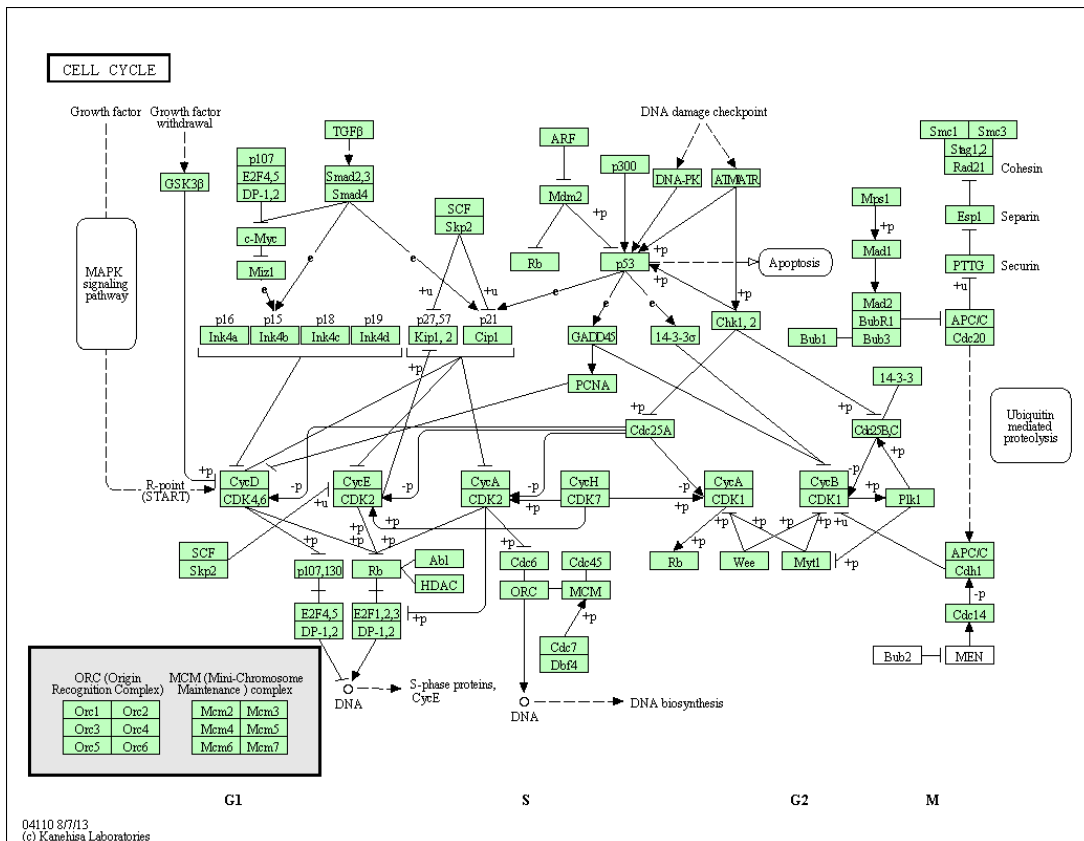


Figura 3 - Via de sinalização do ciclo celular (http://www.genome.jp/kegg-bin/show_pathway?hsa04110)

- Replicação de ADN: o processo de replicação de ADN é altamente controlado. Geralmente, a replicação do ADN segue uma via enzimática constituída por vários passos. O ADN helicase promove a abertura da hélice do ADN para que este possa sofrer replicação. Quando as células eucariotas sofrem o processo de divisão celular dá-se a replicação do ADN que assegura a cópia exata do conteúdo genético às células-filhas. Este processo ocorre na fase S do ciclo celular e depende de um grande número de proteínas, tais como as *MCM* (*mini chromosome maintenance complex*). Erros neste processo podem levar ao aparecimento de tumores. O padrão desregulado de aparecimento de *MCM* na superfície de células está associado a células de cancros humanos malignos e células pré-cancerígenas que sofrem transformação maligna^(43, 44). O processo de replicação do ADN encontra-se descrito na figura 4.

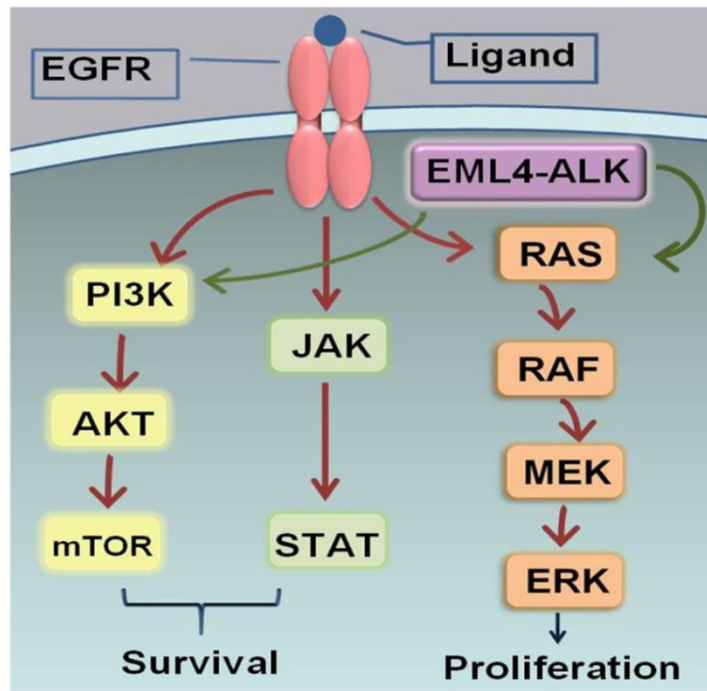


Figura 5 - Exemplo de regulação da proliferação celular
 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3472758/figure/f1-ijms-13-11471/>)

- Adesão celular: as proteínas da membrana que medeiam as interações célula-célula do sistema imunológico dividem-se em diferentes categorias: as que estão envolvidas no reconhecimento de antígenos, na co-estimulação e na adesão celular. Existem quatro grupos principais destas proteínas, as integrinas, as imunoglobulinas, selectinas e caderinas.

Perturbações na interação proteína-proteína no complexo de adesão E-caderina-catenina são dos principais eventos nas etapas precoces e tardias do desenvolvimento do cancro. Outros estudos podem fornecer um maior conhecimento sobre as interações moleculares iniciais críticas para o início e progressão de tumores⁽⁴⁷⁾. A figura 6 ilustra a adesão celular.

- Ortopantomografia: permite avaliar o andar médio e inferior da face, ou seja, os dentes e o envolvimento das estruturas ósseas adjacentes.

- Radiografia do tórax: avalia e pesquisa a eventual disseminação pulmonar da neoplasia.

- Ecografia: avalia as glândulas salivares *major*, sendo, por vezes, utilizada para o diagnóstico de nódulos cervicais.

- Sialografia: instilação de um contraste radiopaco nos ductos salivares. Permite verificar a presença de cálculos, estenoses ou lesões invasivas.

- TAC – Tomografia Axial Computorizada: avaliação detalhada da cavidade oral, laringe e pescoço, ideal para avaliar a dimensão da lesão e o envolvimento ganglionar ou das estruturas anexas.

- RM – Ressonância Magnética: permite discriminar áreas de fibrose e identificar áreas de invasão pela neoplasia de estruturas limítrofes.

- Exames endoscópicos: cerca de 10 a 15% dos doentes com cancro da cabeça e pescoço podem ter um segundo tumor primário no trato aerodigestivo superior, pulmão ou esófago.

- PET-TAC – Tomografia com Emissão de Positrões: administração de moléculas radioativas, por via endovenosa, que são detetadas por um *scanner*. Sendo a glicose uma molécula importante no metabolismo molecular, neste exame associa-se à glicose um radioisótopo (flúor-18), pois as células malignas têm alto consumo de glicose. Dado que o composto emite radioatividade, quando se associa este procedimento a uma imagem TAC, podem localizar-se células malignas de forma muito precisa^(3, 48).

A biópsia consiste na obtenção de células ou fragmentos de tecido para exame histológico e visa a obtenção de um diagnóstico definitivo.

Se o material biológico obtido através de uma agulha fina e seringa incluir células, o exame microscópico das células obtidas, designa-se por citologia. Quando é obtido um fragmento de tecido, o exame microscópico do mesmo denomina-se por histologia.

Existem diferentes técnicas para a execução de uma biópsia⁽³⁾:

- Citologia exfoliativa: técnica simples e bem aceite pelos pacientes que serve para o diagnóstico precoce de lesões malignas. Consiste na obtenção de células por exfoliação suave da mucosa. Este teste tem falsos negativos⁽⁴⁹⁾.

- Citologia aspirativa com agulha fina: realizada quando não existe uma lesão na mucosa que permita a realização de uma biópsia incisional ou excisional, por exemplo, quando existe um nódulo cervical.

- Biópsia incisional ou excisional: estão indicadas em lesões visíveis, como as lesões pré-malignas, que necessitam de avaliação histológica para um diagnóstico definitivo. O tipo de biópsia a efetuar é determinado pelo tamanho da lesão, localização, capacidade de tratamento global da doença e potencial tratamento oncológico multidisciplinar. Nas lesões da mucosa oral suspeitas, a realização de biópsias excisionais determina que se garantam margens de segurança. As biópsias incisionais são indicadas em grandes lesões.

Por vezes, é difícil definir a localização para execução da biópsia devido a padrões não-uniformes de algumas lesões de cancro ou pré-malignas. O corante azul de toluidina auxilia no reconhecimento precoce de lesões malignas.

Sendo a biópsia um método invasivo, a ciência tem apostado no desenvolvimento de novas técnicas para um diagnóstico efetivo mais precoce, menos invasivo e, deste modo, com melhor aceitação por parte do paciente. A análise do proteoma salivar revela-se uma solução válida pois já foi demonstrado que pacientes com carcinoma de células escamosas possuem níveis elevados de defensinas salivares, peptídeos que possuem ação antimicrobiana e citotóxica e diferenças nos padrões de expressão de mARN⁽¹²⁾. A partir da análise da saliva conseguimos identificar as proteínas que fazem parte da sua composição de forma não invasiva.

1.3.4. Fatores etiológicos de cancro oral

Os doentes com cancro têm, geralmente, hábitos tabágicos e alcoólicos, má higiene oral e baixo poder económico. Outros fatores associados ao risco de desenvolvimento de cancro oral são: fatores infecciosos (*Candida albicans* e o vírus do papiloma humano – HPV – que está relacionado com práticas sexuais com múltiplos parceiros e sexo oral); físicos (radiação UV), traumáticos (próteses desajustadas, dentes fraturados com bordos cortantes) e nutricionais (deficiência de ferro e Síndrome de *Plummer-Vinson*). A predisposição genética e os fatores ambientais estão, também, envolvidos na etiologia do cancro oral^(3, 21, 22, 50-52).

Os agentes carcinogéneos interagem com o ADN das células da mucosa oral provocando alterações irreversíveis. Após a transformação maligna, as células e o tecido tumoral adquirem características histopatológicas que permitem a realização do diagnóstico. O diagnóstico precoce de lesões potencialmente malignas ou de neoplasias malignas em estadios iniciais é fundamental, pois permite um tratamento mais conservador⁽³⁾.

Regra geral, as fases iniciais do cancro oral são assintomáticas ou manifestam-se por algum desconforto associado a irritação da mucosa oral. Deste modo, é essencial os profissionais de saúde estarem atentos às diferentes formas de apresentação do cancro oral – úlceras, lesões exofíticas e infiltrativas, mobilidade dentária, lesões brancas e vermelhos, bem como a lesões potencialmente malignas, das quais é importante salientar a leucoplasia e a eritroplasia⁽³⁾.

1.3.5. Tratamento

A cirurgia, a radioterapia e a quimioterapia são as principais armas terapêuticas no tratamento de tumores malignos da cabeça e pescoço. A escolha das terapêuticas mais adequadas aos pacientes deve permitir a maior possibilidade de cura, tendo em atenção o estado geral do doente, assim como, possibilitar a melhor qualidade de vida, maior preservação da função do órgão e resultados cosméticos satisfatórios⁽³⁾.

A cirurgia e a radioterapia têm como objetivo o tratamento loco-regional da doença. A quimioterapia e novos fármacos dirigidos contra alvos moleculares específicos são utilizados quando o objetivo é o tratamento sistémico.

Nos estadios iniciais, o controlo loco-regional da doença e a preservação funcional dos órgãos atingidos é o objetivo do tratamento. Nos estadios mais avançados, em que a doença pode estar disseminada, as várias modalidades terapêuticas podem ser empregues.

O desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas, mais personalizadas e menos invasivas só é possível com o conhecimento molecular da patofisiologia do cancro, sendo, o diagnóstico precoce fundamental para o sucesso do tratamento.

O cancro é uma patologia complexa que envolve vários tipos de interações biológicas em diversos níveis. Esta complexidade apresenta desafios substanciais para a caracterização da biologia do cancro e motiva o estudo da doença no contexto de sistemas moleculares, celulares e fisiológicos. A diversidade não linear do estado molecular e as modificações epigenéticas ilustram a necessidade de integração de dados heterogéneos através de modelos *in silico*⁽⁵³⁾.

1.4. Ferramentas Bioinformáticas

A origem da bioinformática está associada à necessidade de construir e manter bases de dados sejam elas biológicas, bioquímicas ou clínicas. Com o desenvolvimento

das ciências “ômicas” – análise global dos sistemas biológicos, integrando diferentes áreas do conhecimento, como a bioquímica, genética, fisiologia e computação, com o objetivo de isolar e caracterizar genes, proteínas e metabólitos, assim como estudar as interações entre eles, com base em técnicas experimentais, *softwares* e bancos de dados – ocorreu um aumento exponencial na produção de dados obtidos. A Bioinformática é uma área em claro desenvolvimento porque, atualmente, 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 conhecimentos biológicos e clinicamente relevantes⁽⁵⁴⁾.

A quantidade de dados armazenados e o número de bases de dados têm aumentado exponencialmente nos últimos anos, sendo que já existem *online* diversas bases de dados. Para a realização deste trabalho utilizaram-se as seguintes:

- OralCard: portal da *web* que permite aceder à informação contida no OralOme – base de dados que armazena informação obtida através de proteomas orais – e possibilita a pesquisa, de modo intuitivo, de proteínas de interesse e a consulta de informação relevante sobre as mesmas^(4, 13).

- UniProt: repositório de proteínas que mantém as suas sequências primárias e armazena outro tipo de informação como, aspetos funcionais e informação taxonómica⁽⁵⁵⁾.

- AgBase: fornece recursos para facilitar a modelagem funcional de dados de genómica e anotação estrutural e funcional de espécies agrícolas, microbiotas e de genomas de parasitas^(56, 57).

- Cytoscape: *software* para a integração, visualização e análise de redes biológicas^(58, 59).

O desenvolvimento de ferramentas bioinformáticas e a organização de bases de dados permitem uma análise em larga escala, fornecendo os meios que permitem catalogar e caracterizar proteínas e estabelecer os pares de proteínas interatuantes, ou seja, o interactoma hospedeiro–microbiota em cancro oral. Neste sentido, o grupo de Biomedicina Computacional da Universidade Católica Portuguesa, em parceria com o grupo de Bioinformática da Universidade de Aveiro e do Centro de Informática e Sistemas da Universidade de Coimbra, desenvolveu a primeira ferramenta deste género dedicada à cavidade oral – o OralInt – que utiliza a informação molecular reunida no OralCard para gerar estes interactomas⁽⁶⁰⁾.

Um requisito para a colonização bacteriana é a invasão celular e o estabelecimento de interações proteína microbiota–proteína hospedeiro⁽⁶¹⁾. Assim, pretende-se identificar o interactoma hospedeiro – microbiota oral em cancro oral.

2. Objetivos

2. Objetivos

O conhecimento do proteoma salivar e das interações entre microbiota oral-hospedeiro permitem conhecer melhor os processos fisiopatológicos no estabelecimento do cancro oral.

Urge, pois, recolher mais dados sobre a patofisiologia do cancro oral no contexto da interação do hospedeiro humano com os microrganismos que o colonizam. Neste sentido, pretende-se:

1 – Atualizar o OralCard com informação relativa a proteínas humanas e microbianas relacionadas com cancro oral;

2 – Estabelecer pela primeira vez o interactoma oral em cancro oral;

3 – Esclarecer os mecanismos moleculares alterados no hospedeiro como consequência da ação dos microrganismos que colonizam a cavidade oral, verificando, deste modo, o papel da microflora oral no estabelecimento de cancro oral.

4 – Identificar a evidência ao nível do proteoma oral dos processos biológicos, com maior importância no estabelecimento de cancro oral;

5 – Identificar proteínas-chave envolvidas no cancro oral que poderão ser utilizadas tanto no diagnóstico precoce, como no tratamento.

3. Materiais e Métodos

3. Materiais e métodos

Atualmente, a investigação científica tem utilizado a saliva como um meio de diagnóstico de algumas doenças orais e sistémicas, podendo identificar biomarcadores e proteínas alteradas associadas a várias patologias. O conhecimento das interações estabelecidas entre o hospedeiro e o microbiota é uma mais valia para esclarecer os processos fisiopatológicos no estabelecimento do cancro oral. Seguidamente é apresentada a metodologia adotada para a elaboração deste trabalho.

Em primeiro lugar, realizou-se uma pesquisa bibliográfica com recurso ao motor de busca PubMed® (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>), usando como palavras-chave os seguintes termos MeSH: “*oral cancer*”, “*oral microbiota*”, “*microflora*”, “*proteomic*”, “*protein-protein interaction*” e “*computational biology*” conjugados com o operador booleano “AND”. Os critérios de inclusão foram artigos publicados em língua inglesa e portuguesa com restrição de tempo entre 1998 e 2014. Definiu-se o espaço temporal referido anteriormente, com o intuito de conseguir uma quantidade de informação significativa que fosse atualizada e que refletisse a evolução dos estudos feitos na área.

Com base na literatura, verificou-se que a base de dados do proteoma salivar do OralCard (<http://bioinformatics.ua.pt/OralCard/>), referente ao OralOma do cancro oral, se encontra atualizada à luz do conhecimento científico atual. Na mesma base, estão associadas 414 proteínas alusivas ao cancro oral, sendo que destas, 278 são humanas e 136 microbianas. Na figura 7 encontra-se ilustrada a página do OralCard onde se pode verificar as proteínas identificadas em cancro oral.

OralCard Search here...

Disease MeSH 68009062

Organisms
Proteins
Pathways
GOs
MeSH
Network

Mouth Neoplasms

Total: 414 proteins

Export

Uniprot	Name	Organism	Age Group	Gender	Regulation	Study	PTM	Action
B2RKJ1	NAD-specific glutamate dehydrogenase	Porphyromonas gingivalis (strai...	-	-	-	Proteomics	-	View
B5E709	Isoleucine-tRNA ligase	Streptococcus pneumoniae seroty...	-	-	-	Proteomics	-	View
E0U0L7	Cell cycle protein Gps8	Bacillus subtilis subsp. spiziz...	-	-	-	Proteomics	-	View
O00748	Cocaine esterase	Homo sapiens	Adult	-	-	-	-	View
O05031	Putative uncharacterized protein HL_0737 ...	Haemophilus influenzae (strain ...	-	-	-	Proteomics	-	View
O14558	Heat shock protein beta-6	Homo sapiens	Adult	-	-	-	-	View
O14713	Integrin beta-1-binding protein 1	Homo sapiens	Adults	-	-	-	-	View
O14735	CDP-diacylglycerol-inositol 3-phosphatid...	Homo sapiens	29-75	-	-	-	-	View
O14746	Telomerase reverse transcriptase	Homo sapiens	42-81 / 59,1 - 65,25 / 26-77	M/F	-	-	-	View
O14786	Neuropilin-1	Homo sapiens	-	-	-	-	-	View

Figura 7 - Página web do OralCard referente ao Cancro Oral (<http://bioinformatics.ua.pt/OralCard/diseases/view/68009062>)

O segundo passo deste trabalho, foi a identificação do Interactoma humano-microbiota oral em cancro oral. As proteínas humanas identificadas em cancro oral foram submetidas à ferramenta OralInt com a intenção de obter as interações existentes entre humano-microbiota.

Posteriormente, foi feita uma análise funcional do Interactoma determinado, verificando os processos biológicos em que participam as proteínas humanas orais do cancro da cavidade oral, que interagem com as proteínas microbianas orais, recorrendo à ferramenta informática AgBase^(56, 57), com o intuito de esclarecer qual o papel da microflora oral no desenvolvimento de patologias. Inicialmente, selecionou-se a ferramenta de classificação funcional GoRetriever, como se verifica na figura 8, e submeteram-se as proteínas humanas com interação, escolhendo, como tipo de acesso a opção “UniProt Accession” como se encontra ilustrado na figura 9.



Figura 8 - Portal AgBase e seleção da ferramenta de classificação funcional GoRetriever (<http://www.agbase.msstate.edu/>)

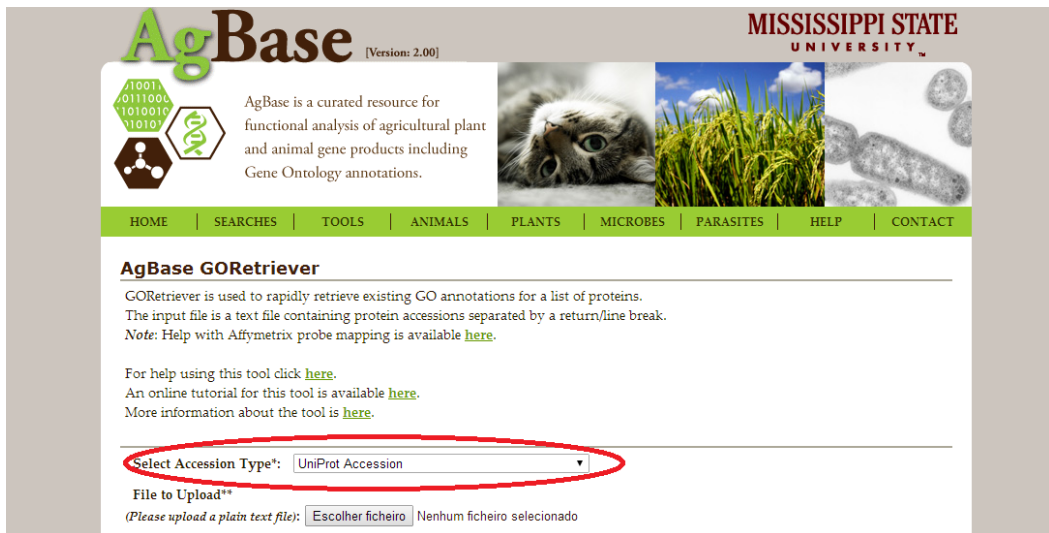


Figura 9 – Página web do AgBase e seleção do tipo de acesso na ferramenta de classificação funcional GoRetriever (http://www.agbase.msstate.edu/cgi-bin/tools/goretriever_select.pl)

De seguida, seleciona-se a opção GoSummaryFile e para visualizar os resultados recorre-se à ferramenta GoSlimViewer sendo que, através desta ferramenta podemos observar os processos biológicos em que as proteínas humanas estão envolvidas. As figuras 10, 11 e 12 ilustram o método de descrito anteriormente.

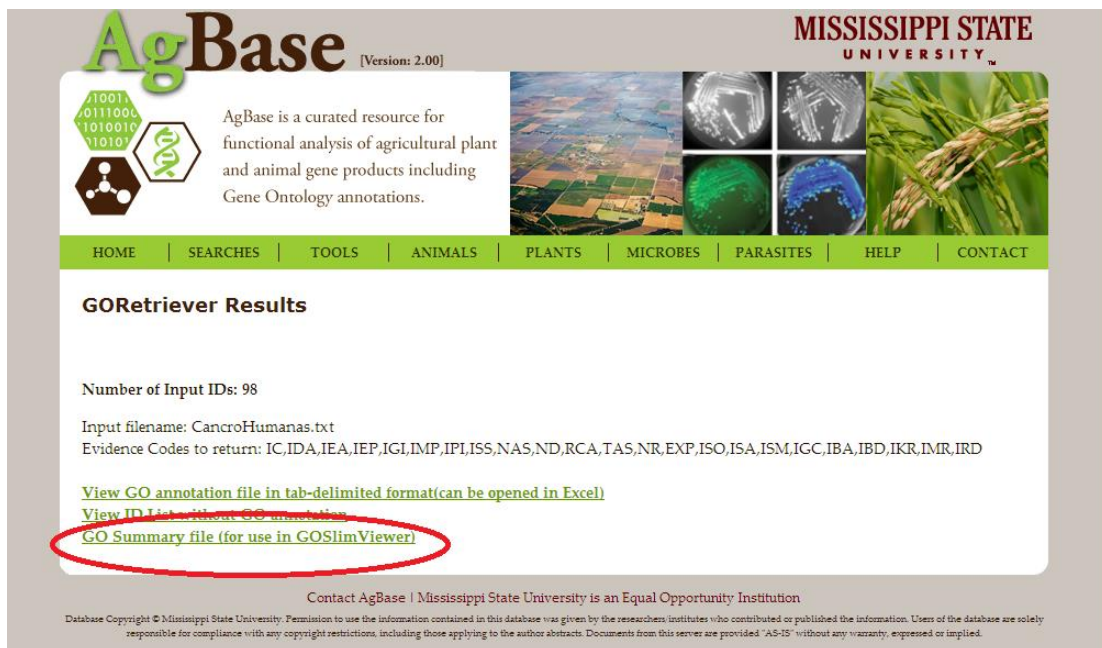


Figura 10 – Portal do AgBase e demonstração da seleção do GoSummary file (http://www.agbase.msstate.edu/cgi-bin/tools/goretriever_select.pl)

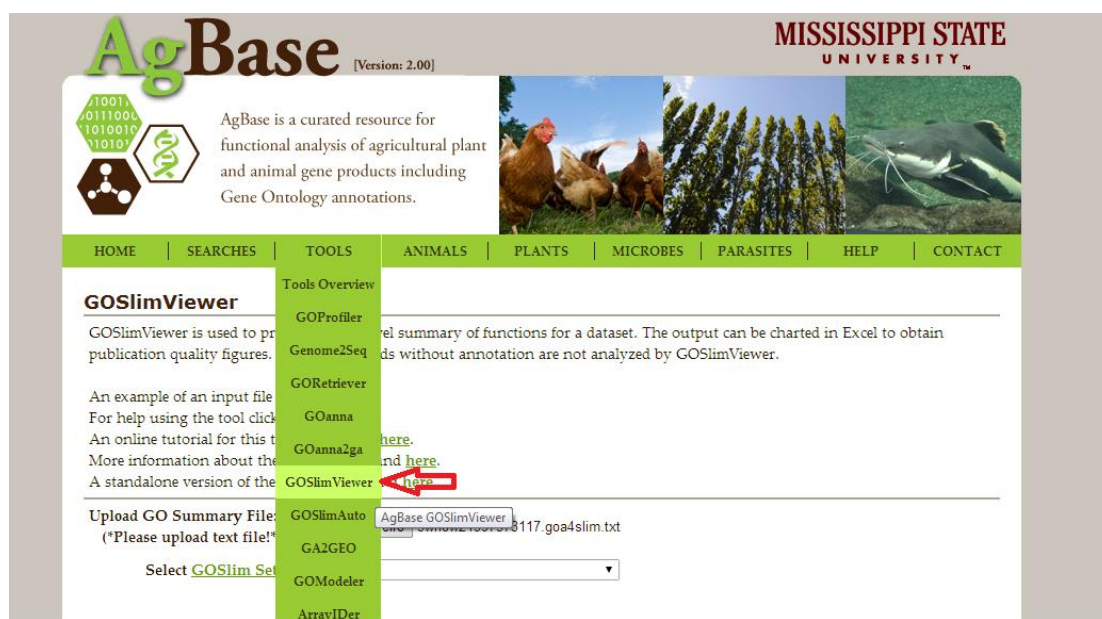


Figura 11 - Ferramenta GoSlimViewer em que se submetem os resultados obtidos no GoRetriever através do GoSummary File no AgBase (http://www.agbase.msstate.edu/cgi-bin/tools/goslimviewer_select.pl)

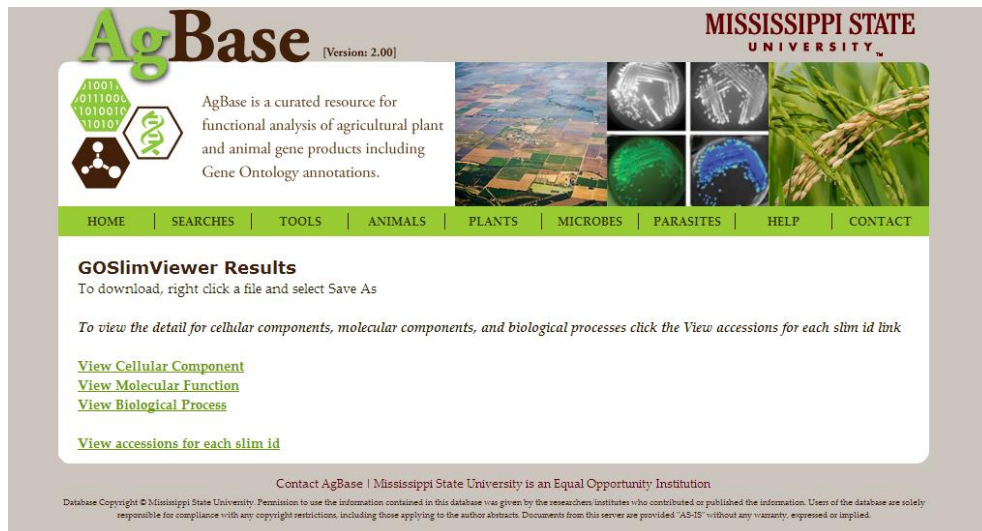


Figura 12 – Ferramenta informática do AgBase e visualização dos resultados obtidos no GoSlimViewer (<http://www.agbase.msstate.edu/cgi-bin/tools/goslimviewer.pl>)

Deste modo, obtivemos a listagem de processos biológicos em que as proteínas humanas do interactoma humano-microbiota participam. De seguida, fez-se uma seleção, com base na revisão bibliográfica, dos processos biológicos mais relevantes em cancro oral e elaborou-se uma tabela funcional, relacionando os mesmos com o nome da proteína, o código UniProtKBAC, a regulação e se é biomarcador de cancro oral ou não. A figura 13 resume a metodologia do trabalho.

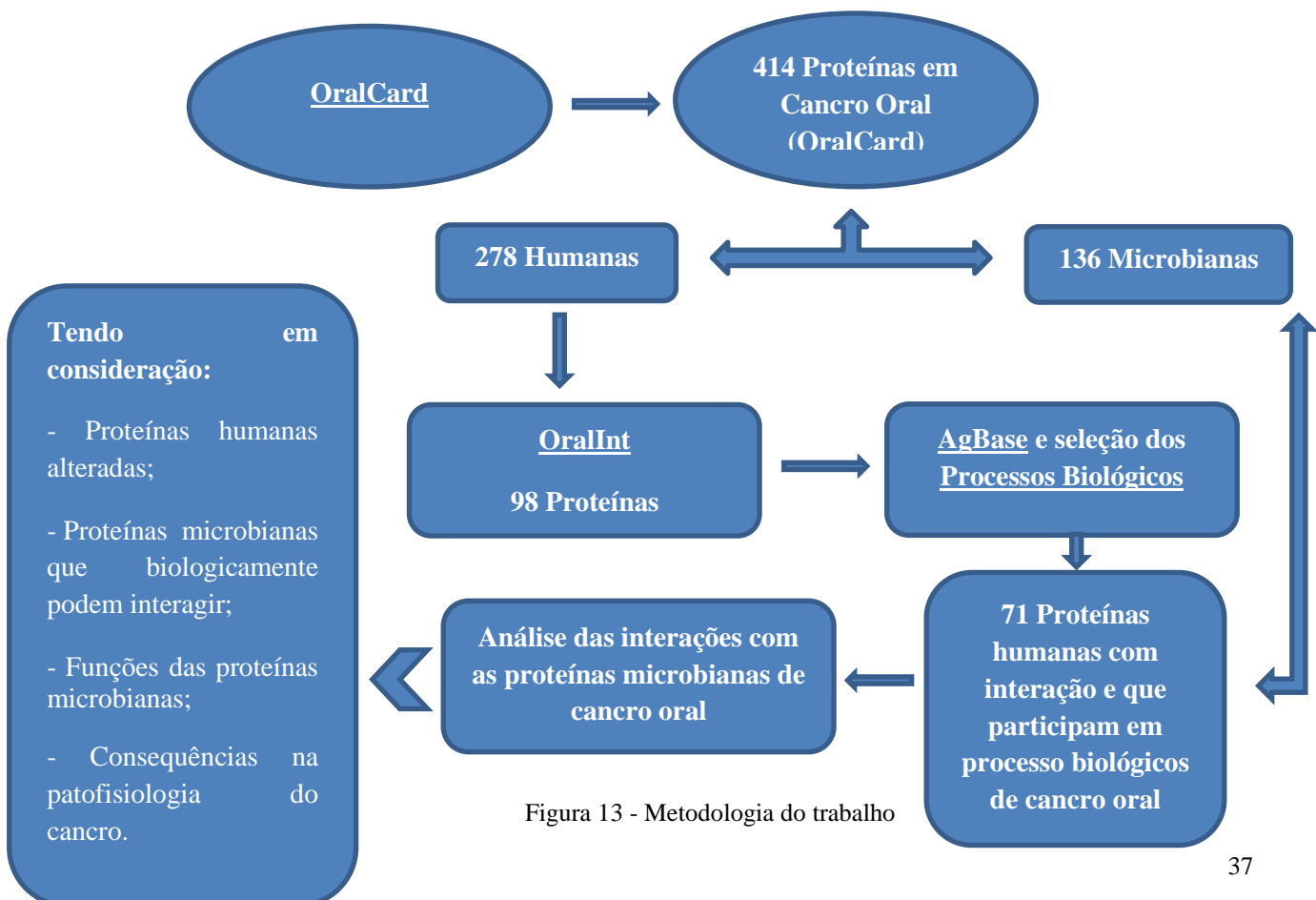


Figura 13 - Metodologia do trabalho

Assim, conseguimos verificar quais os processos biológicos que levam ao estabelecimento de cancro oral e quais as proteínas que influenciam os mesmos, determinando o papel da microflora oral na fisiopatologia do cancro oral.

Após determinado o Interactoma em cancro oral, fez-se a análise dos processos biológicos mais influentes no desenvolvimento da patologia e, através da página *web* do UniProt (<http://www.uniprot.org/>) verificaram-se as funções das proteínas que intervêm nos principais processos. Para além disso, aplicou-se um filtro nas proteínas microbianas com interação, que participam nos principais processos biológicos em cancro oral, com o objetivo de se estudarem apenas as que já foram identificadas em cancro oral e se encontram descritas no OralCard. Analisou-se, ainda, a localização celular destas proteínas microbianas, com o intuito de serem apenas analisadas as que podem influenciar as células humanas. Isto é, verificou-se quais as proteínas microbianas que interagem com as proteínas humanas alteradas (segundo o OralInt) e que biologicamente podem interagir (as que estão na superfície do microrganismos ou que são secretadas), bem como, as funções destas proteínas microbianas que podem justificar as alterações nas humanas com quem interagem e as suas consequências na patofisiologia do cancro. As listas de proteínas humanas e microbianas com as quais interagem foram submetidas ao Cytoscape (<http://www.cytoscape.org/>) para se obterem as redes de interação e, deste modo, analisar o Interactoma humano-microbiota em cancro oral no contexto fisiopatológico desta doença^(58, 59).

4. Resultados

4. Resultados

As doenças oncológicas apresentam um grande desafio para a comunidade científica atual. Com o aumento da incidência de cancro oral tem-se tentado esclarecer os mecanismos moleculares envolvidos nesta doença bem como descobrir novos métodos de diagnóstico, de terapêutica e de prevenção.

No OralCard estão caracterizadas 414 proteínas que foram identificadas em amostras de pacientes com cancro oral. Destas, 278 são humanas e 136 são de origem microbiana. As proteínas humanas e bacterianas relacionadas com cancro oral encontram-se em anexo (ANEXO 1).

As proteínas humanas identificadas em cancro oral foram submetidas à ferramenta informática OralInt que, mediante a aplicação de algoritmos, prevê o Interactoma total da cavidade oral, com o intuito de verificar quais participam no Interactoma humano-microbiano em cancro oral. Verificou-se que apenas 98 das 278 proteínas humanas estabelecem interação com proteínas microbianas. A lista de proteínas humanas que participam no Interactoma humano-microbiano em cancro oral está em anexo (ANEXO 2).

No sentido de verificar quais os processos biológicos em que as proteínas humanas em cancro oral participam, utilizou-se a ferramenta bioinformática AgBase. A figura 14 apresenta, o número de proteínas envolvidas em cada processo biológico, apresentado de forma genérica - *parent*. Através da revisão de bibliografia, selecionaram-se os processos biológicos mais influentes no estabelecimento do cancro oral, sendo estes o processo da apoptose, a organização da matriz extracelular, o processo viral, a transcrição do ADN, a resposta imune e a angiogénese. Os *childs* escolhidos, isto é, os subtópicos mais importantes de cada processo biológico apresentados na figura 14 encontram-se em anexo (ANEXO 3). Os métodos para efetuar os passos anteriormente descritos, encontram-se no capítulo de MATERIAS E MÉTODOS.

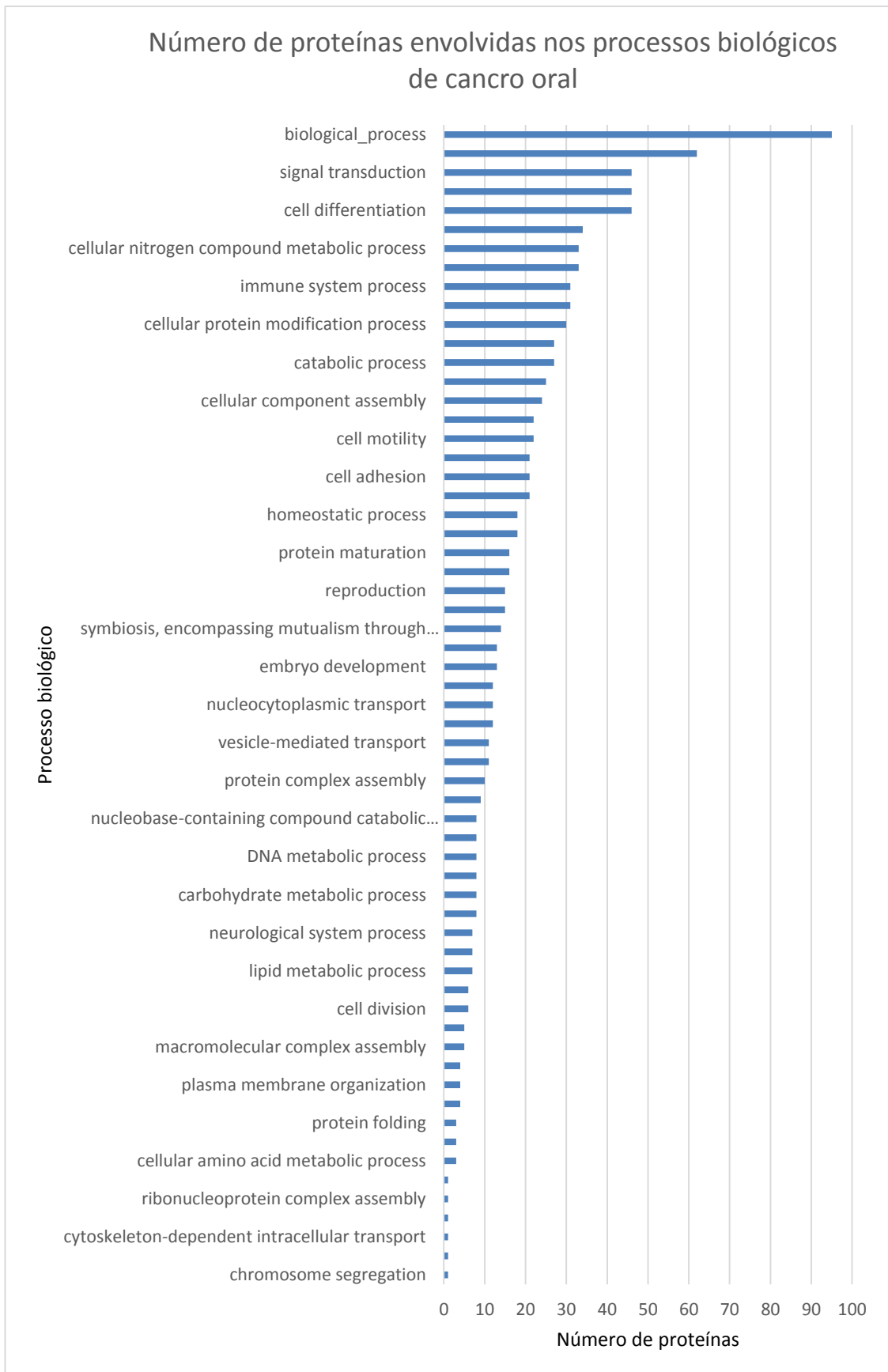


Figura 14 - Número de proteínas envolvidas nos processos biológicos de cancro oral

Para conseguir verificar qual a influência da microflora oral na fisiopatologia do cancro oral, elaborou-se uma tabela funcional constituída da seguinte maneira: nas colunas encontram-se representadas as proteínas humanas com participação no Interactoma humano-microbiota em cancro oral para além do seu código *UniProt*, o nome, a regulação e se a proteína é ou não biomarcador; nas linhas encontra-se os processos biológicos *chids* que foram anteriormente descritos. A tabela funcional, apresentada em anexo, é o esquema da tabela funcional total que foi efetuada para todos os *chids*, mas só se encontram representados os processos biológicos mais influentes e proteínas mais relevantes (ANEXO 4).

A análise da tabela funcional permite verificar que das 98 proteínas humanas que estabelecem relação com microrganismos, 27 não participam em nenhum dos processos biológicos selecionados. O que nos revela que 71 proteínas do Interactoma humano-microbiota em cancro oral participam nos processos biológicos que contribuem para o estabelecimento de cancro oral. A figura 15 permite observar quais as proteínas que participam em maior número de processos biológicos.

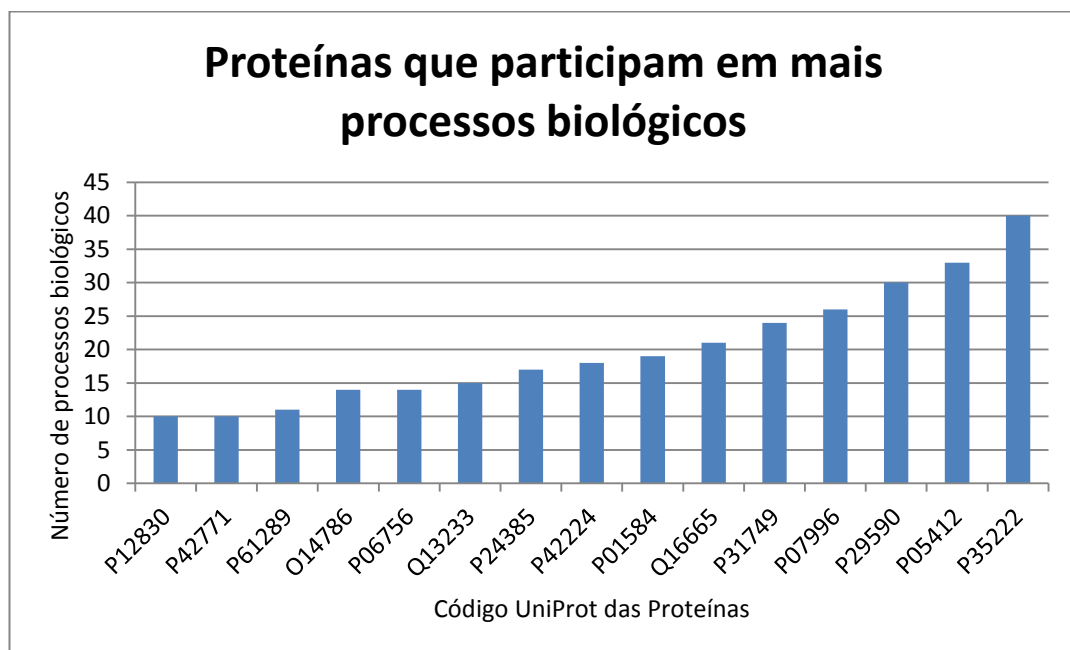


Figura 15 - Proteínas que participam em mais processos biológicos

As proteínas P35222 (*Catenin beta-1*), P05412 (*Transcription factor AP-1*), P29590 (*Protein PML*), P07996 (*Thrombospondin-1*), P31749 (*RAC-alpha serine/threonine-protein kinase*), Q16665 (*Hypoxia-inducible factor 1-alpha*), P01584 (*Interleukin-1 beta*), P42224 (*Signal transducer and activator of transcription 1-*

alpha/beta) e P24385 (*G1/S-specific cyclin-D1*) são as que participam em maior número de processo biológicos que contribuem para o aparecimento de cancro oral.

A partir da análise da figura 16 podemos averiguar quais os processos biológicos em que maior número de proteínas humanas em cancro oral participam.

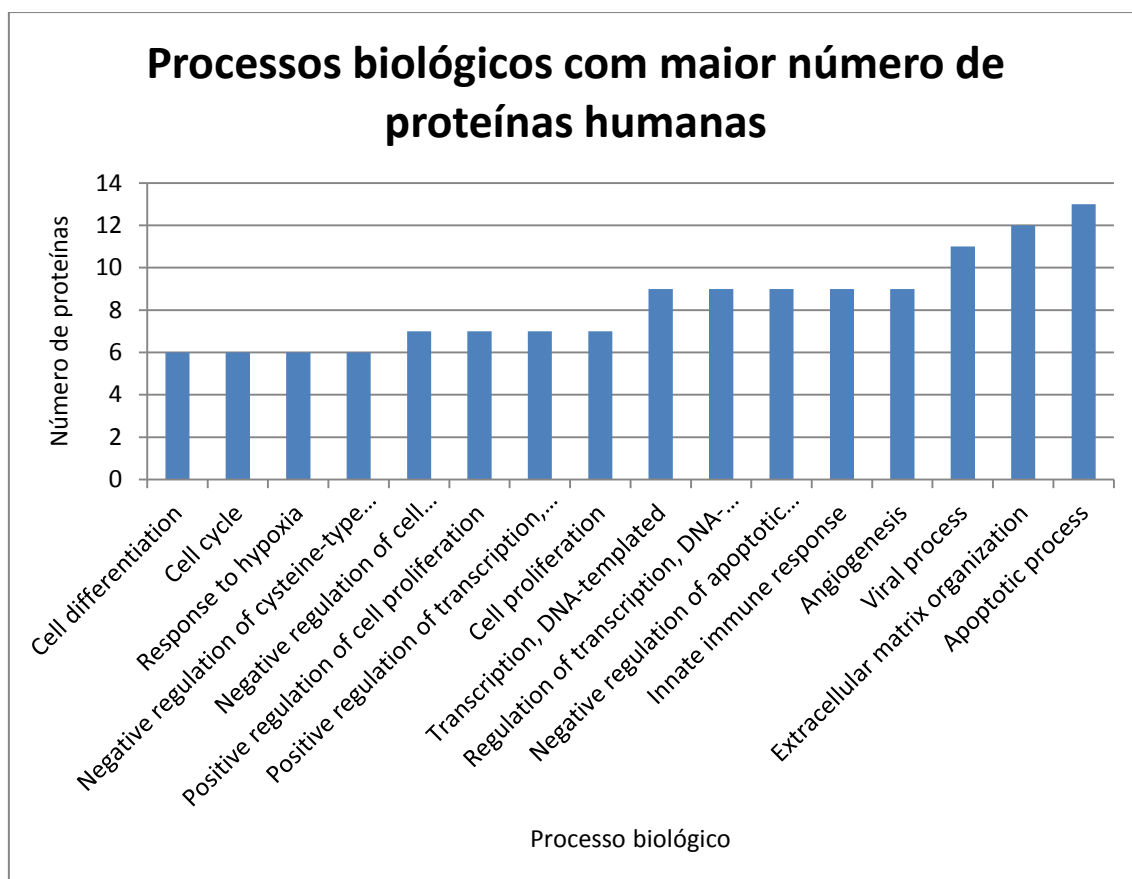


Figura 16 - Processos biológicos com maior número de proteínas envolvidas

Os processos biológicos que revelaram participação de maior número de proteínas humanas em cancro oral são os relacionados com a apoptose, a organização da matriz extracelular, os processos virais, a angiogénese, a resposta imune inata e o processo de transcrição do ADN. Todos estes processos já foram descritos como sendo importantes no fenótipo das células cancerígenas⁽³²⁾.

Sendo a apoptose, um dos principais mecanismo no cancro oral, importa identificar quais as proteínas humanas que se encontram presentes neste processo. As tabelas 2 e 3 apresentam o código uniProt (Cód. UniProt); o nome; a função; o número de interações total (Total Int.), dadas pelo OralInt, com proteínas microbianas já identificadas em amostras de saliva de pacientes com cancro oral; o número de

interações diferentes (Int \neq), isto é, com genes microbianos diferentes e tendo em atenção a localização celular da proteína no microrganismo (para que sejam eliminados falsos positivos e serem apenas consideradas proteínas com capacidade real de interagir) e a regulação (Reg.) da mesma.

Tabela 2 - Proteínas envolvidas no processo de apoptose (*Apoptotic process*)

Cód. <i>UniProt</i>	Nome	Função	Total Int.	Int \neq	Reg.
P31947	<i>14-3-3 protein sigma</i>	Regulador da <i>p53</i> e inibidor da progressão G2/M.	8	3	+
P31749	<i>RAC-alpha serine/threonine-protein kinase</i>	Regula processos de metabolismo, proliferação, sobrevivência celular, crescimento e angiogénese.	22	8	+
P12830	<i>Cadherin-1</i>	Proteína de adesão celular dependente de cálcio. Envolvida nos mecanismos que regulam a adesão célula-célula, a mobilidade e a proliferação de células epiteliais. Tem um papel supressor invasivo.	6	3	-
P35222	<i>Catenin beta-1</i>	Componente chave na via de sinalização <i>Wnt</i> . Envolvido na regulação da adesão celular.	7	3	-
P01584	<i>Interleukin-1 beta</i>	Produzida por macrófagos ativados. Estimula a proliferação de timócitos e induz a libertação de IL-2, a maturação, a proliferação de células-B, e fator de crescimento de actividade dos fibroblastos. Proteína envolvida na resposta inflamatória.	20	7	+
P02545	<i>Prelamin-A/C</i>	Organização nuclear, da cromatina, da membrana e da dinâmica dos telómeros. Pode acelerar a senescência das células do músculo liso, interrompendo a mitose e induzindo danos no ADN em células do músculo liso vascular.	7	3	+
P20591	<i>Interferon-induced GTP-binding protein Mx1</i>	Atividade antiviral contra uma grande variedade de vírus de ARN e de ADN.	21	7	+
P29590	<i>Protein PML</i>	Funções na supressão de tumores, regulação da transcrição, apoptose, senescência, resposta a danos do ADN e mecanismos de defesa virais. Isoforma PML-4 tem um papel multifacetado na regulação da inibição da apoptose e crescimento.	9	5	+
Q06323	<i>Proteasome activator complex subunit 1</i>	Papel na resposta imune. Reconhecimento eficiente do antígeno.	1	0	+
Q14563	<i>Semaphorin-3</i>	Desenvolvimento do sistema olfativo e no controlo neuronal da puberdade. Ligante que orienta cones de crescimento específicos por um mecanismo de inibição da motilidade.	8	3	-

No processo de apoptose verifica-se que a proteína P31749 (*RAC-alpha serine/threonine-protein kinase*) é a que apresenta maior número de interações com proteínas microbianas.

Tabela 3 - Proteínas envolvidas na regulação negativa do processo de apoptose (*Negative regulation of apoptotic process*)

Cód. UniProt	Nome	Função	Total Int.	Int ≠	Reg.
P31749	<i>RAC-alpha serine/threonine-protein kinase</i>	Regula processos de metabolismo, proliferação, sobrevivência celular, crescimento e angiogénese.	22	8	+
P16070	<i>CD44 antigen</i>	Recetor do ácido hialurónico. Medeia as interações célula-célula. Importante na migração das células, no crescimento do tumor e progressão. Em células cancerígenas, pode desempenhar um papel importante na invasão celular.	22	7	+
P14625	<i>Endoplasmin</i>	Processamento e transporte de proteínas secretadas.	10	4	+
Q16665	<i>Hypoxia-inducible factor 1-alpha</i>	Regulador transcricional da resposta adaptativa à hipoxia. Essencial na vascularização embrionária, angiogénese tumoral e fisiopatologia da doença isquémica.	3	1	+
P05164	<i>Myeloperoxidase</i>	Sistema de defesa do hospedeiro de leucócitos polimorfonucleares. Responsável pela atividade microbicida contra um amplo espectro de organismos.	5	2	-
Q06323	<i>Proteasome activator complex subunit 1</i>	Papel na resposta imune. Reconhecimento eficiente do antigénio.	1	0	+
P07996	<i>Thrombospondin-1</i>	Glicoproteína adesiva que medeia as interações célula-célula e célula-matriz.	11	4	+

Na regulação do processo de apoptose, as proteínas P31749 (*RAC-alpha serine/threonine-protein kinase*) e a P16070 (*CD44 antigen*) revelaram 8 e 7 interações, respetivamente, com proteínas de microbiotas orais.

A organização da matriz extra celular é outro dos processos biológicos em que maior número de proteínas participa. A tabela 4 apresenta-nos as proteínas que intervêm neste processo.

Tabela 4 - Proteínas envolvidas na organização da matriz extracelular (*extracellular matrix organization*)

Cód. <i>UniProt</i>	Nome	Função	Total Int.	Int ≠	Reg.
P12814	<i>Alpha-actinin-1</i>	Proteína de agregação.	9	6	+
P07339	<i>Cathepsin D</i>	Ativo na degradação de proteínas intracelulares. Envolvida na patogénese de cancro da mama e, possivelmente, do Alzheimer.	9	4	+
P16070	<i>CD44 antigen</i>	Recetor do ácido hialurónico. Medeia as interações célula-célula. Importante na migração das células, no crescimento do tumor e progressão. Em células cancerígenas, pode desempenhar um papel importante na invasão celular.	22	7	+
P02751	<i>Fibronectin</i>	Envolvida na adesão celular, motilidade, opsonização, cicatrização e manutenção da forma da célula.	14	5	+
P16144	<i>Integrin beta-4</i>	Recetor para a laminina. Regulação da polaridade dos queratinócitos e motilidade.	3	2	+
Q13753	<i>Laminin subunit gamma-2</i>	Medeia a ligação, migração e organização de células em tecidos durante o desenvolvimento embrionário e interage com outros componentes da matriz extracelular.	10	4	+
P08253	<i>72 kDa type IV collagenase</i>	Intervém na remodelação vascular, na angiogénese, na reparação de tecidos, na invasão tumoral, na inflamação e na rutura da placa aterosclerótica. Degradação de proteínas da matriz extracelular.	8	2	+
Q15063	<i>Periostin</i>	Adesão celular e mineralização da matriz extracelular.	3	1	+
P24821	<i>Tenascin</i>	Proteína da matriz extracelular envolvida na orientação da migração dos neurónios e dos axónios. Regeneração neuronal.	21	9	+
P07996	<i>Thrombospondin-1</i>	Glicoproteína adesiva que medeia as interações célula-célula e célula-matriz.	11	4	+
P02766	<i>Transthyretin</i>	Proteína de ligação da hormona da tiróide. Provavelmente transporta tiroxina da corrente sanguínea para o cérebro.	10	4	-

Das proteínas envolvidas na organização da matriz extracelular, é importante salientar a P24821 (*Tenascin*) que interage com 9 proteínas microbianas.

No processo viral (*viral process*) participam 7 das proteínas humanas em identificadas em amostras de pacientes com cancro oral. A tabela 5 representa as proteínas envolvidas neste fenómeno biológico.

Tabela 5 - Proteínas envolvidas no processo viral (*viral process*)

Cód. <i>UniProt</i>	Nome	Função	Total Int.	Int ≠	Reg.
P02790	<i>Hemopexin</i>	Liga heme e faz o seu transporte para o fígado.	11	2	-
P05161	<i>Ubiquitin-like protein ISG15</i>	Resposta imune inata através da conjugação com uma proteína alvo ou através da ação como uma proteína livre ou não conjugada.	15	6	+
P08727	<i>Keratin, type I cytoskeletal 19</i>	Organização das fibras musculares.	6	3	-
P05787	<i>Keratin, type II cytoskeletal 8</i>	Ajuda a ligar o aparelho contráctil.	1	0	+
P29590	<i>Protein PML</i>	Funções na supressão de tumores, regulação da transcrição, apoptose, senescência, resposta a danos do ADN e mecanismos de defesa virais. Isoforma PML-4 tem um papel multifacetado na regulação da inibição da apoptose e crescimento.	9	5	+
Q06323	<i>Proteasome activator complex subunit 1</i>	Papel na resposta imune. Reconhecimento eficiente do antigénio.	1	0	+
P40763	<i>Signal transducer and activator of transcription 3</i>	Transdutor de sinal e ativador da transcrição que medeia respostas celulares das interleucinas.	9	4	+

No processo viral, verifica-se que as proteínas P05787 (*Keratin, type II cytoskeletal 8*) e a Q06323 (*Proteasome activator complex subunit 1*) não estabelecem nenhuma interação com microbiotas de cancro oral, após a eliminação de falsos positivos, isto é, tendo em conta a localização celular.

O processo de transcrição do ADN é fundamental para a homeostasia dos tecidos. Quando se encontra alterado pode levar a carcinogénese. As proteínas humanas em cancro oral que participam neste processo encontram-se representadas na tabela 6.

Tabela 6 - Proteínas envolvidas na transcrição (*Transcription, DNA-templated*) e na regulação da transcrição (*Regulation of transcription, DNA-templated*)

Cód. <i>UniProt</i>	Nome	Função	Total Int.	Int ≠	Reg.
P35222	<i>Catenin beta-1</i>	Componente chave na via de sinalização <i>Wnt</i> . Envolvido na regulação da adesão celular.	7	3	-
Q16665	<i>Hypoxia-inducible factor 1-alpha</i>	Regulador transcricional da resposta adaptativa à hipoxia. Essencial na vascularização embrionária, angiogénese tumoral e fisiopatologia da doença isquémica.	3	1	+
P09874	<i>Poly [ADP-ribose] polymerase 1</i>	Envolvida na reparação de excisão de bases e na arquitetura da cromatina e no metabolismo do ADN.	2	2	+
P29590	<i>Protein PML</i>	Funções na supressão de tumores, regulação da transcrição, apoptose, senescência, resposta a danos do ADN e mecanismos de defesa virais. Isoforma PML-4 tem um papel multifacetado na regulação da inibição da apoptose e crescimento.	9	5	+
P40763	<i>Signal transducer and activator of transcription 3</i>	Transdutor de sinal e ativador da transcrição que medeia respostas celulares das interleucinas.	9	4	+

No processo de transcrição de ADN é importante salientar a proteína humana P29590 (*Protein PML*) com 5 interações e com a regulação alterada.

Na resposta imune inata, participam 7 proteínas humanas do Interactoma humano-microbiota em cancro oral, e encontram-se representadas na tabela 7.

Tabela 7 - Proteínas envolvidas na resposta imune inata (Inate immune response)

Cód. <i>UniProt</i>	Nome	Função	Total Int.	Int ≠	Reg.
P31749	<i>RAC-alpha serine/threonine-protein kinase</i>	Regula processos de metabolismo, proliferação, sobrevivência celular, crescimento e angiogénese.	22	8	+
P35222	<i>Catenin beta-1</i>	Componente chave na via de sinalização <i>Wnt</i> . Envolvido na regulação da adesão celular.	7	3	-
P14625	<i>Endoplasmic</i>	Processamento e transporte de proteínas secretadas.	10	4	+
P08238	<i>Heat shock protein HSP 90-beta</i>	Promove a maturação, manutenção estrutural e regulação adequada de proteínas-alvo específicas.	15	5	+
P05161	<i>Ubiquitin-like protein ISG15</i>	Resposta imune inata através da conjugação com uma proteína alvo ou através da ação como uma proteína livre ou não conjugada.	15	6	+
P20591	<i>Interferon-induced</i>	Atividade antiviral contra uma grande variedade de vírus de ARN e de ADN.	21	7	+

<i>GTP-binding protein Mx1</i>					
P29590	<i>Protein PML</i>	Funções na supressão de tumores, regulação da transcrição, apoptose, senescência, resposta a danos do ADN e mecanismos de defesa virais. Isoforma PML-4 tem um papel multifacetado na regulação da inibição da apoptose e crescimento.	9	5	+

As interações que a proteína P31749 (*RAC-alpha serine/threonine-protein kinase*) estabelece com proteínas microbianas parecem interferir no processo da resposta imune inata.

A formação de novos vasos sanguíneos tem um papel preponderante no desenvolvimento e metastização do cancro oral. As proteínas humanas que participam neste processo encontram-se na tabela 8.

Tabela 8 - Proteínas envolvidas na angiogénese (*angiogenesis*)

Cód. UniProt	Nome	Função	Total Int.	Int ≠	Reg.
P06576	<i>ATP synthase subunit beta, mitochondrial</i>	ATP sintase da membrana mitocondrial. Produz ATP a partir de ADP.	9	3	-
P02751	<i>Fibronectin</i>	Envolvida na adesão celular, motilidade, opsonização, cicatrização e manutenção da forma da célula.	14	5	+
P06744	<i>Glucose-6-phosphate isomerase</i>	Pode funcionar como uma citocina tumoral secretada ou um fator angiogénico que estimula a motilidade celular endotelial.	3	2	+
Q16665	<i>Hypoxia-inducible factor 1-alpha</i>	Regulador transcricional da resposta adaptativa à hipoxia. Essencial na vascularização embrionária, angiogénese tumoral e fisiopatologia da doença isquémica.	3	1	+
P08253	<i>72 kDa type IV collagenase</i>	Intervém na remodelação vascular, na angiogénese, na reparação de tecidos, na invasão tumoral, na inflamação e na rutura da placa aterosclerótica. Degradação de proteínas da matriz extracelular.	8	2	+
P35579	<i>Myosin-9</i>	Citocinese, forma da célula, e funções especializadas, tais como a secreção e capeamento.	13	5	+
O14786	<i>Neuropilin-1</i>	Recetor envolvido no desenvolvimento do sistema cardiovascular, na angiogénese, na formação de certos circuitos neuronais e na organogénese.	7	2	+

Na angiogénese as proteínas P0275 (*Fibronectin*) e a P35579 (*Myosin-9*) são as que estabelecem maior número de interações.

Considerando as 9 proteínas que participam em mais processos biológicos que contribuem para a fisiopatologia do cancro oral e os 8 processos biológicos em que participam mais proteínas humanas, anteriormente descritos, analisou-se quais as proteínas com maior expressão nos processos biológicos mais relevantes. A tabela 9 apresenta em quais dos 8 processos biológicos participam as proteínas com maior relevância.

Tabela 9 - Processos biológicos em que participam as proteínas mais relevantes

Código UniProt	Nome da proteína	Processos biológicos mais relevantes
P35222	<i>Catenin beta-1</i>	<i>Apoptotic process Transcription, DNA-templated Regulation of transcription, DNA-templated Inate immune response</i>
P05412	<i>Transcription factor AP-1</i>	<i>Negative regulation of apoptotic process Transcription, DNA-templated Regulation of transcription, DNA-templated Inate immune response Angiogenesis</i>
P29590	<i>Protein PML</i>	<i>Apoptotic process Viral process Transcription, DNA-templated Regulation of transcription, DNA-templated</i>
P07996	<i>Thrombospondin-1</i>	<i>Negative regulation of apoptotic process Extracellular matrix organization</i>
P31749	<i>RAC-alpha serine/threonine-protein kinase</i>	<i>Apoptotic process Negative regulation of apoptotic process Inate immune response</i>
Q16665	<i>Hypoxia-inducible factor 1-alpha</i>	<i>Negative regulation of apoptotic process Transcription, DNA-templated Regulation of transcription, DNA-templated Angiogenesis</i>
P01584	<i>Interleukin-1 beta</i>	<i>Apoptotic process</i>
P42224	<i>Signal transducer and activator of transcription 1-alpha/beta</i>	<i>Apoptotic process Viral process Transcription, DNA-templated</i>

Regulation of transcription, DNA-templated

P24385	<i>G1/S-specific cyclin-D1</i>	Não participa em nenhum dos 8 processos biológicos com maior número de proteínas envolvidas.
--------	--------------------------------	--

Após a análise da tabela 9, verifica-se que a proteína P05412 (*Transcription factor AP-1*), que no total participa em 33 processos biológicos que levam ao desenvolvimento do cancro oral, participa em 5 dos 8 processos biológicos mais relevantes em cancro oral.

Com a ferramenta informática Cytoscape, obtivemos a rede de interações das proteínas humanas e microbianas em cancro oral por processo biológico. A figura 17 representa a interceção das redes obtidas para cada um dos processos biológicos mais relevantes (apoptose, regulação negativa da apoptose, organização da matriz extracelular, processo viral, resposta imune inata, transcrição do ADN e angiogénese) no Cytoscape, em que as proteínas identificadas com triângulos correspondem às microbianas e com rectângulos às humanas. É importante ressaltar que existem proteínas humanas e microbianas, descritas em cancro oral, exclusivas dos processos biológicos analisados, o que pode contribuir para a identificação de potenciais novos biomarcadores ou alvos terapêuticos. No processo de apoptose, verifica-se que as proteínas humanas P12830 (*Cadherin-1*), P01584 (*Interleukin-1 beta*), P31947 (*14-3-3 protein sigma*), Q14563 (*Semaphorin-3*) e P02545 (*Prelamin-A/C*) são exclusivas deste mecanismo. As proteínas P05164 (*Myeloperoxidase*), P07996 (*Thrombospondin-1*) e P16070 (*CD44 antigen*) só participam na regulação negativa da apoptose, no entanto sabe-se que a P05164 pode estar associada à resposta imune. Ao invés, a organização da matriz extracelular não apresenta proteínas exclusivas. A angiogénese é o processo biológico analisado que apresenta maior número de proteínas exclusivas (P02751 - *Fibronectin*, P08253 - *72 kDa type IV collagenase*, P35579 - *Myosin-9*, P06576 - *ATP synthase subunit beta, mitochondrial*, O14786 - *Neuropilin-1* e a P06744 - *Glucose-6-phosphate isomerase*). Na resposta imune inata participa a P08238 (*Heat shock protein HSP 90-beta*) que intervém exclusivamente neste mecanismo e no processo viral a P05161 (*Ubiquitin-like protein ISG15*) é a proteína humana que é exclusiva deste processo. O processo de transcrição do ADN não apresenta proteínas humanas exclusivas.

Quanto às proteínas microbianas com interação que estão descritas em amostras de pacientes com cancro, verifica-se que o processo viral, a regulação negativa da apoptose e o processo de transcrição do ADN não apresentam proteínas exclusivas. No processo da apoptose verifica-se que a proteína microbiana P45595 (*Phosphoenolpyruvate-protein phosphotransferase*) produzida pelo microrganismo *Streptococcus mutans serotype c* é exclusiva deste processo. Esta proteína interage com a proteína humana P02545 (*Prelamin-A/C*). Na resposta imune é a proteína P10725 (*Alanine racemase 1*) produzida pelo *Bacillus subtilis* e, estabelece ligação com a proteína humana P08238 (*Heat shock protein HSP 90-beta*). Na angiogénese, as proteínas microbianas, P47547 (*Chaperone protein DnaK*) produzida por *Mycoplasma genitalium*, P39119 (*Citrate synthase 1*) gerada pelo *Bacillus subtilis* e Q97NG0 (*Glucose-6-phosphate isomerase*) do microrganismo *Streptococcus pneumoniae serotype 4* são exclusivas deste processo. A P47547 interage com a humana P35579 (*Myosin-9*), também exclusiva da angiogénese; a P39119 liga-se à humana O14786 (*Neuropilin-1*) e, a proteína microbiana Q97NG0, interage com a P02751 (*Fibronectin*) e com a P12814 (*Alpha-actinin-1*). Na organização da matriz extracelular a proteína microbiana Q6AGS4 (*Phosphoenolpyruvate carboxykinase [GTP]*) interage com a humana P12814 (*Alpha-actinin-1*).

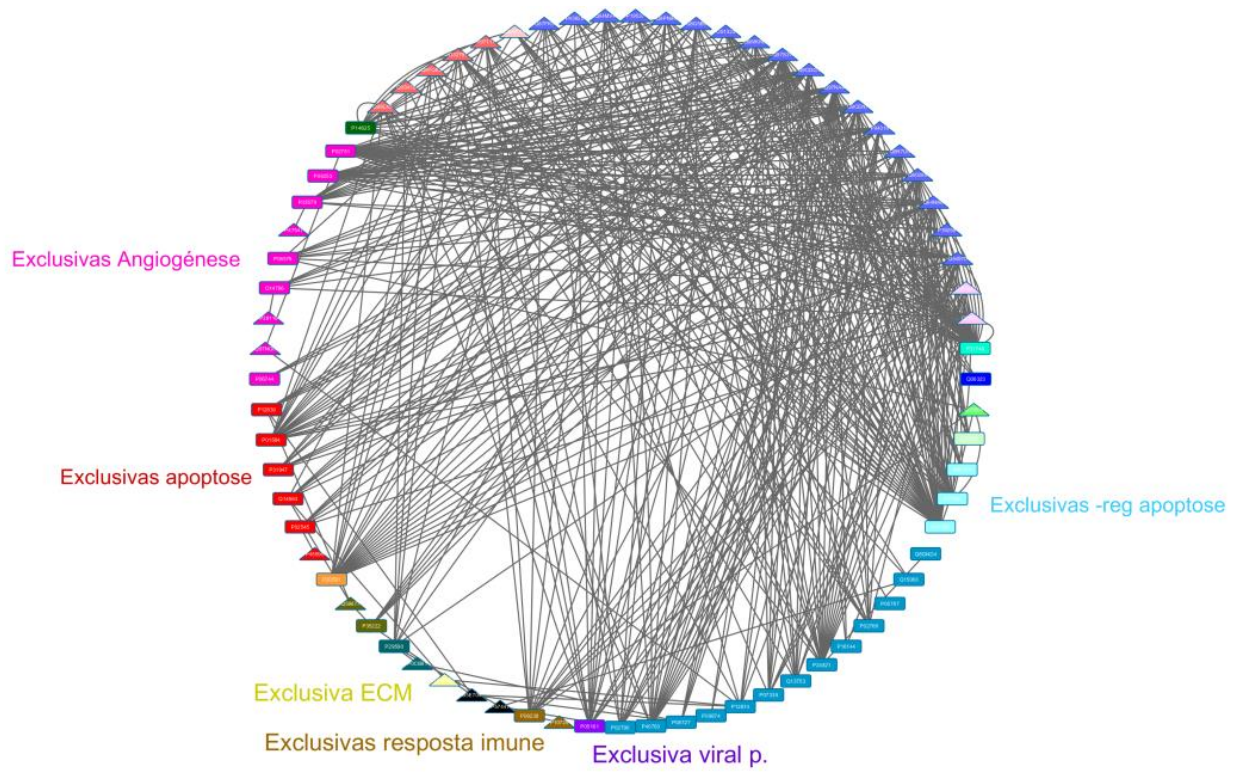


Figura 17 - Rede do Interactoma humano-microbiota em cancro oral por processo biológico obtida através da ferramenta Cytoscape

5. Discussão

5. Discussão

Os profissionais de saúde têm um papel fundamental no diagnóstico precoce do cancro oral através da observação de sinais e sintomas característicos. No entanto, como a maior parte dos sintomas se manifesta tardiamente, os cientistas estão a pesquisar alternativas com o intuito de obter o seu diagnóstico em fases iniciais da doença. Os principais estudos nesta área estão relacionados com a pesquisa de biomarcadores através da análise da saliva⁽²⁴⁾.

A cavidade oral é hospedeira de vários microrganismos e a colonização microbiana é mediada através de interações proteína-proteína entre o hospedeiro e microrganismos⁽⁹⁾. No entanto, este tipo de interações ainda é, em grande parte, desconhecido. Para colmatar esta falha, têm sido desenvolvidos alguns programas informáticos com o objetivo de armazenar e classificar informação biológica, o OralInt é uma ferramenta que permite obter o Interactoma oral humano-microbiota⁽⁶⁰⁾.

Virtualmente, todos os eventos celulares, tais como a transdução de sinal, o transporte intracelular, a replicação de ADN, a transcrição, a tradução e o controlo do ciclo celular são mediados através de interações proteína-proteína. O mesmo se aplica nos sistemas microrganismo patogénico-hospedeiro, onde estas interações são essenciais para o estabelecimento da patologia. Assim, conhecendo o Interactoma humano-microbiano do cancro oral, conseguimos verificar quais influenciam os mecanismos fisiopatológicos^(60, 61). Na carcinogénese, várias vias celulares, reguladoras de processos essenciais para a homeostasia celular, estão alteradas. A descoberta dos mecanismos a nível molecular que estão envolvidos na desregulação dos processos biológicos mais relevantes em cancro oral é um dos objetivos da área de investigação oncológica.

Nas patologias infecciosas as interações entre o hospedeiro e microrganismos têm um papel preponderante na fisiopatologia. Uma das principais causas de cancro oral é a infeção⁽²⁹⁾. Partindo do pressuposto que as interações microrganismo-humano são essenciais para o estabelecimento de uma patologia⁽⁶⁰⁾, neste trabalho, através do conhecimento das proteínas humanas que já se encontram identificadas em amostras de saliva de pacientes com cancro oral, disponíveis na página *web* do OralCard e que participam no Interactoma microbiota-hospedeiro, obtidas através da ferramenta informática OralInt, conseguimos verificar quais as proteínas com maior expressão nos

diferentes processos biológicos que contribuem para o estabelecimento do cancro oral, bem como, os processos biológicos com maior influência no mesmo, que poderão ser influenciados pelo microbiota oral.

Os processos biológicos em que participam maior número de proteínas e que, deste modo, contribuem para a fisiopatologia do cancro oral são a apoptose, a organização da matriz extracelular, os processos virais, a angiogénese, a resposta imune inata e o processo de transcrição do ADN. A literatura descreve que a alteração dos mecanismos de regulação da apoptose se verifica em várias situações fisiológicas e patológicas, das quais se destacam o desenvolvimento embrionário, as doenças neurodegenerativas e o cancro. No caso do cancro, verifica-se que há uma desregulação dos processos apoptóticos, associada a uma proliferação celular ilimitada^(33, 34). Deste modo, os resultados da análise do proteoma oral suportam os conhecimentos atuais no que diz respeito aos processos relacionados com a apoptose.

No processo de apoptose e na regulação do mesmo, estão envolvidas várias proteínas humanas com regulação alterada em cancro oral. Após a análise do interactoma destas proteínas com as proteínas microbianas e de se ter verificado quais já se encontram descritas no OralCard para o cancro oral e quais conseguem na realidade interagir, pois depende da localização da proteína no microrganismo, importa destacar a proteína humana P31749 (*RAC-alpha serine/threonine-protein kinase*) que interage, após a eliminação de falsos positivos, com 8 proteínas microbianas, sendo que estas participam na morfogénese, em reações de catalisação e na gluconeogénese.

Raju, B. *et al*⁽³¹⁾, afirma que o cancro oral progride através de uma série de alterações genéticas que controlam o crescimento celular, a diferenciação, a proliferação e a metástase. Assim como a apoptose, a proliferação celular descontrolada e a angiogénese são processos biológicos que levam ao desenvolvimento do cancro. Os resultados obtidos vão de encontro a esta citação, pois a apoptose e a angiogénese são dos processos biológicos que envolvem maior número de proteínas humanas pertencentes ao Interactoma do cancro oral.

Processos biológicos como a diferenciação e proliferação celular e a regulação do ciclo celular também demonstraram a participação de proteínas humanas em cancro oral, o que se encontra de acordo com a literatura que afirma que estes processos são fundamentais no desenvolvimento do cancro oral⁽⁴¹⁾.

Gilkes, D. *et al*.⁽⁴⁰⁾, demonstraram a influência da organização da matriz extracelular e da hipoxia na metastização do cancro. Nos resultados verifica-se que estes

processos se encontram nos que apresentam maior número de proteínas humanas em cancro oral.

As proteínas humanas P35222 (*Catenin beta-1*), P05412 (*Transcription factor AP-1*), P29590 (*Protein PML*), P07996 (*Thrombospondin-1*), P31749 (*RAC-alpha serine/threonine-protein kinase*), Q16665 (*Hypoxia-inducible factor 1-alpha*), P01584 (*Interleukin-1 beta*), P42224 (*Signal transducer and activator of transcription 1-alpha/beta*) e P24385 (*G1/S-specific cyclin-D1*) são as que revelam maior participação nos processos biológicos que contribuem para a fisiopatologia do cancro oral. Destas a P05412, P29590, P07996, P31749, Q16665, P01584, P42224 e a P24385 têm regulação aumentada.

A proteína P05412 (*Transcription factor AP-1*) é a que participa nos processos biológicos mais relevantes em cancro oral, uma vez que participa na apoptose, na transcrição e regulação do ADN, no processo de resposta imune inata e na angiogénese, isto é, colabora em 5 dos 8 processos biológicos em que participam maior número de proteínas humanas de cancro oral. Esta proteína estabelece 10 interações com microbiotas, no entanto, nenhuma destas proteínas microbianas se encontra identificada em cancro oral. A proteína P24385 (*G1/S-specific cyclin-D1*), embora participe em 17 processos biológicos de cancro oral, não participa em nenhum dos que demonstraram envolver maior número de proteínas.

O aumento da expressão destas proteínas humanas vai desencadear uma série de processos biológicos que culminam com o aparecimento de cancro oral.

A proteína humana que demonstrou maior número de interações, 1428, com proteínas microbianas foi a P20591 (*Interferon-induced GTP-binding protein Mx1*) mas só 7 das interações se efetuam com proteínas microbianas de cancro oral que catalisam diversas reações. Participa nos processos de apoptose e na resposta imune inata. A principal função desta proteína é a atividade antiviral contra uma grande variedade de vírus de ARN e ADN o que justifica a sua participação na resposta imune inata. A proteína P24821 (*Tenascin*), com 9 interações com proteínas microbianas de cancro oral, encontra-se relacionada com a organização da matriz extracelular, sendo a que interage com mais microrganismos associados a amostras de pacientes com cancro oral identificados pelo OralCard. As principais funções das proteínas microbianas que estabelecem interação com a P24821 estão relacionadas com a degradação de hidratos de carbono e com a gluconeogénese. A P02751 (*Fibronectin*) é uma proteína envolvida na adesão celular, motilidade, opsonização, cicatrização e manutenção da forma da

célula. Apresenta 5 interações com microrganismos identificados em cancro oral, e está nos processos de organização da matriz extracelular e na angiogénese. Para além destas, importa salientar a P31749 (*RAC-alpha serine/threonine-protein kinase*) envolvida na apoptose, na regulação negativa da apoptose e na resposta imune inata com 8 interações com proteínas microbianas identificadas em amostras de doentes com cancro oral. Esta proteína regula processos de metabolismo, proliferação, sobrevivência celular, crescimento e angiogénese. Estes processos demonstram-se fundamentais na fisiopatologia do cancro oral. A proteína P16070 (*CD44 antigen*) apresenta 7 interações com microbiotas de cancro oral e medeia as interações célula-célula, a associação com as proteínas microbianas pode, possivelmente, interferir com as interações célula-célula normais no hospedeiro. Esta proteína é, também, fundamental na migração das células, no crescimento do tumor e progressão. Em células cancerígenas, pode desempenhar um papel importante na invasão celular.

Através do conhecimento e identificação das proteínas que estabelecem ligação e que participam nos principais eventos que levam ao estabelecimento do cancro oral é possível desenvolver novos métodos de diagnóstico e terapêuticos, isto é, o conhecimento da patofisiologia da doença leva ao desenvolvimento de métodos mais específicos e direcionados⁽⁶⁰⁾.

Após esclarecido o Interactoma da cavidade oral em cancro oral podemos sugerir algumas proteínas como marcadores da patologia, sendo este um dos objetivos do presente trabalho. A proteína P16070 (*CD44 antigen*) e a P31749 (*RAC-alpha serine/threonine-protein kinase*) são bons exemplos de proteínas a serem pesquisadas no proteoma salivar, uma vez que a sua regulação está alterada em cancro oral, apresentam diversas interações e estão envolvidas em diversos processos carcinogénicos. No entanto, o fato de interagirem com diferentes microrganismos pode ser um problema para a função de biomarcador, pois devem ser específicos.

A análise das redes de interação nos diferentes processos biológicos em cancro oral, revelou-nos a existência de proteínas humanas e microbianas exclusivas dos processos biológicos analisados. No processo de apoptose, a proteína microbiana P45595 (*Phosphoenolpyruvate-protein phosphotransferase*) estabelece ligação com a humana P02545 (*Prelamin-A/C*). A proteína humana P02545 está relacionada com a organização nuclear e pode acelerar a senescência das células. Provavelmente, a proteína microbiana ao interagir com a humana pode alterar a sua função, comprometendo a senescência celular. Esta ação pode estar relacionada com os

processos de malignização, visto que a senescência celular protege as células do desenvolvimento de cancro. Na resposta imune, verificou-se que a proteína microbiana P10725 (*Alanine racemase 1*) interage com a P08238 (*Heat shock protein HSP 90-beta*) que regula proteínas alvo específicas. Na angiogénese das proteínas microbianas exclusivas deste processo é importante salientar a Q97NG0 (*Glucose-6-phosphate isomerase*) que interage com a humana P02751 (*Fibronectin*) que intervém na adesão celular, opsonização e motilidade e com a P12814 (*Alpha-actinin-1*) que é uma proteína de agregação.

As principais limitações deste estudo são o fato de não se conseguir eliminar por completo os falsos positivos a nível das interações e de o microbioma total em cancro oral ainda não ser totalmente conhecido e catalogado. Assim, a investigação científica deve direccionar as suas pesquisas na análise salivar para se conseguir identificar as proteínas presentes em cancro oral e a ação das mesmas na fisiopatologia de várias doenças.

Em suma, as mudanças nas condições ambientais locais da microflora podem alterar a competitividade das bactérias orais e levar ao crescimento de proteínas de baixa expressão da microflora, aumentando o risco de aparecimento de doenças⁽³⁶⁾. As proteínas humanas e microbianas identificadas em pacientes com cancro, também se podem encontrar em pacientes saudáveis, no entanto, em situações patológicas, a sua expressão encontra-se alterada. Assim, a manutenção de uma microflora saudável é essencial para reduzir o potencial de desenvolvimento do cancro oral.

6. Conclusão

6. Conclusão

O conhecimento do proteoma oral e dos mecanismos moleculares que levam ao desenvolvimento das várias patologias da cavidade oral é essencial para o aperfeiçoamento de técnicas de diagnóstico, prevenção e tratamento. As ferramentas bioinformáticas garantem a catalogação e caracterização exaustiva do proteoma salivar.

A microflora oral tem um papel importante no estabelecimento de cancro oral, pois as proteínas humanas estabelecem interação com microbiotas que levam ao desenvolvimento de processos biológicos como a apoptose, a hipoxia e a angiogénese, fundamentais no cancro oral.

O conhecimento do Interactoma do cancro oral permitiu verificar quais os eventos biológicos com maior relevância em cancro oral. Os que demonstraram maior participação de proteínas humanas foram a apoptose, a organização da matriz extracelular, os processos virais, a angiogénese, a resposta imune inata e o processo de transcrição do ADN.

Com este trabalho, conseguimos identificar as proteínas com maior influência nos processos biológicos que desencadeiam o cancro oral, sendo que, estas proteínas se encontram com regulação alterada. Os resultados obtidos podem levar ao estudo das proteínas com maior expressão nos mecanismos biológico oncológicos com a intenção de serem utilizadas para o diagnóstico precoce através de biomarcadores e em tratamentos mais direcionados e menos invasivos. É importante ter em atenção as limitações deste trabalho, pois as interações dadas pelo OralInt podem não ser todas praticáveis no hospedeiro. Outro aspeto a ter em conta é o fato de as proteínas humanas e microbianas em cancro oral ainda não estarem completamente identificadas, sendo importante, que futuras pesquisas identifiquem proteínas em amostras de diferentes tipos de cancro e em estádios de desenvolvimento distintos.

Assim, este trabalho trata-se de um estudo preliminar sobre as interações que o hospedeiro estabelece com diferentes microrganismos que podem contribuir para o desenvolvimento de cancro oral.

7. Trabalho Futuro

7. Trabalho Futuro

As evidências obtidas com a realização deste trabalho indicam que ainda há muito para desenvolver, nomeadamente na identificação das interações humano-microbiota em cancro oral, bem como noutras patologias que acometem a cavidade oral. Neste sentido e de acordo com os resultados obtidos, o trabalho futuro deve ser direccionado para o desenvolvimento de procedimentos experimentais e identificação das proteínas que revelam maior expressão nos processos biológicos mais relevantes em cancro oral e maior número de interações com microbiotas, nomeadamente com a utilização de anticorpos específicos para estas proteínas, o que pode permitir um diagnóstico mais precoce e um tratamento mais específico.

8. Bibliografia

8. Bibliografia

1. Seeley R ST, Tate P. Anatomia e Fisiologia. 6^a ed, 2003. Cap. 24
2. Squier CA, Kremer MJ. Biology of oral mucosa and esophagus. J Natl Cancer Inst Monogr. 2001(29):7-15. Epub 2001/11/06.
3. Santos LL, Teixeira LM. Oncologia Oral, 2001. Cap. I, III, V, VIII
4. Arrais JP, Rosa N, Melo J, Coelho ED, Amaral D, Correia MJ, et al. OralCard: a bioinformatic tool for the study of oral proteome. Arch Oral Biol. 2013;58(7):762-72. Epub 2013/02/12.
5. Lamont RB, R.; Lantz, M.; Leblanc, D. Oral Microbiology and Immunology, 2006. Cap.3
6. Wade WG. The oral microbiome in health and disease. Pharmacol Res. 2013;69(1):137-43. Epub 2012/12/04.
7. Dimitrov DV, Hoeng J. Systems approaches to computational modeling of the oral microbiome. Front Physiol. 2013;4:172. Epub 2013/07/13.
8. Dewhirst FE, Chen T, Izard J, Paster BJ, Tanner AC, Yu WH, et al. The human oral microbiome. J Bacteriol. 2010;192(19):5002-17. Epub 2010/07/27.
9. Marsh PD, Percival RS. The oral microflora--friend or foe? Can we decide? Int Dent J. 2006;56(4 Suppl 1):233-9. Epub 2006/09/16.
10. de Almeida Pdel V, Gregio AM, Machado MA, de Lima AA, Azevedo LR. Saliva composition and functions: a comprehensive review. J Contemp Dent Pract. 2008;9(3):72-80. Epub 2008/03/13.
11. Jou YJ, Lin CD, Lai CH, Chen CH, Kao JY, Chen SY, et al. Proteomic identification of salivary transferrin as a biomarker for early detection of oral cancer. Anal Chim Acta. 2010;681(1-2):41-8. Epub 2010/11/03.
12. 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. Epub 2010/01/30.
13. Rosa N, Correia MJ, Arrais JP, Lopes P, Melo J, Oliveira JL, et al. From the salivary proteome to the OralOme: comprehensive molecular oral biology. Arch Oral Biol. 2012;57(7):853-64. Epub 2012/01/31.
14. Kaufman E, Lamster IB. The diagnostic applications of saliva--a review. Crit Rev Oral Biol Med. 2002;13(2):197-212. Epub 2002/07/05.

15. Liu J, Duan Y. Saliva: a potential media for disease diagnostics and monitoring. *Oral Oncol.* 2012;48(7):569-77. Epub 2012/02/22.
16. Pushalkar S, Mane SP, Ji X, Li Y, Evans C, Crasta OR, et al. Microbial diversity in saliva of oral squamous cell carcinoma. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 2011;61(3):269-77. Epub 2011/01/06.
17. Rosa N. DO PROTEOMA SALIVAR AO ORALOMA. Departamento de Ciências da Saúde - UCP. 2011.
18. Xie H, Onsongo G, Popko J, de Jong EP, Cao J, Carlis JV, et al. Proteomics analysis of cells in whole saliva from oral cancer patients via value-added three-dimensional peptide fractionation and tandem mass spectrometry. *Mol Cell Proteomics.* 2008;7(3):486-98. Epub 2007/11/30.
19. Lee JM, Garon E, Wong DT. Salivary diagnostics. *Orthod Craniofac Res.* 2009;12(3):206-11. Epub 2009/07/25.
20. Al Kawas S, Rahim ZH, Ferguson DB. Potential uses of human salivary protein and peptide analysis in the diagnosis of disease. *Arch Oral Biol.* 2012;57(1):1-9. Epub 2011/07/22.
21. 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. Epub 2008/07/12.
22. Cummins J, Tangney M. Bacteria and tumours: causative agents or opportunistic inhabitants? *Infect Agent Cancer.* 2013;8(1):11. Epub 2013/03/30.
23. Nagy KN, Sonkodi I, Szoke I, Nagy E, Newman HN. The microflora associated with human oral carcinomas. *Oral Oncol.* 1998;34(4):304-8. Epub 1998/11/14.
24. Hu S, Arellano M, Boontheung P, Wang J, Zhou H, Jiang J, et al. Salivary proteomics for oral cancer biomarker discovery. *Clin Cancer Res.* 2008;14(19):6246-52. Epub 2008/10/03.
25. Warnakulasuriya S. Global epidemiology of oral and oropharyngeal cancer. *Oral Oncol.* 2009;45(4-5):309-16. Epub 2008/09/23.
26. Bagan J, Sarrion G, Jimenez Y. Oral cancer: clinical features. *Oral Oncol.* 2010;46(6):414-7. Epub 2010/04/20.
27. Dias GS, Almeida AP. A histological and clinical study on oral cancer: descriptive analyses of 365 cases. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2007;12(7):E474-8. Epub 2007/11/06.

28. Gasparotto D, Maestro R. Molecular approaches to the staging of head and neck carcinomas (review). *Int J Oncol*. 2007;31(1):175-80. Epub 2007/06/06.
29. Meurman JH. Oral microbiota and cancer. *J Oral Microbiol*. 2010;2. Epub 2010/01/01.
30. Scully C. Oral squamous cell carcinoma; from an hypothesis about a virus, to concern about possible sexual transmission. *Oral Oncol*. 2002;38(3):227-34. Epub 2002/04/30.
31. Raju B, Ibrahim SO. Pathophysiology of oral cancer in experimental animal models: a review with focus on the role of sympathetic nerves. *J Oral Pathol Med*. 2011;40(1):1-9. Epub 2010/09/08.
32. Gamberoni G, Storari S, Volinia S. Finding biological process modifications in cancer tissues by mining gene expression correlations. *BMC Bioinformatics*. 2006;7:6. Epub 2006/01/13.
33. Rufini A, Melino G. Cell death pathology: the war against cancer. *Biochem Biophys Res Commun*. 2011;414(3):445-50. Epub 2011/10/06.
34. Igney FH, Krammer PH. Death and anti-death: tumour resistance to apoptosis. *Nat Rev Cancer*. 2002;2(4):277-88. Epub 2002/05/11.
35. Plati J, Bucur O, Khosravi-Far R. Dysregulation of apoptotic signaling in cancer: molecular mechanisms and therapeutic opportunities. *J Cell Biochem*. 2008;104(4):1124-49. Epub 2008/05/07.
36. Plati J, Bucur O, Khosravi-Far R. Apoptotic cell signaling in cancer progression and therapy. *Integr Biol (Camb)*. 2011;3(4):279-96. Epub 2011/02/23.
37. Pralhad T, Madhusudan S, Rajendrakumar K. Concept, mechanisms and therapeutics of angiogenesis in cancer and other diseases. *J Pharm Pharmacol*. 2003;55(8):1045-53. Epub 2003/09/06.
38. Timar J, Dome B, Fazekas K, Janovics A, Paku S. Angiogenesis-dependent diseases and angiogenesis therapy. *Pathol Oncol Res*. 2001;7(2):85-94. Epub 2001/07/18.
39. Welti J, Loges S, Dimmeler S, Carmeliet P. Recent molecular discoveries in angiogenesis and antiangiogenic therapies in cancer. *J Clin Invest*. 2013;123(8):3190-200. Epub 2013/08/03.
40. Gilkes DM, Semenza GL, Wirtz D. Hypoxia and the extracellular matrix: drivers of tumour metastasis. *Nat Rev Cancer*. 2014. Epub 2014/05/16.

41. Whitfield ML, Sherlock G, Saldanha AJ, Murray JI, Ball CA, Alexander KE, et al. Identification of genes periodically expressed in the human cell cycle and their expression in tumors. *Mol Biol Cell*. 2002;13(6):1977-2000. Epub 2002/06/12.
42. Malumbres M, Barbacid M. Cell cycle, CDKs and cancer: a changing paradigm. *Nat Rev Cancer*. 2009;9(3):153-66. Epub 2009/02/25.
43. Donley N, Thayer MJ. DNA replication timing, genome stability and cancer: late and/or delayed DNA replication timing is associated with increased genomic instability. *Semin Cancer Biol*. 2013;23(2):80-9. Epub 2013/01/19.
44. Tachibana KE, Gonzalez MA, Coleman N. Cell-cycle-dependent regulation of DNA replication and its relevance to cancer pathology. *J Pathol*. 2005;205(2):123-9. Epub 2005/01/12.
45. Chuang JY, Yu NY, Chiang IP, Lai CH, Lin CD, Tang CH. Cyr61 increases matrix metalloproteinase-3 expression and cell motility in human oral squamous cell carcinoma cells. *J Cell Biochem*. 2012;113(6):1977-86. Epub 2012/01/19.
46. Walk EL, Weed SA. Recently Identified Biomarkers That Promote Lymph Node Metastasis in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma. *Cancers (Basel)*. 2011;3: p. 747-72.
47. Wijnhoven BP, Dinjens WN, Pignatelli M. E-cadherin-catenin cell-cell adhesion complex and human cancer. *Br J Surg*. 2000;87(8):992-1005. Epub 2000/08/10.
48. Abd El-Hafez YG, Chen CC, Ng SH, Lin CY, Wang HM, Chan SC, et al. Comparison of PET/CT and MRI for the detection of bone marrow invasion in patients with squamous cell carcinoma of the oral cavity. *Oral Oncol*. 2011;47(4):288-95. Epub 2011/03/15.
49. Acha A, Ruesga MT, Rodriguez MJ, Martinez de Pancorbo MA, Aguirre JM. Applications of the oral scraped (exfoliative) cytology in oral cancer and precancer. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2005;10(2):95-102. Epub 2005/03/01.
50. Petti S. Lifestyle risk factors for oral cancer. *Oral Oncol*. 2009;45(4-5):340-50. Epub 2008/08/05.
51. Meurman JH. Infectious and dietary risk factors of oral cancer. *Oral Oncol*. 2010;46(6):411-3. Epub 2010/04/13.
52. Petersen PE. Oral cancer prevention and control--the approach of the World Health Organization. *Oral Oncol*. 2009;45(4-5):454-60. Epub 2008/09/23.
53. Edelman LB, Eddy JA, Price ND. In silico models of cancer. *Wiley Interdiscip Rev Syst Biol Med*. 2010;2(4):438-59. Epub 2010/09/14.

54. Maojo V, Kulikowski CA. Bioinformatics and medical informatics: collaborations on the road to genomic medicine? *J Am Med Inform Assoc.* 2003;10(6):515-22. Epub 2003/08/20.
55. Ongoing and future developments at the Universal Protein Resource. *Nucleic Acids Res.* 2011;39(Database issue):D214-9. Epub 2010/11/06.
56. McCarthy FM, Gresham CR, Buza TJ, Chouvarine P, Pillai LR, Kumar R, et al. AgBase: supporting functional modeling in agricultural organisms. *Nucleic Acids Res.* 2011;39(Database issue):D497-506. Epub 2010/11/16.
57. Pillai L, Chouvarine P, Tudor CO, Schmidt CJ, Vijay-Shanker K, McCarthy FM. Developing a biocuration workflow for AgBase, a non-model organism database. *Database (Oxford).* 2012;2012:bas038. Epub 2012/11/20.
58. Saito R, Smoot ME, Ono K, Ruscheinski J, Wang PL, Lotia S, et al. A travel guide to Cytoscape plugins. *Nat Methods.* 2012;9(11):1069-76. Epub 2012/11/08.
59. Smoot ME, Ono K, Ruscheinski J, Wang PL, Ideker T. Cytoscape 2.8: new features for data integration and network visualization. *Bioinformatics.* 2011;27(3):431-2. Epub 2010/12/15.
60. Coelho ED, Arrais JP, Matos S, Pereira C, Rosa N, Correia MJ, et al. Computational prediction of the human-microbial oral interactome. *BMC Syst Biol.* 2014;8:24. Epub 2014/03/01.
61. Dyer MD, Murali TM, Sobral BW. Computational prediction of host-pathogen protein-protein interactions. *Bioinformatics.* 2007;23(13):i159-66. Epub 2007/07/25.

9. Anexos

9. ANEXOS

Nesta seção são apresentadas: Lista das proteínas humanas e bacterianas em Cancro Oral que se encontram no OralCard (ANEXO 1); Lista de proteínas humanas que participam no Interactoma humano-microbiano em cancro oral (ANEXO 2); Lista dos processos biológicos *parent* e dos respetivos *childs* – Resultado da análise funcional no AgBase (ANEXO 3); Tabela funcional dos processos biológicos e proteínas mais relevantes (ANEXO 4).

ANEXO 1

Lista das proteínas humanas e bacterianas em Cancro Oral que se encontram no OralCard.

Uniprot	Name	Organism	Age Group	Gender	Regulation	Study	PTM
O00748	Cocaine esterase	Homo sapiens	Adult		-		-
O14558	Heat shock protein beta-6	Homo sapiens	Adult		-		-
O14713	Integrin beta-1-binding protein 1	Homo sapiens	Adults		+		-
O14735	CDP-diacylglycerol--inositol 3-phosphatidyltransferase	Homo sapiens	29-75		+		-
O14746	Telomerase reverse transcriptase	Homo sapiens	42-81 / 59,1 - 65,25 / 26-77	M/F	+		-
O14786	Neuropilin-1	Homo sapiens	-		+		-
O14904	Protein Wnt-9 ^a	Homo sapiens	-		+	proteomics	-
O15263	Beta-defensin 4 ^a	Homo sapiens	-		-		-
O15392	Baculoviral IAP repeat-containing protein 5	Homo sapiens	-	M/F	+		-
O15496	Group 10 secretory phospholipase A2	Homo sapiens	Adults		+	proteomics	-
O43175	D-3-phosphoglycerate dehydrogenase	Homo sapiens	Adult		-		-
O43240	Kallikrein-10	Homo sapiens	Adults		+		-
O43933	Peroxisome biogenesis factor 1	Homo sapiens	Adult		-		-
O60259	Kallikrein-8	Homo sapiens	Adults		+		-
O60437	Periplakin	Homo sapiens	Adult		-		-
O75368	SH3 domain-binding glutamic acid-rich-lik e protein	Homo sapiens	Adult		-		-
O75369	Filamin-B	Homo sapiens	Adult		+		-
O75832	26S proteasome non-ATPase regulatory subunit 10	Homo sapiens	-		+		-
O95863	Zinc finger protein SNAI1	Homo sapiens	Adults	M/F	-		-

P00338	L-lactate dehydrogenase A chain	Homo sapiens	Adult			+		-
P00352	Retinal dehydrogenase 1	Homo sapiens	Adult			-		-
P00558	Phosphoglycerate kinase 1	Homo sapiens	Adult			-		-
P00915	Carbonic anhydrase 1	Homo sapiens	Adult			-		-
P00918	Carbonic anhydrase 2	Homo sapiens	Adult			+		-
P01037	Cystatin-SN	Homo sapiens	-			-	proteomics	-
P01040	Cystatin-A	Homo sapiens	-			-	proteomics	-
P01100	Proto-oncogene c-Fos	Homo sapiens	-			+		-
P01137	Transforming growth factor beta-1	Homo sapiens	-			+		-
P01584	Interleukin-1 beta	Homo sapiens	Adult / 32-79			+		-
P01859	Ig gamma-2 chain C region	Homo sapiens	Adult			+		-
P01876	Ig alpha-1 chain C region	Homo sapiens	Adult			-		-
P01877	Ig alpha-2 chain C region	Homo sapiens	Adult			-		-
P01903	HLA class II histocompatibility antigen, DR alpha chain	Homo sapiens	Adult			+		-
P01911	HLA class II histocompatibility antigen, DRB1-15 beta chain	Homo sapiens	Adult			+		-
P02100	Hemoglobin subunit epsilon	Homo sapiens	Adult			-		-
P02462	Collagen alpha-1(IV) chain	Homo sapiens	-			-		-
P02511	Alpha-crystallin B chain	Homo sapiens	Adult			+		-
P02533	Keratin, type I cytoskeletal 14	Homo sapiens	Adult			+		-
P02538	Keratin, type II cytoskeletal 6A	Homo sapiens	Adult			+		-
P02545	Prelamin-A/C	Homo sapiens		56,1	M/F	+	proteomics	-
P02647	Apolipoprotein A-I	Homo sapiens	Adult			-		-
P02671	Fibrinogen alpha chain	Homo sapiens	Adult			+		-
P02675	Fibrinogen beta chain	Homo sapiens	Adult			+		-
P02741	C-reactive protein	Homo sapiens	Adult			+		-
P02749	Beta-2-glycoprotein 1	Homo sapiens	Adult			-		-

P02751	Fibronectin	Homo sapiens	Adult			+		-
P02763	Alpha-1-acid glycoprotein 1	Homo sapiens	Adult			-		-
P02766	Transthyretin	Homo sapiens	Adult			-		-
P02787	Serotransferrin	Homo sapiens	Adult			+		-
P02790	Hemopexin	Homo sapiens	Adult			-		-
P04040	Catalase	Homo sapiens	Adult			-		-
P04083	Annexin A1	Homo sapiens	Adult			-	proteomics	-
P04179	Superoxide dismutase [Mn], mitochondrial	Homo sapiens	Adult			+		-
P04259	Keratin, type II cytoskeletal 6B	Homo sapiens	Adult			+		-
P04792	Heat shock protein beta-1	Homo sapiens	Adult			+		-
P05091	Aldehyde dehydrogenase, mitochondrial	Homo sapiens	Adult			-		-
P05109	Protein S100-A8	Homo sapiens	Adult			+	proteomics	-
P05161	Ubiquitin-like protein ISG15	Homo sapiens	Adult			+		-
P05164	Myeloperoxidase	Homo sapiens	Adult			-		-
P05231	Interleukin-6	Homo sapiens		49,3		+		-
P05412	Transcription factor AP-1	Homo sapiens	-			+		-
P05452	Tetranectin	Homo sapiens	-			-	proteomics	-
P05787	Keratin, type II cytoskeletal 8	Homo sapiens	-			+		-
P05976	Myosin light chain 1/3, skeletal muscle isoform	Homo sapiens	Adult			+		-
P06576	ATP synthase subunit beta, mitochondrial	Homo sapiens	Adult			-		-
P06702	Protein S100-A9	Homo sapiens	Adult			+		-
P06703	Protein S100-A6	Homo sapiens	Adult			-		-
P06732	Creatine kinase M-type	Homo sapiens	Adult			+		-
P06733	Alpha-enolase	Homo sapiens	Adult			-		-
P06744	Glucose-6-phosphate isomerase	Homo sapiens		56,1	M/F	+	proteomics	-
P06756	Integrin alpha-V	Homo sapiens	-			+		-
P06870	Kallikrein-1	Homo sapiens	Adult			-		-

P07305	Histone H1.0	Homo sapiens	54,0 - 46,9	20:44 (F/M)	+	proteomics	-
P07339	Cathepsin D	Homo sapiens	56,1	M/F	+	proteomics	-
P07355	Annexin A2	Homo sapiens	Adult		-		-
P07476	Involucrin	Homo sapiens	Adult		-		-
P07737	Profilin-1	Homo sapiens	Adult		-		-
P07951	Tropomyosin beta chain	Homo sapiens	Adult		+		-
P07996	Thrombospondin-1	Homo sapiens	Adult		+		-
P08107	Heat shock 70 kDa protein 1A/1B	Homo sapiens	Adult		+	proteomics	-
P08238	Heat shock protein HSP 90-beta	Homo sapiens	-		+	proteomics	-
P08253	72 kDa type IV collagenase	Homo sapiens	-		+		-
P08311	Cathepsin G	Homo sapiens	Adult		-		-
P08670	Vimentin	Homo sapiens	Adult		+		-
P08727	Keratin, type I cytoskeletal 19	Homo sapiens	Adult		-		-
P08758	Annexin A5	Homo sapiens	-		-	proteomics	-
P08779	Keratin, type I cytoskeletal 16	Homo sapiens	Adult		+		-
P09104	Gamma-enolase	Homo sapiens	Adult		-		-
P09211	Glutathione S-transferase P	Homo sapiens	Adult		+		-
P09382	Galectin-1	Homo sapiens	Adult		+		-
P09486	SPARC	Homo sapiens	-		+		-
P09525	Annexin A4	Homo sapiens	-		-	proteomics	-
P09758	Tumor-associated calcium signal transducer 2	Homo sapiens	Adult		-		-
P09874	Poly [ADP-ribose] polymerase 1	Homo sapiens	29?92	M/F	+		-
P10145	Interleukin-8	Homo sapiens	Adult / 32-79 / 49,3		+		-
P10147	C-C motif chemokine 3	Homo sapiens	Adults		-	proteomics	-
P10415	Apoptosis regulator Bcl-2	Homo sapiens	-		-		-
P10451	Osteopontin	Homo sapiens	-		+		-

P10599	Thioredoxin	Homo sapiens	Adult		-		-
P10809	60 kDa heat shock protein, mitochondrial	Homo sapiens	Adult		+		-
P11021	78 kDa glucose-regulated protein	Homo sapiens	Adult		+		-
P11166	Solute carrier family 2, facilitated glucose transporter member 1	Homo sapiens	Adult		+		-
P11802	Cyclin-dependent kinase 4	Homo sapiens	-		+		-
P12429	Annexin A3	Homo sapiens	Adult		+	proteomics	-
P12532	Creatine kinase U-type, mitochondrial	Homo sapiens	Adult		-		-
P12814	Alpha-actinin-1	Homo sapiens	Adult		+		-
P12830	Cadherin-1	Homo sapiens	-		-		-
P13164	Interferon-induced transmembrane protein 1	Homo sapiens	Adult		+		-
P13500	C-C motif chemokine 2	Homo sapiens	-		-		-
P13501	C-C motif chemokine 5	Homo sapiens	Adults		-	proteomics	-
P13645	Keratin, type I cytoskeletal 10	Homo sapiens	Adults		-		-
P13646	Keratin, type I cytoskeletal 13	Homo sapiens	Adult / Adults		-		-
P13674	Prolyl 4-hydroxylase subunit alpha-1	Homo sapiens	Adult		+		-
P13928	Annexin A8	Homo sapiens	-		+	proteomics	-
P13929	Beta-enolase	Homo sapiens	Adult		-		-
P13987	CD59 glycoprotein	Homo sapiens	Adult		-		-
P14317	Hematopoietic lineage cell-specific protein	Homo sapiens	Adult		-		-
P14618	Pyruvate kinase PKM	Homo sapiens	Adult		+		-
P14625	Endoplasmic	Homo sapiens		56,1 M/F	+	proteomics	-
P14923	Junction plakoglobin	Homo sapiens	Adult		-		-
P15311	Ezrin	Homo sapiens	-		+		-
P15531	Nucleoside diphosphate kinase A	Homo sapiens	Adult		+		-
P16070	CD44 antigen	Homo sapiens	-		+		-
P16144	Integrin beta-4	Homo sapiens	Adult		+		-

P16403	Histone H1.2	Homo sapiens	Adult			-		-
P17661	Desmin	Homo sapiens		56,1	M/F	+	proteomics	-
P17693	HLA class I histocompatibility antigen, alpha chain G	Homo sapiens	Adult			+		-
P18669	Phosphoglycerate mutase 1	Homo sapiens	Adult			+		-
P18827	Syndecan-1	Homo sapiens	Adults			-		-
P19012	Keratin, type I cytoskeletal 15	Homo sapiens	Adult			-		-
P19013	Keratin, type II cytoskeletal 4	Homo sapiens	Adult / Adults			-		-
P19105	Myosin regulatory light chain 12A	Homo sapiens	Adult			-		-
P19235	Erythropoietin receptor	Homo sapiens		50,9	17F & 239M	+		-
P19971	Thymidine phosphorylase	Homo sapiens	Adult			+		-
P20061	Transcobalamin-1	Homo sapiens	Adult			-		-
P20160	Azurocidin	Homo sapiens	Adult			-		-
P20309	Muscarinic acetylcholine receptor M3	Homo sapiens	Adult			-		-
P20591	Interferon-induced GTP-binding protein Mx 1	Homo sapiens	Adult			+		-
P21333	Filamin-A	Homo sapiens	Adult			+		-
P21397	Amine oxidase [flavin-containing] A	Homo sapiens	Adult			-		-
P21673	Diamine acetyltransferase 1	Homo sapiens	Adult			+		-
P22223	Cadherin-3	Homo sapiens	-			+		-
P23219	Prostaglandin G/H synthase 1	Homo sapiens	-			-		-
P23528	Cofilin-1	Homo sapiens		56,1	M/F	+	proteomics	-
P23677	Inositol-trisphosphate 3-kinase A	Homo sapiens	-			+		-
P24385	G1/S-specific cyclin-D1	Homo sapiens	-			+		-
P24821	Tenascin	Homo sapiens	-		M/F	+	proteomics	-
P25815	Protein S100-P	Homo sapiens	Adult			-		-
P26038	Moesin	Homo sapiens	Adult			-		-
P28562	Dual specificity protein phosphatase 1	Homo sapiens	Adult			-		-

P28838	Cytosol aminopeptidase	Homo sapiens	Adult			+		-
P29034	Protein S100-A2	Homo sapiens	Adult			+	proteomics	-
P29373	Cellular retinoic acid-binding protein 2	Homo sapiens	Adult			+		-
P29508	Serpin B3	Homo sapiens	Adult			+		-
P29590	Protein PML	Homo sapiens	Adult			+		-
P30038	Delta-1-pyrroline-5-carboxylate dehydrogenase, mitochondrial	Homo sapiens	Adult			-		-
P30043	Flavin reductase (NADPH)	Homo sapiens	Adult			+		-
P30048	Thioredoxin-dependent peroxide reductase, mitochondrial	Homo sapiens	Adult			+		-
P30536	Translocator protein	Homo sapiens	Adult			-		-
P30838	Aldehyde dehydrogenase, dimeric NADP-preferring	Homo sapiens	Adult			-		-
P31151	Protein S100-A7	Homo sapiens	-			+	proteomics	-
P31749	RAC-alpha serine/threonine-protein kinase	Homo sapiens		47,6	M/F	+		-
P31947	14-3-3 protein sigma	Homo sapiens	Adult			+	proteomics	-
P31949	Protein S100-A11	Homo sapiens	Adult			-	proteomics	-
P32119	Peroxiredoxin-2	Homo sapiens	Adult			-		-
P32455	Interferon-induced guanylate-binding protein 1	Homo sapiens	Adult			+		-
P32456	Interferon-induced guanylate-binding protein 2	Homo sapiens	Adult			+		-
P34931	Heat shock 70 kDa protein 1-like	Homo sapiens	Adult			-		-
P35222	Catenin beta-1	Homo sapiens	-			-		-
P35226	Polycomb complex protein BMI-1	Homo sapiens	-		M/F	-		-
P35579	Myosin-9	Homo sapiens		56,1	M/F	+	proteomics	-
P35749	Myosin-11	Homo sapiens	Adult			+		-
P36952	Serpin B5	Homo sapiens	-			+		-
P37837	Transaldolase	Homo sapiens	Adult			-		-
P40394	Alcohol dehydrogenase class 4 mu/sigma chain	Homo sapiens	Adult			-		-
P40763	Signal transducer and activator of transcription 3	Homo sapiens	Adults		M/F	+		-

P42224	Signal transducer and activator of transcription 1-alpha/beta	Homo sapiens	Adult			+		-
P42771	Cyclin-dependent kinase inhibitor 2A, isoforms 1/2/3	Homo sapiens	-		M/F	-		-
P46013	Antigen KI-67	Homo sapiens	-			+		-
P46781	40S ribosomal protein S9	Homo sapiens	56,1	M/F		+	proteomics	-
P47929	Galectin-7	Homo sapiens	Adult			+		-
P48061	Stromal cell-derived factor 1	Homo sapiens	Adults / 23 - 78			+	proteomics	-
P48594	Serpin B4	Homo sapiens	Adult			-		-
P48668	Keratin, type II cytoskeletal 6C	Homo sapiens	Adult			+		-
P48681	Nestin	Homo sapiens	29?93	M/F		+		-
P49189	4-trimethylaminobutyraldehyde dehydrogenase	Homo sapiens	Adult			-		-
P49763	Placenta growth factor	Homo sapiens	-			+		-
P49862	Kallikrein-7	Homo sapiens	Adults			+		-
P49913	Cathelicidin antimicrobial peptide	Homo sapiens	Adult			-		-
P50452	Serpin B8	Homo sapiens	Adult			-		-
P50454	Serpin H1	Homo sapiens	Adult			+		-
P51149	Ras-related protein Rab-7a	Homo sapiens	Adult			-		-
P51648	Fatty aldehyde dehydrogenase	Homo sapiens	Adult			-		-
P51888	Prolargin	Homo sapiens	Adult			-		-
P52209	6-phosphogluconate dehydrogenase, decarboxylating	Homo sapiens	Adult			-		-
P52566	Rho GDP-dissociation inhibitor 2	Homo sapiens	Adult			+		-
P54368	Ornithine decarboxylase antizyme 1	Homo sapiens	Adult			+		-
P54652	Heat shock-related 70 kDa protein 2	Homo sapiens	Adult			+		-
P55287	Cadherin-11	Homo sapiens	-	M/F		-	proteomics	-
P58107	Epiplakin	Homo sapiens	Adult			+		-
P59665	Neutrophil defensin 1	Homo sapiens	-			+	proteomics	-
P59666	Neutrophil defensin 3	Homo sapiens	-			+	proteomics	-

P60174	Triosephosphate isomerase	Homo sapiens	56,1	M/F	+	proteomics	-
P61073	C-X-C chemokine receptor type 4	Homo sapiens	24 – 78		+		-
P61289	Proteasome activator complex subunit 3	Homo sapiens	-		+	proteomics	-
P61626	Lysozyme C	Homo sapiens	Adult		-		-
P61769	Beta-2-microglobulin	Homo sapiens	Adult		-		-
P62158	Calmodulin	Homo sapiens	Adult		-		-
P62805	Histone H4	Homo sapiens	-		-	proteomics	-
P62834	Ras-related protein Rap-1A	Homo sapiens	56,1	M/F	+	proteomics	-
P62937	Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase A	Homo sapiens	Adult		-		-
P67936	Tropomyosin alpha-4 chain	Homo sapiens	Adult		+		-
P68871	Hemoglobin subunit beta	Homo sapiens	Adult		+		-
P69905	Hemoglobin subunit alfa	Homo sapiens	Adult		+		-
P80098	C-C motif chemokine 7	Homo sapiens	Adults		-	proteomics	-
P80511	Protein S100-A12	Homo sapiens	Adult		-		-
P80723	Brain acid soluble protein 1	Homo sapiens	Adult		-		-
P81534	Beta-defensin 103	Homo sapiens	Adults		+		-
Q00534	Cyclin-dependent kinase 6	Homo sapiens	-		+		-
Q01449	Myosin regulatory light chain 2, atrial isoform	Homo sapiens	Adult		-		-
Q01469	Fatty acid-binding protein, epidermal	Homo sapiens	Adult		+		-
Q03518	Antigen peptide transporter 1	Homo sapiens	Adult		+		-
Q04695	Keratin, type I cytoskeletal 17	Homo sapiens	Adult		+		-
Q06323	Proteasome activator complex subunit 1	Homo sapiens	-		+	proteomics	-
Q07065	Cytoskeleton-associated protein 4	Homo sapiens	Adult		+		-
Q08188	Protein-glutamine gamma-glutamyltransferase E	Homo sapiens	Adult	M/F	-	proteomics	-
Q08380	Galectin-3-binding protein	Homo sapiens	Adult		+		-
Q12860	Contactin-1	Homo sapiens	-		+		-
Q13112	Chromatin assembly factor 1 subunit B	Homo sapiens	29?92	M/F	+		-

Q13233	Mitogen-activated protein kinase kinase kinase 1	Homo sapiens	-	M/F	+		-
Q13751	Laminin subunit beta-3	Homo sapiens	Adult		+		-
Q13753	Laminin subunit gamma-2	Homo sapiens	Adult		+		-
Q14166	Tubulin--tyrosine ligase-like protein 12	Homo sapiens	Adult		-		-
Q14512	Fibroblast growth factor-binding protein 1	Homo sapiens	64,2	M/F	+		-
Q14532	Keratin, type I cuticular Ha2	Homo sapiens	Adult		-		-
Q14563	Semaphorin-3 ^a	Homo sapiens	-		-		-
Q15063	Periostin	Homo sapiens	-	M/F	+	proteomics	-
Q15582	Transforming growth factor-beta-induced protein ig-h3	Homo sapiens	Adult		+		-
Q15672	Twist-related protein 1	Homo sapiens	47,6	M/F	+		-
Q16627	C-C motif chemokine 14	Homo sapiens	Adults		-	proteomics	-
Q16658	Fascin	Homo sapiens	Adult		+		-
Q16663	C-C motif chemokine 15	Homo sapiens	Adults		-	proteomics	-
Q16665	Hypoxia-inducible factor 1-alpha	Homo sapiens	34781	M(85%)	+		-
Q53HE2	Triosephosphate isomerase	Homo sapiens	Adult		-		-
Q5T4B6	HCG1780554	Homo sapiens	Adult		-		-
Q5TZZ9	Annexin	Homo sapiens	Adult		-		-
Q69YH5	Cell division cycle-associated protein 2	Homo sapiens	-		+		-
Q6ZNH5	Zinc finger protein 497	Homo sapiens	Adult		+		-
Q8NBJ4	Golgi membrane protein 1	Homo sapiens	Adult		-		-
Q8NEB9	Phosphatidylinositol 3-kinase catalytic subunit type3	Homo sapiens	-		+		-
Q8TBR0	PDE4DIP protein	Homo sapiens	Adult		-		-
Q8TE27	Polymeric immunoglobulin receptor	Homo sapiens	Adult		-		-
Q8TF72	Protein Shroom3	Homo sapiens	Adult		-		-
Q92597	Protein NDRG1	Homo sapiens	Adult		+		-
Q92817	Envoplakin	Homo sapiens	Adult		-		-

Q96AG4	Leucine-rich repeat-containing protein 59	Homo sapiens	Adult		+		-
Q96BU1	S100P-binding protein	Homo sapiens	Adult		+		-
Q96C19	EF-hand domain-containing protein D2	Homo sapiens	Adult		+		-
Q96DR5	BPI fold-containing family A member 2	Homo sapiens	Adult		-		-
Q96FQ6	Protein S100-A16	Homo sapiens	Adult		-	proteomics	-
Q99417	C-Myc-binding protein	Homo sapiens	-	M/F	-		-
Q99616	C-C motif chemokine 13	Homo sapiens	Adults		-	proteomics	-
Q9BQE5	Apolipoprotein L2	Homo sapiens	Adult		+		-
Q9H014	Cyclin D1	Homo sapiens	-		+		-
Q9HCY8	Protein S100-A14	Homo sapiens	Adult		-		-
Q9NRD5	PRKCA-binding protein	Homo sapiens	-		+	proteomics	hypermethylation
Q9NYS0	NF-kappa-B inhibitor-interacting Ras-like protein 1	Homo sapiens	Adult		-		-
Q9NZW4	Dentin sialophosphoprotein	Homo sapiens	-		+		-
Q9UBG3	Cornulin	Homo sapiens	Adult		-		-
Q9UDX3	SEC14-like protein 4	Homo sapiens	Adult		-		-
Q9UHB6	LIM domain and actin-binding protein 1	Homo sapiens	Adult		+		-
Q9UHK0	Nuclear fragile X mental retardation-interacting protein 1	Homo sapiens	Adult		+		-
Q9UJ72	Annexin A10	Homo sapiens	-		+		-
Q9UL46	Proteasome activator complex subunit 2	Homo sapiens	-		+	proteomics	-
Q9UPN9	E3 ubiquitin-protein ligase TRIM33	Homo sapiens	Adult		-		-
Q9Y337	Kallikrein-5	Homo sapiens	Adults		+		-
Q9Y4L1	Hypoxia up-regulated protein 1	Homo sapiens	Adult		+		-
Q9Y6F9	Protein Wnt-6	Homo sapiens	Adults		-	proteomics	-

Uniprot	Name	Organism	Age Group	Gender	Regulation	Study	PTM
B2RKJ1	NAD-specific glutamate dehydrogenase	Porphyromonas gingivalis	-		-	Proteomics	-
B5E709	Isoleucine--tRNA ligase	Streptococcus pneumoniae serotype.	-		-	Proteomics	-
E0U0L7	Cell cycle protein GpsB	Bacillus subtilis subsp. spizizenii	-		-	Proteomics	-
O05031	Putative uncharacterized protein HI_0737 ...	Haemophilus influenzae	-		-	Proteomics	-
O32414	Ketol-acid reductoisomerase	Phaeospirillum molischianum	-		-	Proteomics	-
O32797	Formate acetyltransferase	Lactococcus lactis subsp. lactis	-		-	Proteomics	-
O51323	Pyruvate kinase	Borrelia burgdorferi	-		-	Proteomics	-
O51560	30S ribosomal protein S4	Borrelia burgdorferi	-		-	Proteomics	-
O83491	Glucose-6-phosphate 1-dehydrogenase	Treponema pallidum	-		-	Proteomics	-
O83668	Fructose-bisphosphate aldolase	Treponema pallidum	-		-	Proteomics	-
O83735	(Dimethylallyl)adenosine tRNA methylthiot...	Treponema pallidum	-		-	Proteomics	-
P04391	Ornithine carbamoyltransferase chain I ...	Escherichia coli (strain K12)	-		-	Proteomics	-
P07117	Sodium/proline symporter	Escherichia coli (strain K12)	-		-	Proteomics	-
P0A3B7	Elongation factor Ts	Streptococcus pneumoniae serotype	-		-	Proteomics	-
P0A471	50S ribosomal protein L7/L12	Streptococcus pneumoniae serotype	-		-	Proteomics	-
P0A4J6	Superoxide dismutase [Mn]	Streptococcus pneumoniae serotype	-		-	Proteomics	-
P0A4S1	Fructose-bisphosphate aldolase	Streptococcus pneumoniae serotype	-		-	Proteomics	-
P0AG44	50S ribosomal protein L17	Escherichia coli (strain K12)	-		-	Proteomics	-
P0C934	NAD-specific glutamate dehydrogenase	Porphyromonas gingivalis	-		-	Proteomics	-
P0CB61	Isoleucine--tRNA ligase	Streptococcus pneumoniae serotype	-		-	Proteomics	-
P0CI74	Cell cycle protein GpsB	Bacillus subtilis (strain 168)	-		-	Proteomics	-
P10324	Outer membrane protein P6	Haemophilus influenzae	-		-	Proteomics	-
P10725	Alanine racemase 1	Bacillus subtilis (strain 168)	-		-	Proteomics	-
P11961	Dihydropolypyllysine-residue acetyltransfe...	Geobacillus stearothermophilus	-		-	Proteomics	-
P13375	Glucose-6-phosphate isomerase A	Geobacillus stearothermophilus	-		-	Proteomics	-

P18005	UPF0380 protein YubP	Escherichia coli (strain K12)	-	-	Proteomics	-
P19255	Probable glycerol uptake facilitator prot...	Streptomyces coelicolor	-	-	Proteomics	-
P19537	Fructose-bisphosphate aldolase	Corynebacterium glutamicum.	-	-	Proteomics	-
P22848	5'-nucleotidase	Vibrio parahaemolyticus serotype	-	-	Proteomics	-
P30763	50S ribosomal protein L7/L12	Mycobacterium leprae	-	-	Proteomics	-
P33165	Elongation factor Tu	Bacteroides fragilis	-	-	Proteomics	-
P35645	Fimbrial protein EcpA	Eikenella corrodens	-	-	Proteomics	-
P35755	Iron-utilization periplasmic protein	Haemophilus influenzae	-	-	Proteomics	-
P39119	Citrate synthase 1	Bacillus subtilis (strain 168)	-	-	Proteomics	-
P40174	Elongation factor Tu-1	Streptomyces coelicolor	-	-	Proteomics	-
P43923	Phosphoenolpyruvate carboxykinase [ATP] ...	Haemophilus influenzae	-	-	Proteomics	-
P43925	Elongation factor G	Haemophilus influenzae	-	-	Proteomics	-
P43926	Elongation factor Tu	Haemophilus influenzae	-	-	Proteomics	-
P44348	50S ribosomal protein L7/L12	Haemophilus influenzae	-	-	Proteomics	-
P44592	UPF0092 membrane protein HI_0241	Haemophilus influenzae	-	-	Proteomics	-
P45168	Spermidine/putrescine-binding periplasmic...	Haemophilus influenzae	-	-	Proteomics	-
P45312	Probable iron-sulfur cluster repair prote...	Haemophilus influenzae	-	-	Proteomics	-
P45338	Glucose-specific phosphotransferase enzym...	Haemophilus influenzae	-	-	Proteomics	-
P45595	Phosphoenolpyruvate-protein phosphotransf...	Streptococcus mutans serotype c...	-	-	Proteomics	-
P46448	Formate dehydrogenase major subunit	Haemophilus influenzae	-	-	Proteomics	-
P47304	Ribose-phosphate pyrophosphokinase	Mycoplasma genitalium	-	-	Proteomics	-
P47547	Chaperone protein DnaK	Mycoplasma genitalium	-	-	Proteomics	-
P57216	Electron transport complex protein RnfD ...	Buchnera aphidicola subsp. Acyr.	-	-	Proteomics	-
P57447	Valine--tRNA ligase	Buchnera aphidicola subsp. Acyr.	-	-	Proteomics	-
P57939	Elongation factor Tu-A	Pasteurella multocida	-	-	Proteomics	-
P59159	2,3-bisphosphoglycerate-dependent phospho...	Bifidobacterium longum	-	-	Proteomics	-
P59179	30S ribosomal protein S3	Bifidobacterium longum	-	-	Proteomics	-

P59213	Maltose/maltodextrin-binding protein	Streptococcus pneumoniae serotype	-	-	Proteomics	-
P63413	Acetate kinase	Streptococcus pneumoniae serotype	-	-	Proteomics	-
P65121	Translation initiation factor IF-1	Streptococcus pneumoniae serotype	-	-	Proteomics	-
P66050	50S ribosomal protein L10	Streptococcus pneumoniae serotype	-	-	Proteomics	-
P66392	30S ribosomal protein S13	Streptococcus pneumoniae serotype	-	-	Proteomics	-
P66942	Triosephosphate isomerase	Streptococcus pneumoniae serotype	-	-	Proteomics	-
P72483	Elongation factor Tu	Streptococcus mutans serotype	-	-	Proteomics	-
P94316	NAD-specific glutamate dehydrogenase	Bacteroides fragilis .	-	-	Proteomics	-
Q03475	Lateral flagellar hook-associated protein...	Vibrio parahaemolyticus serotype	-	-	Proteomics	-
Q06282	Glycerophosphoryl diester phosphodiester...	Haemophilus influenzae	-	-	Proteomics	-
Q07564	Fimbrial protein EcpC	Eikenella corrodens	-	-	Proteomics	-
Q07637	Pyruvate kinase	Lactococcus lactis subsp. lactis	-	-	Proteomics	-
Q10504	Pyruvate dehydrogenase E1 component	Mycobacterium tuberculosis	-	-	Proteomics	-
Q50592	UPF0053 protein Rv1842c/MT1890	Mycobacterium tuberculosis	-	-	Proteomics	-
Q51886	Outer membrane protein P6	Pasteurella multocida	-	-	Proteomics	-
Q54800	UTP--glucose-1-phosphate uridylyltransfer...	Streptococcus pneumoniae	-	-	Proteomics	-
Q54970	Pyruvate oxidase	Streptococcus pneumoniae serotype	-	-	Proteomics	-
Q58628	Pyruvate carboxylase subunit B	Methanocaldococcus jannaschii	-	-	Proteomics	-
Q58758	Uncharacterized protein MJ1363	Methanocaldococcus jannaschii	-	-	Proteomics	-
Q59677	Methylmalonyl-CoA mutase large subunit ...	Porphyromonas gingivalis	-	-	Proteomics	-
Q59906	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase ...	Streptococcus dysgalactiae subsp.	-	-	Proteomics	-
Q60295	Putative type-1 restriction enzyme MjaXP ...	Methanocaldococcus jannaschii	-	-	Proteomics	-
Q64MV4	Phosphoenolpyruvate carboxykinase [ATP] ...	Bacteroides fragilis	-	-	Proteomics	-
Q64NK6	Elongation factor G	Bacteroides fragilis	-	-	Proteomics	-
Q64NM2	30S ribosomal protein S8	Bacteroides fragilis	-	-	Proteomics	-
Q6ACY9	Elongation factor G	Leifsonia xyli subsp. xyli	-	-	Proteomics	-
Q6ACZ0	Elongation factor Tu	Leifsonia xyli subsp. xyli	-	-	Proteomics	-

Q6AGS4	Phosphoenolpyruvate carboxykinase [GTP] ...	Leifsonia xyli subsp. xyli	-	-	Proteomics	-
Q6MKR6	Glutamate--tRNA ligase	Bdellovibrio bacteriovorus	-	-	Proteomics	-
Q6MPQ2	Enolase	Bdellovibrio bacteriovorus	-	-	Proteomics	-
Q7MT32	5'-nucleotidase SurE	Porphyromonas gingivalis	-	-	Proteomics	-
Q7MTL1	Elongation factor G	Porphyromonas gingivalis	-	-	Proteomics	-
Q7MTL6	50S ribosomal protein L2	Porphyromonas gingivalis	-	-	Proteomics	-
Q7MTM5	50S ribosomal protein L5	Porphyromonas gingivalis	-	-	Proteomics	-
Q7MTV8	Enolase	Porphyromonas gingivalis	-	-	Proteomics	-
Q7MX31	50S ribosomal protein L11	Porphyromonas gingivalis	-	-	Proteomics	-
Q87FK5	Ribulokinase	Vibrio parahaemolyticus serotype	-	-	Proteomics	-
Q892A7	Adenine phosphoribosyltransferase	Clostridium tetani	-	-	Proteomics	-
Q897K4	Glutamate-1-semialdehyde 2,1-aminomutase ...	Clostridium tetani	-	-	Proteomics	-
Q898R2	Triosephosphate isomerase	Clostridium tetani	-	-	Proteomics	-
Q8DS35	30S ribosomal protein S13	Streptococcus mutans serotype	-	-	Proteomics	-
Q8DS57	Acetate kinase	Streptococcus mutans serotype	-	-	Proteomics	-
Q8G406	50S ribosomal protein L5	Bifidobacterium longum	-	-	Proteomics	-
Q8G5B6	Elongation factor G	Bifidobacterium longum	-	-	Proteomics	-
Q8GND4	Ornithine carbamoyltransferase, catabolic...	Streptococcus gordonii	-	-	Proteomics	-
Q8NRS1	Enolase	Corynebacterium glutamicum	-	-	Proteomics	-
Q8R7T8	Elongation factor Tu-B	Thermoanaerobacter tengcongensis	-	-	Proteomics	-
Q8R7U6	DNA-directed RNA polymerase subunit beta ...	Thermoanaerobacter tengcongensis.	-	-	Proteomics	-
Q97EG8	50S ribosomal protein L7/L12	Clostridium acetobutylicum	-	-	Proteomics	-
Q97EH5	Elongation factor Tu	Clostridium acetobutylicum	-	-	Proteomics	-
Q97HJ4	Acyl carrier protein homolog	Clostridium acetobutylicum	-	-	Proteomics	-
Q97NA4	Arginine deiminase	Streptococcus pneumoniae serotype	-	-	Proteomics	-
Q97NG0	Glucose-6-phosphate isomerase	Streptococcus pneumoniae serotype	-	-	Proteomics	-
Q97QE2	Aspartate carbamoyltransferase	Streptococcus pneumoniae serotype	-	-	Proteomics	-

Q97QS2	Enolase	Streptococcus pneumoniae serotype	-		-	Proteomics	-
Q97R82	Ribosome-recycling factor	Streptococcus pneumoniae serotype	-		-	Proteomics	-
Q97S31	5-methyltetrahydropteroyltriglutamate--ho...	Streptococcus pneumoniae serotype	-		-	Proteomics	-
Q97SD7	Ketol-acid reductoisomerase	Streptococcus pneumoniae serotype	-		-	Proteomics	-
Q97SU1	Adenylate kinase	Streptococcus pneumoniae serotype	-		-	Proteomics	-
Q98F84	Protein TolB	Rhizobium loti (strain MAFF303099)	-		-	Proteomics	-
Q98LX5	Glutamine--fructose-6-phosphate aminotran...	Rhizobium loti (strain MAFF303099)	-		-	Proteomics	-
Q99QM0	Elongation factor Tu	Caulobacter crescentus	-		-	Proteomics	-
Q9A8U1	50S ribosomal protein L5	Caulobacter crescentus	-		-	Proteomics	-
Q9AE24	Transcriptional regulatory protein RprY ...	Bacteroides fragilis	-		-	Proteomics	-
Q9CCB5	Iron-dependent repressor IdeR	Mycobacterium leprae	-		-	Proteomics	-
Q9CDG1	Elongation factor G	Lactococcus lactis subsp. lactis	-		-	Proteomics	-
Q9CDM8	30S ribosomal protein S6	Lactococcus lactis subsp. lactis	-		-	Proteomics	-
Q9CEI0	Elongation factor Tu	Lactococcus lactis subsp. lactis	-		-	Proteomics	-
Q9CEN7	DNA-directed RNA polymerase subunit beta'...	Lactococcus lactis subsp. lactis	-		-	Proteomics	-
Q9CF41	Ribose operon repressor	Lactococcus lactis subsp. lactis	-		-	Proteomics	-
Q9CF53	Uronate isomerase	Lactococcus lactis subsp. lactis	-		-	Proteomics	-
Q9CG42	50S ribosomal protein L7/L12	Lactococcus lactis subsp. lactis	-		-	Proteomics	-
Q9CIM0	2,3-bisphosphoglycerate-dependent phospho...	Lactococcus lactis subsp. lactis	-		-	Proteomics	-
Q9CIW1	Phosphoglycerate kinase	Lactococcus lactis subsp. lactis	-		-	Proteomics	-
Q9CK90	50S ribosomal protein L7/L12	Pasteurella multocida	-		-	Proteomics	-
Q9CK94	DNA-binding protein HU	Pasteurella multocida	-		-	Proteomics	-
Q9CMI8	UPF0265 protein PM0836	Pasteurella multocida	-		-	Proteomics	-
Q9F2Q3	Enolase 1	Streptomyces coelicolor	-		-	Proteomics	-
Q9K714	Phosphoglycerate kinase	Bacillus halodurans	-		-	Proteomics	-
Q9KGE3	50S ribosomal protein L7/L12	Bacillus halodurans	-		-	Proteomics	-
Q9PHN5	Ketol-acid reductoisomerase	Campylobacter jejuni subsp. jejuni	-		-	Proteomics	-

Q9PN94	5-methyltetrahydropteroyltriglutamate--ho...	Campylobacter jejuni subsp. jejuni	-		-	Proteomics	-
Q9S169	Beta-lactamase SHV-24	Escherichia coli	-		-	Proteomics	-
Q9Z9K2	50S ribosomal protein L5	Bacillus halodurans	-		-	Proteomics	-

ANEXO 2

Lista de proteínas humanas que participam no Interactoma humano-microbiano em cancro oral

Código	Nome
P31947	14-3-3 protein sigma
P20309	Muscarinic acetylcholine receptor M3
P12814	Alpha-actinin-1
P31749	RAC-alpha serine/threonine-protein kinase
P30838	Aldehyde dehydrogenase, dimeric NADP-preferring
P51648	Fatty aldehyde dehydrogenase
P49189	4-trimethylaminobutyraldehyde dehydrogenase
P05091	Aldehyde dehydrogenase, mitochondrial
P02647	Apolipoprotein A-I
Q9BQE5	Apolipoprotein L2
P06576	ATP synthase subunit beta, mitochondrial
P55287	Cadherin-11
P12830	Cadherin-1
Q13112	Chromatin assembly factor 1 subunit B
P07339	Cathepsin D
P24385	G1/S-specific cyclin-D1
P42771	Cyclin-dependent kinase inhibitor 2A, isoforms 1/2/3
P16070	CD44 antigen
Q69YH5	Cell division cycle-associated protein 2
P35222	Catenin beta-1
P17661	Desmin
Q9NZW4	Dentin sialophosphoprotein
P14625	Endoplasmic
P58107	Epiplakin
P19235	Erythropoietin receptor
Q92817	Envoplakin
P15311	Ezrin
P02751	Fibronectin
P21333	Filamin-A
O75369	Filamin-B
Q16658	Fascin
P06744	Glucose-6-phosphate isomerase
P32456	Interferon-induced guanylate-binding protein 2
P62805	Histone H4
P02790	Hemopexin
Q16665	Hypoxia-inducible factor 1-alpha
P34931	Heat shock 70 kDa protein 1-like
P08238	Heat shock protein HSP 90-beta
Q9Y4L1	Hypoxia up-regulated protein 1
P01584	Interleukin-1 beta
P07476	Involucrin
P05161	Ubiquitin-like protein ISG15
P06756	Integrin alpha-V
P16144	Integrin beta-4
P05412	Transcription factor AP-1
P13646	Keratin, type I cytoskeletal 13

P02533	Keratin, type I cytoskeletal 14
P19012	Keratin, type I cytoskeletal 15
P08779	Keratin, type I cytoskeletal 16
Q04695	Keratin, type I cytoskeletal 17
P08727	Keratin, type I cytoskeletal 19
Q14532	Keratin, type I cuticular Ha2
P05787	Keratin, type II cytoskeletal 8
P06732	Creatine kinase M-type
P46013	Antigen KI-67
P14618	Pyruvate kinase PKM
Q13753	Laminin subunit gamma-2
Q9UHB6	LIM domain and actin-binding protein 1
P02545	Prelamin-A/C
Q13233	Mitogen-activated protein kinase kinase kinase 1
P08253	72 kDa type IV collagenase
P26038	Moesin
P20591	Interferon-induced GTP-binding protein Mx1
P35749	Myosin-11
P35579	Myosin-9
Q92597	Protein NDRG1
P48681	Nestin
O14786	Neuropilin-1
Q9UHK0	Nuclear fragile X mental retardation-interacting protein 1
P09874	Poly [ADP-ribose] polymerase 1
O60437	Periplakin
P05164	Myeloperoxidase
O43933	Peroxisome biogenesis factor 1
P00558	Phosphoglycerate kinase 1
P14923	Junction plakoglobin
P29590	Protein PML
Q15063	Periostin
Q06323	Proteasome activator complex subunit 1
P61289	Proteasome activator complex subunit 3
P62834	Ras-related protein Rap-1A
Q9UDX3	SEC14-like protein 4
Q14563	Semaphorin-3 ^a
Q8TF72	Protein Shroom3
P29508	Serpin B3
P48594	Serpin B4
P42224	Signal transducer and activator of transcription 1-alpha/beta
P40763	Signal transducer and activator of transcription 3
Q03518	Antigen peptide transporter 1
P24821	Tenascin
O14746	Telomerase reverse transcriptase
Q08188	Protein-glutamine gamma-glutamyltransferase E
P67936	Tropomyosin alpha-4 chain
P02787	Serotransferrin
P07996	Thrombospondin-1
P02766	Transthyretin
Q14166	Tubulin--tyrosine ligase-like protein 12
O14904	Protein Wnt-9 ^a

Q6ZNH5 Zinc finger protein 497

ANEXO 3

Lista dos processos biológicos *parent* e dos respectivos *childs*

<i>Parent</i>	<i>Childs</i>
reproduction	meiosis
cell morphogenesis	canonical Wnt signaling pathway involved in positive regulation of epithelial to mesenchymal transition
	cell morphogenesis involved in differentiation
	cell morphogenesis
	epithelial to mesenchymal transition
	epithelial cell morphogenesis
immune system process	immune system process
	toll-like receptor 2 signaling pathway
	toll-like receptor 9 signaling pathway
	type I interferon signaling pathway
	innate immune response
	toll-like receptor signaling pathway
	toll-like receptor 5 signaling pathway
	toll-like receptor TLR6:TLR2 signaling pathway
	toll-like receptor 4 signaling pathway
	toll-like receptor 3 signaling pathway
	regulation of type I interferon-mediated signaling pathway
	positive regulation of interferon-gamma-mediated signaling pathway
	toll-like receptor 10 signaling pathway
	toll-like receptor TLR1:TLR2 signaling pathway
	immune response
	defense response to virus
	hemopoiesis
	regulation of interferon-gamma-mediated signaling pathway
	MyD88-independent toll-like receptor signaling pathway
	TRIF-dependent toll-like receptor signaling pathway
	positive regulation of response to interferon-gamma
	regulation of immune response
	MyD88-dependent toll-like receptor signaling pathway
	response to type I interferon
	positive regulation of defense response to virus by host
activation-induced cell death of T cells	
DNA metabolic process	DNA replication
	positive regulation of DNA replication
	DNA repair
translation	negative regulation of translation in response to oxidative

	stress
	translation
	positive regulation of translation
	regulation of translation
cellular protein modification process	regulation of ubiquitin-protein ligase activity involved in mitotic cell cycle
	positive regulation of ubiquitin-protein ligase activity involved in mitotic cell cycle
	negative regulation of ubiquitin-protein ligase activity involved in mitotic cell cycle
	protein ubiquitination
protein targeting	positive regulation of NF-kappaB import into nucleus
transport	engulfment of apoptotic cell
	apoptotic cell clearance
	positive regulation of NF-kappaB import into nucleus
	regulation of apoptotic cell clearance
nucleocytoplasmic transport	positive regulation of NF-kappaB import into nucleus
response to stress	cellular response to DNA damage stimulus
	intrinsic apoptotic signaling pathway in response to DNA damage
	toll-like receptor 2 signaling pathway
	toll-like receptor 9 signaling pathway
	negative regulation of translation in response to oxidative stress
	inflammatory response
	defense response
	type I interferon signaling pathway
	innate immune response
	response to hypoxia
	intrinsic apoptotic signaling pathway in response to endoplasmic reticulum stress
	negative regulation of intrinsic apoptotic signaling pathway in response to oxidative stress
	cellular senescence
	toll-like receptor signaling pathway
	toll-like receptor 5 signaling pathway
	toll-like receptor TLR6:TLR2 signaling pathway
	toll-like receptor 4 signaling pathway
	wound healing
	negative regulation of inflammatory response
	wound healing involved in inflammatory response
	response to stress
	toll-like receptor 3 signaling pathway
	regulation of type I interferon-mediated signaling pathway
	positive regulation of interferon-gamma-mediated signaling

	pathway
	defense response to fungus
	toll-like receptor 10 signaling pathway
	intrinsic apoptotic signaling pathway in response to DNA damage by p53 class mediator
	cellular response to hypoxia
	negative regulation of intrinsic apoptotic signaling pathway in response to DNA damage by p53 class mediator
	response to salt stress
	DNA damage response, detection of DNA damage
	toll-like receptor TLR1:TLR2 signaling pathway
	response to wounding
	defense response to virus
	intrinsic apoptotic signaling pathway in response to oxidative stress
	DNA damage response, signal transduction by p53 class mediator resulting in cell cycle arrest
	regulation of interferon-gamma-mediated signaling pathway
	DNA damage response, signal transduction by p53 class mediator
	negative regulation of DNA damage response, signal transduction by p53 class mediator
	MyD88-independent toll-like receptor signaling pathway
	response to oxidative stress
	TRIF-dependent toll-like receptor signaling pathway
	stress-activated MAPK cascade
	positive regulation of response to interferon-gamma
	positive regulation of cellular senescence
	MyD88-dependent toll-like receptor signaling pathway
	mitotic G1 DNA damage checkpoint
	defense response to bacterium
	DNA repair
	response to type I interferon
	positive regulation of defense response to virus by host
mitochondrion organization	apoptotic mitochondrial changes
cytoskeleton organization	intermediate filament cytoskeleton organization
	intermediate filament organization
	intermediate filament bundle assembly
cell cycle	negative regulation of mitotic cell cycle
	regulation of cell cycle
	re-entry into mitotic cell cycle
	negative regulation of cell cycle arrest
	regulation of ubiquitin-protein ligase activity involved in mitotic cell cycle
	positive regulation of ubiquitin-protein ligase activity

	involved in mitotic cell cycle
	mitotic nuclear envelope disassembly
	mitotic cell cycle
	negative regulation of ubiquitin-protein ligase activity
	involved in mitotic cell cycle
	cell cycle
	regulation of cell cycle checkpoint
	meiosis
	cell cycle arrest
	DNA damage response, signal transduction by p53 class mediator resulting in cell cycle arrest
	cell cycle checkpoint
	mitotic G1 DNA damage checkpoint
	positive regulation of mitosis
	mitotic cell cycle checkpoint
	mitotic nuclear envelope reassembly
mitosis	mitosis
	positive regulation of mitosis
cell adhesion	positive regulation of cell-substrate adhesion
	negative regulation of cell-cell adhesion
	negative regulation of cell-matrix adhesion
	cell-matrix adhesion
	negative regulation of cell adhesion involved in substrate-bound cell migration
	cell-cell adhesion
	negative regulation of cell adhesion
	positive regulation of cell adhesion
	endothelial cell-cell adhesion
signal transduction	canonical Wnt signaling pathway involved in negative regulation of apoptotic process
	canonical Wnt signaling pathway involved in positive regulation of epithelial to mesenchymal transition
	tumor necrosis factor-mediated signaling pathway
	negative regulation of apoptotic signaling pathway
	vascular endothelial growth factor receptor signaling pathway
	intrinsic apoptotic signaling pathway in response to DNA damage
	toll-like receptor 2 signaling pathway
	toll-like receptor 9 signaling pathway
	type I interferon signaling pathway
	intrinsic apoptotic signaling pathway
	intrinsic apoptotic signaling pathway in response to endoplasmic reticulum stress
	negative regulation of intrinsic apoptotic signaling pathway in response to oxidative stress

negative regulation of extrinsic apoptotic signaling pathway
toll-like receptor signaling pathway
toll-like receptor 5 signaling pathway
toll-like receptor TLR6:TLR2 signaling pathway
toll-like receptor 4 signaling pathway
positive regulation of canonical Wnt signaling pathway
Wnt signaling pathway
extrinsic apoptotic signaling pathway in absence of ligand
toll-like receptor 3 signaling pathway
regulation of type I interferon-mediated signaling pathway
positive regulation of interferon-gamma-mediated signaling pathway
toll-like receptor 10 signaling pathway
intrinsic apoptotic signaling pathway in response to DNA damage by p53 class mediator
negative regulation of canonical Wnt signaling pathway
negative regulation of intrinsic apoptotic signaling pathway in response to DNA damage by p53 class mediator
negative regulation of tumor necrosis factor-mediated signaling pathway
toll-like receptor TLR1:TLR2 signaling pathway
intrinsic apoptotic signaling pathway in response to oxidative stress
DNA damage response, signal transduction by p53 class mediator resulting in cell cycle arrest
regulation of interferon-gamma-mediated signaling pathway
DNA damage response, signal transduction by p53 class mediator
negative regulation of DNA damage response, signal transduction by p53 class mediator
MyD88-independent toll-like receptor signaling pathway
positive regulation of extrinsic apoptotic signaling pathway
negative regulation of Wnt signaling pathway
TRIF-dependent toll-like receptor signaling pathway
positive regulation of extrinsic apoptotic signaling pathway via death domain receptors
stress-activated MAPK cascade
negative regulation of I-kappaB kinase/NF-kappaB signaling
positive regulation of NF-kappaB import into nucleus
positive regulation of I-kappaB kinase/NF-kappaB signaling
regulation of I-kappaB kinase/NF-kappaB signaling
MyD88-dependent toll-like receptor signaling pathway
vascular endothelial growth factor signaling pathway
canonical Wnt signaling pathway involved in positive regulation of cardiac outflow tract cell proliferation

	canonical Wnt signaling pathway
	positive regulation of apoptotic signaling pathway
	positive regulation of vascular endothelial growth factor receptor signaling pathway
	extrinsic apoptotic signaling pathway
	negative regulation of extrinsic apoptotic signaling pathway in absence of ligand
	intrinsic apoptotic signaling pathway by p53 class mediator
cell-cell signaling	cell-cell signaling
aging	cellular senescence
	positive regulation of cell aging
	aging
	positive regulation of cellular senescence
	cell aging
biological_process	alcohol metabolic process
	negative regulation of NF-kappaB transcription factor activity
	response to yeast
	angiogenesis
	viral entry into host cell
	endothelial cell chemotaxis
	canonical Wnt signaling pathway involved in negative regulation of apoptotic process
	positive regulation of endothelial cell apoptotic process
	canonical Wnt signaling pathway involved in positive regulation of epithelial to mesenchymal transition
	positive regulation of cell-substrate adhesion
	tumor necrosis factor-mediated signaling pathway
	negative regulation of apoptotic signaling pathway
	positive regulation of NF-kappaB transcription factor activity
	face morphogenesis
	negative regulation of cell-cell adhesion
	negative regulation of transcription, DNA-templated
	morphogenesis of embryonic epithelium
	cellular response to DNA damage stimulus
	intrinsic apoptotic signaling pathway in response to DNA damage
	positive regulation of cell proliferation
	negative regulation of epithelial cell differentiation
	blood vessel development
	toll-like receptor 2 signaling pathway
	negative regulation of mitotic cell cycle
	regulation of cell cycle
	re-entry into mitotic cell cycle

toll-like receptor 9 signaling pathway
cell fate determination
negative regulation of translation in response to oxidative stress
type I interferon signaling pathway
positive regulation of apoptotic process
innate immune response
response to mechanical stimulus
negative regulation of apoptotic process
viral process
response to hypoxia
intrinsic apoptotic signaling pathway in response to endoplasmic reticulum stress
regulation of cell differentiation
cell migration involved in sprouting angiogenesis
positive regulation of epithelial cell migration
negative regulation of intrinsic apoptotic signaling pathway in response to oxidative stress
negative regulation of cell adhesion molecule production
negative regulation of cell cycle arrest
ethanol catabolic process
cellular senescence
regulation of sequence-specific DNA binding transcription factor activity
regulation of angiogenesis
negative regulation of blood vessel endothelial cell migration
DNA replication
regulation of cell proliferation
positive regulation of cell aging
response to bacterium
negative regulation of extrinsic apoptotic signaling pathway
response to X-ray
negative regulation of endothelial cell proliferation
toll-like receptor signaling pathway
toll-like receptor 5 signaling pathway
ethanol oxidation
toll-like receptor TLR6:TLR2 signaling pathway
regulation of ubiquitin-protein ligase activity involved in mitotic cell cycle
positive regulation of ubiquitin-protein ligase activity involved in mitotic cell cycle
toll-like receptor 4 signaling pathway
response to UV
positive regulation of canonical Wnt signaling pathway
mitotic nuclear envelope disassembly

positive regulation of endothelial cell differentiation
negative regulation of ubiquitin-protein ligase activity involved in mitotic cell cycle
negative regulation of inflammatory response
positive regulation vascular endothelial growth factor production
trachea formation
toll-like receptor 3 signaling pathway
negative regulation of epithelial cell migration
vasculature development
negative regulation of angiogenesis
regulation of type I interferon-mediated signaling pathway
response to virus
endothelial tip cell fate specification
positive regulation of interferon-gamma-mediated signaling pathway
cell morphogenesis involved in differentiation
regulation of transcription, DNA-templated
defense response to fungus
toll-like receptor 10 signaling pathway
regulation of apoptotic process
vascular endothelial growth factor production
endothelial tube morphogenesis
regulation of cell junction assembly
execution phase of apoptosis
negative regulation of mesenchymal cell apoptotic process
tongue morphogenesis
intrinsic apoptotic signaling pathway in response to DNA damage by p53 class mediator
endodermal cell fate commitment
positive regulation of DNA replication
negative regulation of cell-matrix adhesion
cellular response to hypoxia
trachea morphogenesis
cell fate commitment
negative regulation of canonical Wnt signaling pathway
extracellular matrix disassembly
cell fate specification
negative regulation of intrinsic apoptotic signaling pathway in response to DNA damage by p53 class mediator
response to salt stress
cellular response to tumor necrosis factor
DNA damage response, detection of DNA damage
regulation of cell cycle checkpoint

meiosis
patterning of blood vessels
negative regulation of cell death
morphogenesis of an epithelium
negative regulation of tumor necrosis factor-mediated signaling pathway
toll-like receptor TLR1:TLR2 signaling pathway
positive regulation of cell division
response to organic substance
negative regulation of cell adhesion involved in substrate-bound cell migration
blood vessel maturation
immune response
positive regulation of cell adhesion molecule production
engulfment of apoptotic cell
defense response to virus
transcription, DNA-templated
blood vessel endothelial cell migration
negative regulation by host of viral transcription
response to other organism
xenobiotic metabolic process
apoptotic cell clearance
cell cycle arrest
hemopoiesis
intrinsic apoptotic signaling pathway in response to oxidative stress
DNA damage response, signal transduction by p53 class mediator resulting in cell cycle arrest
positive regulation of type I interferon production
positive regulation of cell migration
negative regulation of DNA binding
positive regulation of transcription, DNA-templated
positive regulation of endothelial cell proliferation
regulation of epithelial cell differentiation
negative regulation of cysteine-type endopeptidase activity involved in apoptotic process
negative regulation of cell adhesion
response to UV-A
regulation of interferon-gamma-mediated signaling pathway
positive regulation of interferon-gamma production
DNA damage response, signal transduction by p53 class mediator
negative regulation of DNA damage response, signal transduction by p53 class mediator
MyD88-independent toll-like receptor signaling pathway

positive regulation of extrinsic apoptotic signaling pathway
cell cycle checkpoint
response to radiation
negative regulation of cell differentiation
positive regulation of blood vessel endothelial cell migration
negative regulation of Wnt signaling pathway
positive regulation of translation
negative regulation of cell growth
TRIF-dependent toll-like receptor signaling pathway
positive regulation of extrinsic apoptotic signaling pathway via death domain receptors
stress-activated MAPK cascade
negative regulation of I-kappaB kinase/NF-kappaB signaling
regulation of translation
positive regulation of NF-kappaB import into nucleus
positive regulation of I-kappaB kinase/NF-kappaB signaling
positive regulation of tumor necrosis factor biosynthetic process
positive regulation of response to interferon-gamma
regulation of I-kappaB kinase/NF-kappaB signaling
regulation of immune response
positive regulation of cellular senescence
MyD88-dependent toll-like receptor signaling pathway
vascular endothelial growth factor signaling pathway
intermediate filament cytoskeleton organization
positive regulation of cell adhesion
canonical Wnt signaling pathway involved in positive regulation of cardiac outflow tract cell proliferation
intermediate filament organization
epithelial to mesenchymal transition
mitotic G1 DNA damage checkpoint
response to toxic substance
positive regulation of endothelial cell migration
positive regulation of apoptotic signaling pathway
positive regulation of apoptotic process involved in mammary gland involution
regulation of interferon-gamma production
defense response to bacterium
DNA repair
positive regulation of vascular endothelial growth factor receptor signaling pathway
negative regulation of cell proliferation

	endothelial cell migration
	negative regulation of thymocyte apoptotic process
	cellular response to cell-matrix adhesion
	response to type I interferon
	positive regulation of mitosis
	cell aging
	positive regulation of cell differentiation
	mitotic cell cycle checkpoint
	negative regulation of extrinsic apoptotic signaling pathway in absence of ligand
	regulation of cell migration
	positive regulation of vasculogenesis
	epithelial cell morphogenesis
	positive regulation of defense response to virus by host
	regulation of apoptotic cell clearance
	mitotic nuclear envelope reassembly
	blood vessel morphogenesis
	negative regulation of epithelial cell proliferation
	response to ethanol
	positive regulation of angiogenesis
	intermediate filament bundle assembly
	response to UV-B
cell death	canonical Wnt signaling pathway involved in negative regulation of apoptotic process
	positive regulation of endothelial cell apoptotic process
	negative regulation of apoptotic signaling pathway
	intrinsic apoptotic signaling pathway in response to DNA damage
	positive regulation of apoptotic process
	intrinsic apoptotic signaling pathway
	negative regulation of apoptotic process
	intrinsic apoptotic signaling pathway in response to endoplasmic reticulum stress
	negative regulation of intrinsic apoptotic signaling pathway in response to oxidative stress
	negative regulation of extrinsic apoptotic signaling pathway
	apoptotic mitochondrial changes
	extrinsic apoptotic signaling pathway in absence of ligand
	cell death
	regulation of apoptotic process
	execution phase of apoptosis
	negative regulation of mesenchymal cell apoptotic process
	intrinsic apoptotic signaling pathway in response to DNA damage by p53 class mediator
	negative regulation of intrinsic apoptotic signaling pathway in response to DNA damage by p53 class mediator

	negative regulation of cell death
	intrinsic apoptotic signaling pathway in response to oxidative stress
	negative regulation of cysteine-type endopeptidase activity involved in apoptotic process
	programmed cell death
	positive regulation of extrinsic apoptotic signaling pathway
	positive regulation of extrinsic apoptotic signaling pathway via death domain receptors
	apoptotic process
	positive regulation of apoptotic signaling pathway
	positive regulation of apoptotic process involved in mammary gland involution
	negative regulation of thymocyte apoptotic process
	extrinsic apoptotic signaling pathway
	negative regulation of extrinsic apoptotic signaling pathway in absence of ligand
	intrinsic apoptotic signaling pathway by p53 class mediator
	activation-induced cell death of T cells
cell proliferation	cell proliferation
	positive regulation of cell proliferation
	regulation of cell proliferation
	negative regulation of endothelial cell proliferation
	endothelial cell proliferation
	positive regulation of endothelial cell proliferation
	canonical Wnt signaling pathway involved in positive regulation of cardiac outflow tract cell proliferation
	negative regulation of cell proliferation
	negative regulation of epithelial cell proliferation
catabolic process	ethanol catabolic process
biosynthetic process	negative regulation of NF-kappaB transcription factor activity
	positive regulation of NF-kappaB transcription factor activity
	negative regulation of transcription, DNA-templated
	negative regulation of translation in response to oxidative stress
	regulation of sequence-specific DNA binding transcription factor activity
	DNA replication
	regulation of transcription, DNA-templated
	positive regulation of DNA replication
	transcription, DNA-templated
	negative regulation by host of viral transcription
	positive regulation of transcription, DNA-templated
	positive regulation of translation

	regulation of translation
	positive regulation of tumor necrosis factor biosynthetic process
embryo development	morphogenesis of embryonic epithelium
	endodermal cell fate commitment
vesicle-mediated transport	engulfment of apoptotic cell
	apoptotic cell clearance
	regulation of apoptotic cell clearance
developmental maturation	blood vessel maturation
cellular component assembly	regulation of cell junction assembly
	intermediate filament bundle assembly
cell differentiation	canonical Wnt signaling pathway involved in positive regulation of epithelial to mesenchymal transition
	negative regulation of epithelial cell differentiation
	cell fate determination
	cell differentiation
	regulation of cell differentiation
	positive regulation of endothelial cell differentiation
	epithelial cell differentiation
	endothelial tip cell fate specification
	cell morphogenesis involved in differentiation
	endodermal cell fate commitment
	cell fate commitment
	cell fate specification
	fat cell differentiation
	regulation of epithelial cell differentiation
	negative regulation of cell differentiation
	epithelial to mesenchymal transition
	positive regulation of apoptotic process involved in mammary gland involution
	positive regulation of cell differentiation
	positive regulation of vasculogenesis
	epithelial cell morphogenesis
extracellular matrix organization	extracellular matrix disassembly
	extracellular matrix organization
cell junction organization	regulation of cell junction assembly
cellular nitrogen compound metabolic process	negative regulation of NF-kappaB transcription factor activity
	positive regulation of NF-kappaB transcription factor activity
	negative regulation of transcription, DNA-templated
	regulation of sequence-specific DNA binding transcription factor activity
	regulation of transcription, DNA-templated
	positive regulation of DNA replication

	transcription, DNA-templated
	negative regulation by host of viral transcription
	positive regulation of transcription, DNA-templated
growth	negative regulation of cell growth
locomotion	viral entry into host cell
	endothelial cell chemotaxis
	positive regulation of epithelial cell migration
	negative regulation of blood vessel endothelial cell migration
	negative regulation of epithelial cell migration
	positive regulation of cell migration
	positive regulation of blood vessel endothelial cell migration
	positive regulation of endothelial cell migration
	regulation of cell migration
homeostatic process	activation-induced cell death of T cells
small molecule metabolic process	alcohol metabolic process
	ethanol catabolic process
	ethanol oxidation
symbiosis, encompassing mutualism through parasitism	viral entry into host cell
	viral process
	negative regulation by host of viral transcription
anatomical structure formation involved in morphogenesis	angiogenesis
	cell migration involved in sprouting angiogenesis
	regulation of angiogenesis
	trachea formation
	negative regulation of angiogenesis
	endothelial tip cell fate specification
	endodermal cell fate commitment
	patterning of blood vessels
	positive regulation of angiogenesis
anatomical structure development	angiogenesis
	canonical Wnt signaling pathway involved in positive regulation of epithelial to mesenchymal transition
	face morphogenesis
	morphogenesis of embryonic epithelium
	negative regulation of epithelial cell differentiation
	blood vessel development
	cell migration involved in sprouting angiogenesis
	regulation of angiogenesis
	positive regulation of endothelial cell differentiation
	epithelial cell differentiation
	trachea formation

	vasculature development
	negative regulation of angiogenesis
	endothelial tip cell fate specification
	cell morphogenesis involved in differentiation
	endothelial tube morphogenesis
	tongue morphogenesis
	endodermal cell fate commitment
	trachea morphogenesis
	patterning of blood vessels
	morphogenesis of an epithelium
	blood vessel maturation
	hemopoiesis
	regulation of epithelial cell differentiation
	canonical Wnt signaling pathway involved in positive regulation of cardiac outflow tract cell proliferation
	epithelial to mesenchymal transition
	positive regulation of apoptotic process involved in mammary gland involution
	positive regulation of vasculogenesis
	epithelial cell morphogenesis
	blood vessel morphogenesis
	positive regulation of angiogenesis
cell motility	endothelial cell chemotaxis
	cell migration involved in sprouting angiogenesis
	positive regulation of epithelial cell migration
	negative regulation of blood vessel endothelial cell migration
	negative regulation of epithelial cell migration
	negative regulation of cell adhesion involved in substrate-bound cell migration
	cell migration
	blood vessel endothelial cell migration
	positive regulation of cell migration
	positive regulation of blood vessel endothelial cell migration
	positive regulation of endothelial cell migration
	endothelial cell migration
	regulation of cell migration
cell division	positive regulation of cell division
	positive regulation of mitosis
membrane organization	mitotic nuclear envelope disassembly
	engulfment of apoptotic cell
	mitotic nuclear envelope reassembly

ANEXO 4

Tabela funcional dos processos biológicos e proteínas mais relevantes

Código	P31749	P12830	P24385	P42771	P35222	Q16665	P01584	P06756	P05412	Q13233	Q14786	P29590	P61289	P42224	P07996
Nome	RAC-alpha	Cadherin	G1/S-spec	Cyclin-de	Catenin b	Hypoxia-i	Interleuki	Integrin a	Transcript	Mitogen-a	Neuropili	Protein P	Proteasom	Signal tra	Thrombos
Regulação	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Biomarcador					X	X		X					X		
GO															
angiogenesis						+		+	+		+				
innate immune response	+				+				+	+		+			
negative regulation of apoptotic process	+					+			+				+		+
negative regulation of cell proliferation				+	+		+		+			+			
negative regulation of cysteine-type endopeptidase activity involved in apoptotic process	+														+
positive regulation of cell proliferation			+		+			+	+					+	
positive regulation of transcription, DNA-templated		+			+	+	+		+					+	
regulation of transcription, DNA-templated					+	+			+			+		+	
response to hypoxia						+						+			+
transcription, DNA-templated					+	+			+			+		+	
viral process								+				+	+	+	
cell cycle			+	+									+		
apoptotic process	+	+			+		+			+		+	+	+	
cell differentiation	+				+	+					+				
cell proliferation	+				+										
extracellular matrix organization								+							+