



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

*Gladiston William Lobo Rodrigues*

**Análise proteômica de Abscesso apical  
agudo comparado à periodontite apical  
sintomática e periodontite apical  
assintomática**

Araçatuba –SP

2023

*Gladiston William Lobo Rodrigues*

**Análise proteômica de Abscesso apical agudo comparado à periodontite apical sintomática e periodontite apical assintomática**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista “Júlio Mesquita Filho” – UNESP, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciência Odontológica, Área de concentração em Endodontia.

**Orientador:** Prof. Assoc. Rogério de Castilho Jacinto

Catálogo na Publicação (CIP)  
Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação – FOA / UNESP

R696a Rodrigues, Gladiston William Lobo.  
Análise proteômica de Abscesso apical agudo comparado à periodontite apical sintomática e periodontite apical assintomática / Gladiston William Lobo Rodrigues. - Araçatuba, 2023  
49 f. : il. ; tab.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia de Araçatuba  
Orientador: Prof. Rogério de Castilho Jacinto

1. Endodontia 2. Abscesso periapical 3. Interações hospedeiro-patógeno 4. Proteômica I. T.

Black D24  
CDD 617.67

Claudio Hideo Matsumoto CRB-8/5550

## AGRADECIMENTOS

### *A família:*

Aos meus pais, **Marilena Lobo Rodrigues** e **Eugênio Cristina Rodrigues**, que me incentivaram nos momentos mais difíceis e compreenderam a minha ausência enquanto eu me dedicava à realização deste sonho.

A minha namorada, **Rayara Nogueira de Freitas**, que sempre esteve ao meu lado e pelo apoio incondicional. A gratidão talvez seja a palavra que mais se aproxime do que eu sinto por você. Sempre depois de uma tempestade surge um arco íris, muito obrigado por ser o arco íris da minha vida.

### *Aos amigos:*

Agradeço aos amigos que fiz durante toda minha jornada de vida, estes que mesmo distantes sempre estiveram ao meu lado em boas vibrações.

Agradeço a todos colegas de Pós-Graduação e aqueles que se tornaram amigos, e que acompanharam de perto o desenvolvimento deste trabalho e de alguma maneira colaboraram.

### *Aos mestres:*

Agradeço a todos os professores do departamento de endodontia e em especial aqueles que já se aposentaram ou que já partiram para o outro plano espiritual, graças a velha guarda da endodontia a universidade é reconhecida pela excelência. Aos professores atuais agradeço pelos bons ensinamentos e conselhos.

Agradeço aos professores **Gustavo Sivieri de Araújo** e **João Eduardo Gomes Filho** por terem feito parte de um momento tão importante que foi o meu exame geral de qualificação de mestrado. É um prazer poder contar com vocês fico extremamente agradecido pelas considerações e dicas cedidas para melhoria deste trabalho.

Agradeço aos queridos professores **Juliano Pelim Pessan** e **Giselle Priscilla Cruz Abi Rached** membros da banca de defesa de mestrado, fiquei extremamente agradecido pelas considerações e dicas cedidas por vocês e por terem transformado esse momento de arguição agradável.

### *Em especial:*

## AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador e professor **Rogério de Castilho Jacinto** expresso minha sincera gratidão pelo apoio contínuo ao meu estudo, por sua paciência, motivação e imenso conhecimento. Não tenho palavras para expressa tamanha admiração que tenho pelo senhor. Apresentei muito receio de início de não me adaptar ao nosso grupo de pesquisa e um medo maior ainda de como seria o desenvolvimento dos nossos trabalhos. Hoje eu só tenho a dizer que não trocaria de orientador e grupo de pesquisa por nada só consigo expressa gratidão.

*Aos funcionários:*

Agradeço toda a equipe do Departamento de Odontologia Restauradora, em especial a todos funcionários da universidade que fazem o possível para o desenvolvimento da universidade, deste o porteiro ao diretor da faculdade e especialmente ao Jorge e Carlos, por tornarem os momentos agradáveis e por serem grandes amigos dentro do departamento

**Resumo**

Rodrigues, GWL. **Análise proteômica de Abscesso apical agudo comparado à periodontite apical sintomática e periodontite apical assintomática**. 2023. 49f [Dissertação](Mestrado em Ciência). Araçatuba: UNESP – Univ. Estadual Paulista.

Analisar quantitativa e qualitativamente o perfil proteômico dos abscessos apicais agudos (AAA) em comparação com a periodontite apical sintomática (PAS) e assintomática (PAA) e correlacionar a expressão de proteínas humanas detectadas com suas principais funções biológicas. As amostras foram obtidas de vinte e sete pacientes divididos em três grupos (n = 9/grupo) diagnosticados com AAA, PAS e PAA. As amostras foram analisadas por cromatografia líquida de fase reversa acoplada a espectrometria de massas. A análise proteômica quantitativa sem marcação foi realizada pelo software Protein Lynx Global Service. As diferenças na expressão da proteína foram calculadas usando o teste t ( $p < 0,05$ ). No total, 248 proteínas humanas foram identificadas em todas as amostras. Proteínas encontradas exclusivamente no grupo AAA foram associadas principalmente com a resposta imunoinflamatória e resposta ao estresse oxidativo. Na análise quantitativa, 17 proteínas foram super-reguladas ( $p < 0,05$ ) no grupo AAA, incluindo alfa-1-glicoproteína ácida, hemopexina, cadeia gama do fibrinogênio e imunoglobulina. Além disso, 61 proteínas foram reguladas negativamente ( $p < 0,05$ ), incluindo catepsina G, moesina, gelsolina e transcetolase. A maioria das proteínas era da matriz extracelular, citoplasma e núcleo. Conclui-se que as proteínas comuns entre os grupos foram associadas principalmente com a resposta imune em ambos os níveis de expressão. As proteínas reguladas positivamente pertenciam principalmente às proteínas de fase aguda, enquanto as proteínas reguladas negativamente estavam associadas à regulação e reparo do DNA/RNA e à função estrutural.

**Palavras-chaves:** Endodontia, abscesso periapical, interações hospedeiro-patógeno, proteômica.

# **Abstract**

Rodrigues, GWL. **Proteomic analysis of acute apical abscess compared to symptomatic apical periodontitis and asymptomatic apical periodontitis.** 2023. 49f [Dissertação](Mestrado em Ciência). Araçatuba: UNESP – Univ. Estadual Paulista.

To quantitatively and qualitatively analyze the proteomic profile of acute apical abscesses (AAA) compared with chronic apical periodontitis (CAP) and to correlate the expression of detected human proteins with their main biological functions. Samples were obtained from twenty-seven patients divided into three groups (n = 9/group) diagnosed with AAA, PAS, and PAA. Samples were analyzed by reverse-phase liquid chromatography coupled with mass spectrometry. Quantitative unmarked proteomic analysis was performed using the Protein Lynx Global Service software. Differences in protein expression were calculated using the t-test ( $p < 0.05$ ). In total, 248 human proteins were identified from all samples. Proteins exclusively found in the AAA group were mainly associated with the immunoinflammatory response and oxidative stress response. In the quantitative analysis, 17 proteins were up-regulated ( $p < 0.05$ ) in the AAA group, including alpha-1-acid glycoprotein, hemopexin, fibrinogen gamma chain, and immunoglobulin. Additionally, 61 proteins were down-regulated ( $p < 0.05$ ), comprising cathepsin G, moesin, gelsolin, and transketolase. Most of the proteins were from the extracellular matrix, cytoplasm, and nucleus. The common proteins between the groups were mainly associated with the immune response at both expression levels. Up-regulated proteins mostly belonged to the acute-phase proteins, while the down-regulated proteins were associated with DNA/RNA regulation and repair, and structural function. The host response is directly related to the development of apical abscesses.

**Keywords:** Endodontics, periapical abscess, host-pathogen interactions, proteomics.

# **Lista de Figuras**

## Lista de Figuras

**Figura 1:** Diagrama de Venn das proteínas identificadas em todos os grupos e a relação entre eles..... 30

**Figura 2:** Função biológica (banco de dados Uniprot) de proteínas identificadas exclusivamente nos grupos de abscesso apical agudo, periodontite apical sintomática e assintomática(%).....31

# **Lista de Tabelas**

## Lista de Tabelas

- Tabela 1:** Proteínas humanas distintas identificadas exclusivamente no grupo de abscesso apical agudo..... 32
- Tabela 2:** Descrição e classificação da função biológica de proteínas humanas diferencialmente expressas, comparando o grupo de abscesso apical agudo e os grupos de periodontite apical sintomática e periodontite apical assintomática. ....34
- Tabela 3:** Quantidade (porcentagem) de proteínas exclusivas e comuns (super-regulada e subregulada) classificadas em cada grupo, de acordo com suas funções biológicas. .... 38
- Tabela suplementar 1:** Descrição de todas as proteínas identificadas neste estudo em cada grupo (n = 248) ..... 38

## SUMÁRIO

<i>Resumo</i> .....	15
<i>Introdução</i> .....	16
<i>Material e Métodos</i> .....	17
<i>Resultados</i> .....	20
<i>Discussão</i> .....	21
<i>Conclusão</i> .....	24
<i>Referências</i> .....	25
<i>Legendas das figuras</i> .....	29
<i>Figura 1</i> .....	30
<i>Figura 2</i> .....	31
<i>Tabela 1</i> .....	32
<i>Tabela 2</i> .....	34
<i>Tabela 3</i> .....	38
<i>Tabela suplementar 1</i> .....	38
<i>Anexo – Normas periódico Clinical Oral Investigations</i> .....	45

# MANUSCRITO\*

\*De acordo com as normas do periódico Clinical Oral Investigations

<https://www.springer.com/journal/784/submission-guidelines>

**Resumo**

**Objetivo** Analisar quantitativa e qualitativamente o perfil proteômico dos abscessos apicais agudos (AAA) em comparação com a periodontite apical sintomática (PAS), assintomática (PAA) e correlacionar a expressão de proteínas humanas detectadas com suas principais funções biológicas.

**Materiais e Métodos** As amostras foram obtidas de vinte e sete pacientes divididos em três grupos (n = 9/grupo) diagnosticados com AAA, com PAS e PAA. As amostras foram analisadas por cromatografia líquida de fase reversa acoplada a espectrometria de massas. A análise proteômica quantitativa sem marcação foi realizada pelo software Protein Lynx Global Service. As diferenças na expressão da proteína foram calculadas usando o teste t (p < 0,05).

**Resultados** No total, 248 proteínas humanas foram identificadas em todas as amostras. Proteínas encontradas exclusivamente no grupo AAA foram associadas principalmente com a resposta imunoinflamatória e resposta ao estresse oxidativo. Na análise quantitativa, 17 proteínas foram super-reguladas (p < 0,05) no grupo AAA, incluindo alfa-1-glicoproteína ácida, hemopexina, cadeia gama do fibrinogênio e imunoglobulina. Além disso, 61 proteínas foram reguladas negativamente (p < 0,05), incluindo catepsina G, moesina, gelsolina e transcetolase. A maioria das proteínas era da matriz extracelular, citoplasma e núcleo.

**Conclusões** As proteínas comuns entre os grupos foram associadas principalmente com a resposta imune em ambos os níveis de expressão. As proteínas reguladas positivamente pertenciam principalmente às proteínas de fase aguda, enquanto as proteínas reguladas negativamente estavam associadas à regulação e reparo do DNA/RNA e à função estrutural.

**Relevância clínica** A resposta do hospedeiro está diretamente relacionada ao desenvolvimento de abscessos apicais. Assim, entender o comportamento das proteínas humanas frente aos patógenos endodônticos envolvidos nesta condição pode contribuir para o estudo de novas abordagens relacionadas ao tratamento desta doença.

**Palavras-chave:** endodontia, abscesso periapical, interações patógeno-hospedeiro, proteômica.

## **Introdução**

A periodontite apical (PA) é caracterizada pela inflamação e destruição dos tecidos periapicais. A principal causa da PA é a migração de bactérias do interior do canal radicular em direção ao ápice e a liberação de antígenos bacterianos nos tecidos periapicais [1, 2]. PA pode se manifestar de diferentes maneiras, resultando potencialmente no desenvolvimento de um abscesso apical agudo (AAA) [3]. A formação do AAA ocorre devido ao acúmulo de líquido purulento na região acometida, podendo causar dor à palpação e/ou sensibilidade à percussão, além de edema nos tecidos adjacentes [4]. A destruição do tecido periapical é agravada pela resposta inflamatória aguda, levando à reabsorção óssea apical [3]. Além disso, a gravidade do dano tecidual está relacionada ao tipo de bactéria, sendo as bactérias Gram-negativas anaeróbicas as mais prevalentes, fatores de virulência aumentados e respostas imunes/inflamatórias do hospedeiro [5, 6]. Em casos graves, os abscessos endodônticos podem ser fatais [7, 8].

Os casos de AAA são resolvidos através do tratamento endodôntico convencional, e sempre que possível a drenagem cirúrgica do exsudato deve ser realizada [3]. Agentes antimicrobianos podem ser usados para controlar infecções agudas, quando o paciente apresenta acometimento sistêmico, como febre, trismo ou prostração principalmente em casos de abscesso difuso [9]. Como os abscessos agudos induzem respostas inflamatórias exacerbadas do hospedeiro [5], é importante identificar possíveis vias biológicas do hospedeiro neste processo. Nesse sentido, a análise proteômica permite uma melhor compreensão geral da fisiologia de células e tecidos nessas condições de doença [10]. Além disso, a análise descritiva e quantitativa da expressão de proteínas fornece dados relevantes sobre a resposta do hospedeiro a situações clínicas específicas, que podem ser usadas para combater infecções endodônticas [11].

A análise proteômica tem sido usada para identificar e quantificar proteínas humanas em infecções endodônticas na progressão da patogênese endodôntica [12, 13], PA assintomática e sintomática [14, 15], PA pós-tratamento endodôntico [16, 17] e em AAA [11, 14]. Estudos recentes empregaram uma abordagem proteômica quantitativa para estudar infecções endodônticas, permitindo uma avaliação mais precisa da resposta inflamatória do hospedeiro, comparando a expressão de proteínas regulada para cima ou para baixo [12, 15]. No entanto, existem poucos dados qualitativos e nenhum quantitativo na literatura sobre a análise proteômica do AAA [11, 14]. Assim, este estudo visa analisar quantitativa e qualitativamente o perfil proteômico do AAA em comparação com a periodontite apical sintomática, assintomática e correlacionar a expressão de proteínas humanas detectadas com suas principais funções biológicas.

## **Métodos**

### *Seleção de pacientes*

Vinte e sete pacientes que necessitavam de tratamento endodôntico ou tratamento de urgência que procuraram tratamento na faculdade de odontologia XXXX foram incluídos neste estudo. Foram selecionados pacientes de ambos os sexos, com idade entre 18 e 60 anos. A seleção dos pacientes considerou o prontuário, anamnese e exames clínico/radiográficos. No geral, as seguintes características foram observadas para cada paciente: idade, sexo, condição dentária e pulpar, natureza da dor, história de dor anterior, dor espontânea, sensibilidade à percussão/palpação, presença de trato sinusal, presença de inchaço dos tecidos periodontais e profundidade da bolsa periodontal. Esta pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa (nº 54191721.3.0000.5420), e todos os participantes assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido.

Este estudo consistiu em três grupos (n = 9/grupo) fornecendo amostras biológicas em triplicata; o grupo AAA com pacientes diagnosticados com abscesso apical agudo e os grupos PAS pacientes diagnosticados com periodontite apical sintomática e pacientes diagnosticados com periodontite apical assintomática PAA. Os critérios de inclusão para o grupo PAA foram dentes com polpa necrótica (resposta negativa ao teste de sensibilidade ao frio) e presença de lesão periapical visível na radiografia. Apenas dentes com lesões periapicais  $\geq 2,5$  mm de diâmetro foram incluídos no grupo PAA. Clinicamente, o dente pode ser completamente assintomático, ou apresentar uma leve sensibilidade à percussão ou palpação, enquanto no grupo sintomático PAS (n=9) os critérios de inclusão envolveram polpas necróticas (resposta negativa ao teste de sensibilidade ao frio) com dor espontânea e/ou dor ao morder, comer e sensibilidade à percussão, os achados radiográficos incluíram espessamento do ligamento periodontal. No grupo AAA, foram incluídos apenas dentes muito dolorosos, com teste pulpar refletindo necrose pulpar e achados radiográficos de espessamento do ligamento periodontal ou presença de radiolucência apical. Durante o exame clínico, dor espontânea (pulsátil ou em pontada), resposta positiva aos testes de palpação e/ou percussão e edema nos tecidos apicais estiveram geralmente presentes neste grupo. Em geral, os dentes selecionados poderiam ser superiores ou inferiores, pertencentes a qualquer grupo de dentes (molares, pré-molares, caninos ou incisivos), desde que tivessem pelo menos um canal radicular suficientemente grande para a coleta de amostras.

Foram excluídos os pacientes que receberam tratamento antibiótico 3 meses antes da coleta ou que apresentavam alguma doença sistêmica. Dentes com bolsas periodontais mais profundas que 4 mm e/ou sangramento ao estímulo, formação incompleta da raiz, canais radiculares expostos à cavidade oral, fístula e dentes que não puderam ser isolados foram excluídos.

### *Coleta das amostras*

O método de coleta das amostras foi baseado em estudos anteriores [12, 18]. Resumidamente, as restaurações e o tecido cariado foram removidos e o dente foi isolado com um dique de borracha. A desinfecção do campo operatório foi realizada com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 30% e hipoclorito de sódio 2,5% por 30 segundos cada, seguida de neutralização com tiosulfato de sódio 5%. O preparo da cavidade de acesso foi realizado com pontas diamantadas de alta rotação estéreis sob irrigação manual com solução salina estéril. Em seguida, a coleta foi realizada pela introdução de três pontas de papéis estéreis no comprimento aparente do canal radicular por 60 segundos cada (determinado por radiografias diagnósticas). Em dentes com mais de um canal radicular, os espécimes foram coletados apenas do canal retilíneo mais largo (foi estabelecido um diâmetro inicial mínimo de tamanho 15 K-File). Os canais que estivessem completamente seco no grupo PAA, uma gota de solução salina estéril seria colocada antes de remover a ponta de papel. Após a coleta, as pontas de papel dos grupos PAS, PAA e AAA foram armazenadas em criotubos estéreis livres de DNA e RNA, que foram congelados a -80 °C até serem utilizados para análise proteômica.

### *Preparação das amostras para análise proteômica*

O protocolo para extração de proteínas de amostras de canais radiculares foi previamente detalhado por Loureiro et al. [15]. Pontas individuais de papel absorvente foram cortadas em pequenos pedaços e as proteínas foram extraídas. Uma solução de extração contendo ureia 6 M, tiourea 2 M em 50 mM NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub> pH 7,8 foi adicionada até que os papéis estivessem cobertos. Em seguida, as amostras foram agitadas por 10 minutos a 4 °C, sonicadas por 5 minutos e centrifugadas a 20.817 × g por 10 minutos a 4 °C. Após a extração, o sobrenadante foi coletado e as amostras de 3 pacientes foram reunidas, totalizando 3 pools por grupo. Aproximadamente 240 µL de 50 mM NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub> foram adicionados às amostras. O volume total aproximadamente 150 µL foi transferido para tubos Falcon Amicon Ultra-4 10k (Merck Millipore, Tullagreen, CO, Irlanda) e centrifugado a 4.500 × g a 4 °C. Em seguida, as amostras foram reduzidas com ditioneitol 5 mM por 40 min a 37 °C e alquiladas com iodoacetamida 10 mM por 30 minutos no escuro. Após a incubação, as amostras foram digeridas com trípico usando 2% (p/p) de tripsina (Promega, Madison, WI, EUA) por 14 h a 37 °C. Em seguida, adicionou-se ácido fórmico a 5% para interromper a ação da tripsina. A dessalinização e purificação das amostras foram realizadas com a coluna spin C18 (Thermo Scientific, Rockford, IL, EUA). Uma alíquota de cada amostra (1 µL) foi retirada para quantificação relativa pelo método de Bradford (Bio-Rad Bradford Assays) para padronização de µg/proteína (30µg). Após os cálculos para análise quantitativa, as amostras foram normalizadas e ressuspensas em acetonitrila 3% e ácido fórmico 0,1% para aplicação no espectrômetro de massa tandem de nanocromatografia líquida por

spray de elétrons (nLC-ESI-MS/MS).

*Análise proteômica quantitativa shotgun label-free, classificação de proteínas e análise bioinformática*

A identificação do peptídeo foi realizada em um sistema nanoACQUITY UPLC-Xevo QToF MS (Waters, Manchester, Reino Unido). O nanoACQUITY UPLC foi equipado com nanoACQUITY HSS T3, uma coluna analítica de fase reversa (75  $\mu\text{m}$   $\times$  150 mm, tamanho de partícula de 1,8  $\mu\text{m}$ , Waters). Os parâmetros do espectrômetro de massa foram previamente detalhados [19]. O Protein Lynx Global Server (PLGS, versão 3.0, Waters Co., Manchester, Reino Unido) foi usado para processar e pesquisar os dados contínuos nLC-ESI-MS/MS. As proteínas foram identificadas com o algoritmo de contabilidade de íons embutido no software e as pesquisas foram feitas no banco de dados *Homo sapiens* (UniProtKB/Swiss-Prot) baixado em fevereiro de 2022 do UniProtKB (<http://www.uniprot.org/>).

Para o proteoma quantitativo sem marcação, três arquivos brutos MS de cada grupo agrupado foram analisados usando o software PLGS. As proteínas identificadas com índice de confiança superior a 95% foram incluídas na análise estatística quantitativa. Peptídeos idênticos de cada triplicata técnica, por amostra, foram agrupados com base na precisão da massa ( $< 10$  ppm) e no tempo de tolerância de retenção ( $< 0,25$  min), usando o software de agrupamento embutido no PLGS. Para identificação de proteínas, a correspondência mínima de peptídeo por proteína foi 1, considerando correspondência mínima de íon fragmento por proteína de 5 e correspondência mínima de íon fragmento por peptídeo de 2. A taxa de falsa descoberta aplicada foi 4. Diferenças na expressão de proteínas entre os AAA e os grupos CAP foram calculados pelo teste t, e a regulação negativa ou positiva da expressão da proteína foi determinada ( $p < 0,05$ ) usando o software PLGS. Para ser considerada uma proteína exclusiva, a proteína deve estar presente em pelo menos uma amostra da triplicata biológica e ausente em todas as amostras da triplicata biológica com a qual será comparada. Um diagrama de Venn foi criado pela plataforma Bioinformatics & Evolutionary Genomics (<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/Venn/>). As proteínas identificadas foram classificadas de acordo com suas funções biológicas usando o banco de dados *Homo sapiens* da UniProt.

As análises dos processos do sistema imunológico mais afetados com base na ontologia gênica foram realizadas pelo Software Cytoscape® 3.7.2 com os plugins ClueGo®. Foi determinada a distribuição funcional das proteínas identificadas com expressão diferencial em AAA vs. PAS e PAS. As categorias de proteínas foram baseadas na anotação Gene Ontology (GO) do amplo Processo do Sistema Imunológico. Os termos de significância ( $Kappa = 0,04$ ) e distribuição foram calculados de acordo com a porcentagem do número de genes

associados. Os números de acesso das proteínas foram fornecidos pela UniProt.

### **Resultados**

No total, 248 proteínas humanas foram identificadas em todas as amostras, incluindo os grupos AAA, PAS e PAA.

O número total de proteínas identificadas neste estudo é mostrado na Figura 1. Em relação às proteínas encontradas exclusivamente no grupo AAA, a maioria estava associada à resposta imunoinflamatória, como anidrase carbônica 1, alfa-1-antiquimotripsina, alfa-1B-glicoproteína e ezrin. Além disso, uma quantidade substancial de proteínas desse grupo foi relacionada à resposta ao estresse oxidativo, incluindo choque térmico 70 kDa, citocromo P450 e peroxirredoxinas (Tabela 1).

Proteínas identificadas comuns entre os grupos foram analisadas quantitativamente. Ao comparar o grupo AAA com o grupo PAS, 17 proteínas foram superexpressas ( $p < 0,05$ ), incluindo alfa-1-glicoproteína ácida, hemopexina, cadeia gama do fibrinogênio e imunoglobulinas. Seis isoformas de hemoglobinas foram encontradas em níveis elevados no grupo AAA (até 11 vezes). 61 proteínas foram reguladas negativamente, incluindo catepsina G, moesina, gelsolina e transcetolase. Entre elas, as proteínas que diminuiram mais de 2 vezes foram a proteína S100-A8, peroxidase eosinofílica, alfa-actinina-1, lipocalina associada à gelatinase neutrofílica e histonas (H3.3C, H3PS2, H3.1, H4) (Tabela 2).

Em comparação entre o grupo AAA com o grupo PAA, 15 proteínas foram superexpressas ( $p < 0,05$ ), grande parte de proteínas de transporte incluindo seis isoformas de hemoglobina em níveis elevados no grupo AAA (até 71 vezes). Cinco proteínas relacionadas a resposta imune/inflamatória foram super-reguladas no grupo AAA (até 14 vezes) incluindo proteínas importantes como albumina, lactotransferrina e serotransferrina que estas duas últimas citadas exercem papéis fundamentais no sequestro de ferro (Tabela 2).

Em relação à localização subcelular, a maioria das proteínas identificadas está presente na matriz extracelular (25,6%), citoplasma (19,7%) e núcleo (16,1%), bem como no citoesqueleto (15,7%) e na membrana plasmática (14,4%). As funções biológicas mais prevalentes entre essas proteínas foram resposta imune em ambos os níveis de expressão, seguida de função de transporte nas proteínas up-reguladas, regulação de DNA/RNA e reparação e função estrutural nas proteínas subreguladas (Tabela 3). Todas as proteínas identificadas nos grupos AAA, PAS e PAA ( $n = 248$ ) estão representadas na Tabela Complementar 1.

A Fig. 2 mostra a análise funcional relativa ao processo do sistema imunológico por Gene Ontology (GO) para a comparação entre AAA vs PAS e PAA. No geral, as categorias de genes que mostram regulação positiva foram ativação de células B (43%), resposta humoral antimicrobiana (36%), processo apoptótico de células B maduras (7%), morte mediada por neutrófilos de células simbiotes (7%) e estabelecimento de T polaridade celular

(7%).

### **Discussão**

O presente estudo se concentrou em analisar a diferença na expressão de proteínas humanas identificadas no AAA em comparação com PAS e PAA, uma vez estudos prévios da análise proteômica de AAA forneceu apenas dados qualitativos [11, 14]. Essa abordagem quantitativa destaca quais proteínas tiveram alterações em sua expressão ao comparar os grupos AAA vs PAS e PAA, melhorando assim nosso entendimento sobre a resposta do hospedeiro a essa condição clínica, onde o AAA pode ser considerado um estágio avançado da PA.

AAA surge de infecções do canal radicular e pode se estender para os tecidos apicais, bem como se espalhar para espaços anatômicos adjacentes [3]. O potencial de disseminação da infecção está associado à expressão de fatores de virulência bacteriana, patogenicidade bacteriana, alta carga bacteriana e baixa resistência do hospedeiro [5, 20]. Comumente, um paciente com AAA apresenta dor espontânea e tumefação na região afetada. O desequilíbrio entre a resposta imune do hospedeiro e os patógenos endodônticos pode afetar a saúde sistêmica do indivíduo, incluindo sintomas como febre, linfadenopatia, mal-estar geral, cefaleia, trismo e náuseas [3].

O presente estudo descreve as potenciais vias biológicas envolvidas na resposta do hospedeiro por meio de análise proteômica quantitativa. Na presença de um processo infeccioso agudo, o hospedeiro emprega recursos imunoinflamatórios para erradicar os patógenos, iniciando uma reação inflamatória local que pode ativar respostas sistêmicas [21]. A resposta sistêmica é desencadeada principalmente pelas citocinas IL1 $\beta$ , TNF $\alpha$  e IL6, de modo que o início da fase aguda da inflamação mediada por citocinas regula positivamente a expressão de proteínas como alfa-1-glicoproteína ácida [22]. O presente estudo confirma o mecanismo mencionado acima, uma vez que a proteína alfa-1-glicoproteína ácida 1 foi super-regulada no grupo AAA em comparação com o grupo PAS (razão: 6,17). Essa proteína pertence à família das proteínas de fase aguda e uma de suas principais funções é reduzir os danos inerentes à inflamação [23].

A maioria das proteínas identificadas neste estudo está relacionada à fase inflamatória aguda, sendo muitas encontradas exclusivamente no grupo AAA, como proteínas do complemento (C3, C4A e C4B), fibrinogênio (cadeias alfa e beta), vitronectina, alfa-1-antiquimotripsina, amiloide A sérica e transtirretina. Além disso, algumas proteínas de fase aguda identificadas foram diferencialmente expressas, como alfa-1-glicoproteína ácida, fibrinogênio (cadeia gama), hemopexina, haptoglobina, serotransferrina e albumina. De fato, já foi demonstrado que condições infecciosas comumente levam a mudanças substanciais na expressão de proteínas de

fase aguda [24].

A sorotransferrina foi detectada em níveis elevados no grupo AAA em relação aos grupos PAS e PAA (razão: 7,69 e 5,05). O aumento da expressão dessas proteínas revela os esforços do hospedeiro para combater a infecção bacteriana [11]. A serotransferrina é uma glicoproteína sérica pertencente ao grupo das proteínas sequestradoras de ferro e tem como função interferir no transporte e na homeostase dos níveis de ferro no plasma e no líquido tecidual extracelular, suprimindo assim um dos principais nutrientes essenciais para a atividade antimicrobiana [25, 26]. Adicionalmente, na análise funcional do processo do sistema imune comparando AAA vs PAS e PAA, verificamos que, no geral, 36% dessas proteínas estão envolvidas na resposta humoral antimicrobiana (Fig. 2). O grupo de abscesso também expressou altos níveis de outras glicoproteínas séricas; haptoglobina e hemopexina foram reguladas positivamente no grupo AAA em comparação com o grupo PAS. Essas proteínas de fase aguda são normalmente induzidas durante processos infecciosos e inflamatórios para minimizar o dano tecidual e melhorar o reparo tecidual [27].

A ativação da elastase neutrofílica e da catepsina G é um dos mecanismos antimicrobianos do hospedeiro, pelo qual essas proteínas atuam sinergicamente com espécies reativas de oxigênio para eliminar microrganismos fagocitados [28]. Nossos resultados mostraram uma baixa expressão dessas proteínas no grupo AAA em comparação com o grupo PAS, além da super-regulação de proteínas relacionadas ao estresse oxidativo, como eosinófilo peroxidase e mieloperoxidase. Juntos, esses achados sugerem que esse não é o principal mecanismo de defesa no caso dos AAAs.

A proteína S100-A9 apresentaram uma diminuição significativa nos níveis de expressão no grupo AAA em comparação ao grupo PAS ( $p < 0,01$ ; razão: 0,25) e ao grupo PAA ( $p < 0,01$ ; razão 0,54). Já a proteína S100-A8 estava super-regulada na comparação do AAA com o grupo PAA ( $p < 0,01$ ; razão: 17,81). A proteína S100-A8, atua protetoramente em altas concentrações, funciona para eliminar ânions produzidos por neutrófilos ativados [29], enquanto S100-A9 estimula a adesão de neutrófilos ao fibrinogênio [30]. O recrutamento de fagócitos durante a inflamação é mediado pela interação entre o fibrinogênio e a integrina leucocitária [31]. As três cadeias de fibrinogênio foram identificadas neste estudo; duas delas, alfa e beta, eram exclusivos do grupo AAA e a terceira, gama, também foi encontrada em níveis comparativamente altos neste grupo. Apesar de todas as cadeias desencadearem funções de fibrinogênio, os locais de interação da cadeia gama desempenham um papel essencial na interação com fatores de coagulação, fatores de crescimento e integrinas [32].

O equilíbrio oxidativo é diretamente afetado pela intensidade da infecção, e níveis mais altos de índice

de estresse oxidativo foram observados em amostras de canais radiculares de pacientes com AAA [33]. A resposta inflamatória se intensifica com o distúrbio do equilíbrio redox, aumentando a expressão de mediadores pró-inflamatórios e metaloproteases, eventos associados à dor e à destruição óssea apical [33, 34]. No presente estudo, proteínas de resposta ao estresse oxidativo foram identificadas exclusivamente no grupo AAA, principalmente relacionadas ao seu efeito protetor, como proteínas de choque térmico e peroxirredoxinas. Sob condições de estresse, há um aumento na síntese da proteína de choque térmico 70 kDa que atua protegendo as quebras do DNA em resposta ao dano oxidativo [35, 36]. Além disso, as peroxirredoxinas são proteínas antioxidantes que protegem as células contra danos mediados por espécies reativas de oxigênio e têm sido associadas a uma diminuição na apoptose induzida por lipopolissacarídeos [37].

Vários grupos de proteínas quantificados neste estudo foram previamente identificados em estudos que avaliaram qualitativamente o perfil proteômico de abscessos endodônticos [11,14]. A análise da expressão diferencial dessas proteínas é mais eficaz em apontar vias biológicas, ampliando a compreensão do papel de cada proteína nas respostas do hospedeiro ao AAA. Por exemplo, as proteínas serotransferrina e lipocalina, também identificadas em abscessos endodônticos por Alfenas et al. [11], foram super-regulada (serotransferrina) e subregulada (lipocalina) no grupo AAA em comparação com o grupo PAS e PAA. Além disso, as proteínas elastase e mieloperoxidase dos neutrófilos, liberadas pelos PMN, foram identificadas como possíveis contribuintes para a patogênese dos abscessos endodônticos [11]. No entanto, nossos resultados mostraram uma diminuição na expressão dessas proteínas no grupo AAA, sugerindo que sua participação pode não ser decisiva nesse processo.

Possíveis limitações do estudo podem estar relacionadas à diferença de volume e concentração de proteínas entre os três grupos. Em relação ao volume, principalmente ao comparar amostras de três tipos diferentes de infecções endodônticas (AAA, PAS e PAA), a amostra que tem o maior volume de conteúdo do canal radicular pode mascarar a identificação de proteínas do outro grupo. Da mesma forma, o grupo com maior concentração de proteínas pode apresentar proteínas consideradas exclusivas, mas na verdade elas podem estar presentes no outro grupo em uma concentração tão pequena que sua identificação não tenha sido possível [39].

O agrupamento de amostras em triplicatas biológicas também tem sido apontado como uma limitação da análise proteômica. No entanto, devido à relativa perda de variabilidade entre amostras, agrupar as amostras são necessários para aumentar a concentração de proteínas na amostra, obtendo assim resultados confiáveis. No presente estudo, a triplicata biológica não representou influência relevante em nossos resultados, pois nossa análise se restringiu à comparação entre grupos e não dentro dos grupos. Finalmente, como a análise proteômica quantitativa apenas fornece insights sobre possíveis biomarcadores, mais investigações devem ser realizadas para

validar as proteínas diferencialmente expressas como biomarcadores dos abscessos endodônticos.

Este é o primeiro estudo a avaliar quantitativamente as proteínas expressas em amostras coletadas de canais radiculares de dentes com AAA. Os dados fornecidos apoiam a compreensão do comportamento das proteínas humanas contra uma infecção endodôntica aguda por meio da regulação positiva e negativa de proteínas específicas. Além disso, nossos resultados mostram várias novas proteínas identificadas exclusivamente no grupo AAA, principalmente relacionadas a respostas imunoinflamatórias e ao estresse oxidativo. Assim, os presentes dados ampliam a rede de proteínas envolvidas nos abscessos apicais por meio da identificação de proteínas exclusivas desse grupo e de proteínas expressas diferencialmente em ambos os grupos.

### **Conclusão**

Diante dos resultados, esta análise quantitativa mostra diferenças na expressão de proteínas entre os casos de AAA vs PAS e PAA. As proteínas comuns entre os grupos foram associadas principalmente com a resposta imune em ambos os níveis de expressão. As proteínas super-reguladas identificadas no grupo AAA pertenciam principalmente às proteínas de fase aguda, enquanto as proteínas subreguladas foram associadas à regulação e reparo de DNA/RNA e função estrutural.

### **Financiamento**

Este trabalho foi financiado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) [Processo nº 2018/18741-0, 2019/14995-0] e pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) - Código Financeiro 001.

### **Aprovação do comitê de ética institucional**

Todos os procedimentos realizados em estudos envolvendo participantes humanos estavam de acordo com os padrões éticos do comitê de pesquisa institucional e/ou nacional e com a Declaração de Helsinki de 1964 e suas emendas posteriores ou padrões éticos comparáveis. Esta pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia de Araçatuba - UNESP (nº 54191721.3.0000.5420).

## Referencias

1. Jacinto RC, Gomes BP, Ferraz CC, Zaia AA, Filho FJ (2003) Microbiological analysis of infected root canals from symptomatic and asymptomatic teeth with periapical periodontitis and the antimicrobial susceptibility of some isolated anaerobic bacteria. *Oral Microbiol Immunol* 18:285-92. <https://doi.org/10.1034/j.1399-302x.2003.00078.x>
2. Ricucci D, Siqueira JF Jr (2010) Biofilms and apical periodontitis: study of prevalence and association with clinical and histopathologic findings. *J Endod* 36:1277-88. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2010.04.007>
3. Siqueira JF Jr, Rocas IN (2013) Microbiology and treatment of acute apical abscesses. *Clin Microbiol Rev* 26:255-73. <https://doi.org/10.1128/CMR.00082-12>
4. George N, Flamiatos E, Kawasaki K, Kim N, Carriere C, Phan B, Joseph R, Strauss S, Kohli R, Choi D, Baumgartner JC, Sedgley C, Maier T, Machida CA (2016) Oral microbiota species in acute apical endodontic abscesses. *J Oral Microbiol* 8:30989. <https://doi.org/10.3402/jom.v8.30989>
5. Montagner F, Jacinto RC, Signoretti FG, Sanches PF, Gomes BP (2012) Clustering behavior in microbial communities from acute endodontic infections. *J Endod* 38:158-62. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2011.09.029>
6. Siqueira JF Jr, Rocas IN, Souto R, Uzeda M, Colombo AP (2001) Microbiological evaluation of acute periradicular abscesses by DNA-DNA hybridization. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 92:451-7. <https://doi.org/10.1067/moe.2001.118620>
7. Umeda M, Minamikawa T, Komatsubara H, Shibuya Y, Yokoo S, Komori T (2003) Necrotizing fasciitis caused by dental infection: a retrospective analysis of 9 cases and a review of the literature. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 95:283-90. <https://doi.org/10.1067/moe.2003.85>
8. Azenha MR, Homsy G, Garcia IR, Jr. (2012) Multiple brain abscess from dental origin: case report and literature review. *Oral Maxillofac Surg* 16:393-7. <https://doi.org/10.1007/s10006-011-0308-3>
9. Cope AL, Francis N, Wood F, Chestnutt IG (2018) Systemic antibiotics for symptomatic apical periodontitis and acute apical abscess in adults. *Cochrane Database Syst Rev* 9:CD010136. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD010136.pub3>

10. Wilkins MR, Sanchez JC, Gooley AA, Appel RD, Humphery-Smith I, Hochstrasser DF, Williams KL (1996) Progress with proteome projects: why all proteins expressed by a genome should be identified and how to do it. *Biotechnol Genet Eng Rev* 13:19-50. <https://doi.org/10.1080/02648725.1996.10647923>
11. Alfenas CF, Mendes TAO, Ramos HJO, Bruckner FP, Antunes HS, Rocas IN, Siqueira JF Jr, Provenzano JC (2017) Human Exoproteome in Acute Apical Abscesses. *J Endod* 43:1479-1485. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2017.04.019>
12. Loureiro C, Buzalaf MAR, Pessan JP, Moraes FRN, Pela VT, Ventura TMO, Jacinto RC (2020) Comparative Analysis of the Proteomic Profile of the Dental Pulp in Different Conditions. A Pilot Study. *Braz Dent J* 31:319-336. <https://doi.org/10.1590/0103-6440202003167>
13. Silva PAO, Lima SMF, Freire MS, Murad AM, Franco OL, Rezende TMB (2021) Proteomic analysis of human dental pulp in different clinical diagnosis. *Clin Oral Investig* 25:3285-3295. <https://doi.org/10.1007/s00784-020-03660-3>
14. Provenzano JC, Siqueira JF, Jr., Rocas IN, Domingues RR, Paes Leme AF, Silva MR (2013) Metaproteome analysis of endodontic infections in association with different clinical conditions. *PLoS One* 8:e76108. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0076108>
15. Loureiro C, Buzalaf MAR, Moraes FRN, Ventura TMO, Pela VT, Pessan JP, Jacinto RC (2021) Quantitative proteomic analysis in symptomatic and asymptomatic apical periodontitis. *Int Endod J* 54:834-847. <https://doi.org/10.1111/iej.13480>
16. Provenzano JC, Antunes HS, Alves FR, Rocas IN, Alves WS, Silva MR, Siqueira JF Jr (2016) Host-Bacterial Interactions in Post-treatment Apical Periodontitis: A Metaproteome Analysis. *J Endod* 42:880-5. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2016.02.013>
17. Francisco PA, Delboni MG, Lima AR, Xiao Y, Siqueira WL, Gomes B (2019) Proteomic profile of root canal contents in teeth with post-treatment endodontic disease. *Int Endod J* 52:451-460. <https://doi.org/10.1111/iej.13021>
18. Jacinto RC, Montagner F, Signoretti FG, Almeida GC, Gomes BP (2008) Frequency, microbial interactions, and antimicrobial susceptibility of *Fusobacterium nucleatum* and *Fusobacterium necrophorum* isolated from primary endodontic infections. *J Endod* 34:1451-6. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2008.08.036>

19. Ventura T, Ribeiro NR, Dionizio AS, Sabino IT, Buzalaf MAR (2018) Standardization of a protocol for shotgun proteomic analysis of saliva. *J Appl Oral Sci* 26:e20170561. <https://doi.org/10.1590/1678-7757-2017-0561>
20. Hsiao WW, Li KL, Liu Z, Jones C, Fraser-Liggett CM, Fouad AF (2012) Microbial transformation from normal oral microbiota to acute endodontic infections. *BMC Genomics* 13:345. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-13-345>
21. Germolec DR, Shipkowski KA, Frawley RP, Evans E (2018) Markers of Inflammation. *Methods Mol Biol* 1803:57-79. [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8549-4\\_5](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8549-4_5)
22. Moshage H (1997) Cytokines and the hepatic acute phase response. *J Pathol* 181:257-66. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-9896\(199703\)181:3<257::AID-PATH756>3.0.CO;2-U](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-9896(199703)181:3<257::AID-PATH756>3.0.CO;2-U)
23. Ceciliani F, Lecchi C (2019) The Immune Functions of alpha1 Acid Glycoprotein. *Curr Protein Pept Sci* 20:505-524. <https://doi.org/10.2174/1389203720666190405101138>
24. Gabay C, Kushner I (1999) Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation. *N Engl J Med* 340:448-54. <https://doi.org/10.1056/NEJM199902113400607>
25. Watanabe T, Tanaka H, Nakao N, Mikami T, Suzuki M, Matsumoto T (1997) Anti Candida activity of induced transferrin in mice immunized with inactivated *Candida albicans*. *Biol Pharm Bull* 20:637-40. <https://doi.org/10.1248/bpb.20.637>
26. Bruhn KW, Spellberg B (2015) Transferrin-mediated iron sequestration as a novel therapy for bacterial and fungal infections. *Curr Opin Microbiol* 27:57-61. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2015.07.005>
27. Schaer DJ, Vinchi F, Ingoglia G, Tolosano E, Buehler PW (2014) Haptoglobin, hemopexin, and related defense pathways-basic science, clinical perspectives, and drug development. *Front Physiol* 5:415. <https://doi.org/10.3389/fphys.2014.00415>
28. Korkmaz B, Horwitz MS, Jenne DE, Gauthier F (2010) Neutrophil elastase, proteinase 3, and cathepsin G as therapeutic targets in human diseases. *Pharmacol Rev* 62:726-59. <https://doi.org/10.1124/pr.110.002733>
29. Xu K, Yen T, Geczy CL (2001) Il-10 up-regulates macrophage expression of the S100 protein S100A8. *J Immunol* 166:6358-66. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.166.10.6358>
30. Newton RA, Hogg N (1998) The human S100 protein MRP-14 is a novel activator of the beta 2 integrin Mac-1 on neutrophils. *J Immunol* 160:1427-35.

31. Mosesson MW (2005) Fibrinogen and fibrin structure and functions. *J Thromb Haemost* 3:1894-904. <https://doi.org/10.1111/j.1538-7836.2005.01365.x>
32. Farrell DH (2004) Pathophysiologic roles of the fibrinogen gamma chain. *Curr Opin Hematol* 11:151-5. <https://doi.org/10.1097/01.moh.0000131440.02397.a4>
33. Vengerfeldt V, Mandar R, Saag M, Piir A, Kullisaar T (2017) Oxidative stress in patients with endodontic pathologies. *J Pain Res* 10:2031-2040. <https://doi.org/10.2147/JPR.S141366>
34. Hernandez-Rios P, Pussinen PJ, Vernal R, Hernandez M (2017) Oxidative Stress in the Local and Systemic Events of Apical Periodontitis. *Front Physiol* 8:869. <https://doi.org/10.3389/fphys.2017.00869>
35. Ikwegbue PC, Masamba P, Oyinloye BE, Kappo AP (2017) Roles of Heat Shock Proteins in Apoptosis, Oxidative Stress, Human Inflammatory Diseases, and Cancer. *Pharmaceuticals (Basel)* 11. <https://doi.org/10.3390/ph11010002>
36. Kalmar B, Greensmith L (2009) Induction of heat shock proteins for protection against oxidative stress. *Adv Drug Deliv Rev* 61:310-8. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2009.02.003>
37. Feng H, Li Z, Du J, Sun J, Feng W, Li D, Liu S, Wang W, Liu H, Amizuka N, Li M (2018) Dual function of peroxiredoxin I in lipopolysaccharide-induced osteoblast apoptosis via reactive oxygen species and the apoptosis signal-regulating kinase 1 signaling pathway. *Cell Death Discov* 4:47. <https://doi.org/10.1038/s41420-018-0050-9>
38. Loureiro C, Buzalaf MAR, Pessan JP, Ventura TMO, Pelá VT, Ribeiro APF, Jacinto RC (2022) Proteomic analysis of infected root canals with apical periodontitis in patients with type 2 diabetes mellitus: A cross-sectional study. *Int Endod J* 55:910-922. <https://doi.org/10.1111/iej.13794>
39. Hussein H, Kishen A (2022) Application of Proteomics in Apical Periodontitis. *Frontiers in Dental Medicine* 3:814603. <https://doi.org/10.3389/fdmed.2022.814603>

### **Legendas das figuras**

**Fig 1.** Diagrama de Venn mostrando as proteínas identificadas em comum entre os grupos de abscesso apical agudo (AAA) e periodontite apical sintomática (PAS) e assintomática (PAA), bem como o número de proteínas encontradas exclusivamente em cada grupo. Das 248 proteínas identificadas, 49 foram identificadas apenas no grupo AAA, enquanto 68 foram identificadas apenas no grupo (PAS) e 2 proteínas no grupo (PAA), com 129 proteínas em comum entre os grupos (AAA) e (PAS) e 18 proteínas comuns entre os três grupos.

**Fig. 2.** Análise funcional da distribuição de proteínas identificadas com expressão diferencial no abscesso apical agudo (AAA) vs. periodontite apical sintomática (PAS) e periodontite apical assintomática (PAA). As categorias de proteínas são baseadas na anotação Gene Ontology (GO) do amplo Processo do Sistema Imunológico. Termos de significância ( $Kappa = 0,04$ ) e distribuição de acordo com a porcentagem do número de genes associados. O número de acesso das proteínas foi fornecido pela UniProt. A ontologia gênica foi avaliada de acordo com os plugins ClueGo® para o software Cytoscape® 3.7.2.

Figura 1

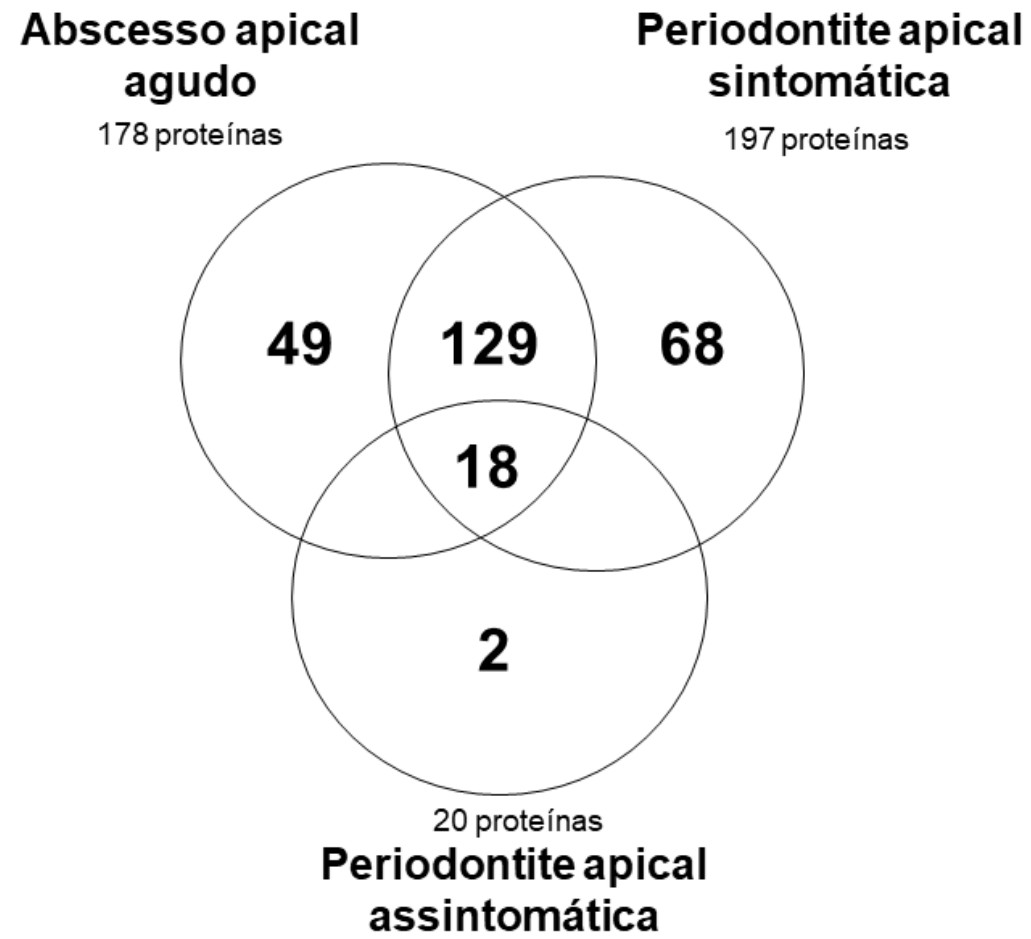
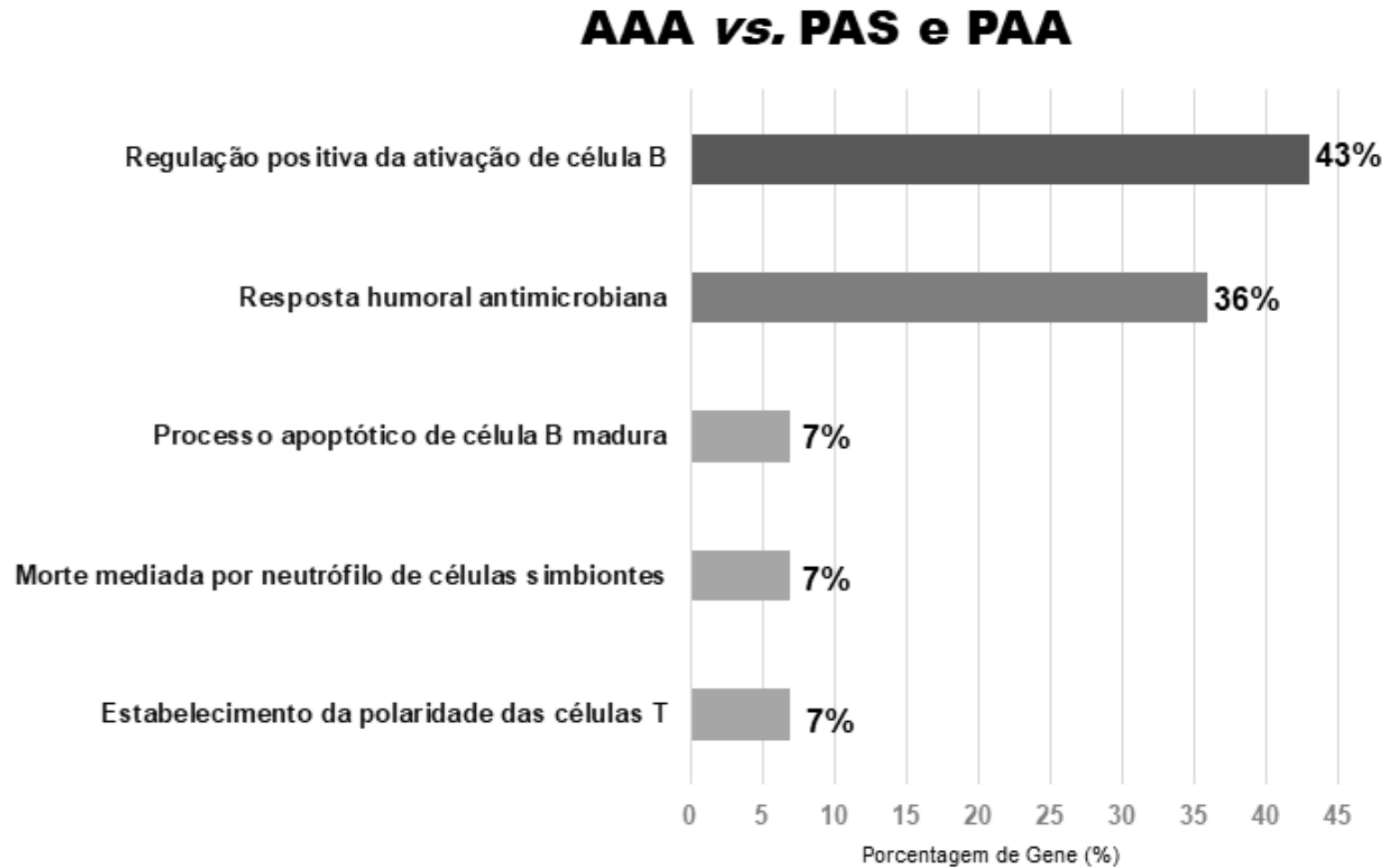


Figura 2



**Tabela 1.** Proteínas humanas distintas identificadas exclusivamente no grupo de abscesso apical agudo.

<b>Accession</b>	<b>Description</b>	<b>Biological function</b>	<b>Score</b>
<b>P01011</b>	Alpha-1-antichymotrypsin	Acute phase <sup>B</sup>	227.68
<b>P01009</b>	Alpha-1-antitrypsin	Acute phase <sup>B</sup>	706.66
<b>P04217</b>	Alpha-1B-glycoprotein	Neutrophil degranulation <sup>B</sup>	503.62
<b>P02765</b>	Alpha-2-HS-glycoprotein	Acute-phase <sup>B</sup>	202.19
<b>Q16352</b>	Alpha-internexin	Neurogenesis <sup>H</sup>	105.17
<b>Q6UXH0</b>	Angiopoietin-like protein 8	Lipid metabolism <sup>B</sup>	402.40
<b>P08133</b>	Annexin A6	Apoptotic <sup>I</sup>	75.75
<b>P02647</b>	Apolipoprotein A-I	Transport <sup>C</sup>	2900.06
<b>P02652</b>	Apolipoprotein A-II	Host-virus interaction <sup>B</sup>	699.37
<b>P06727</b>	Apolipoprotein A-IV	Innate immune response <sup>B</sup>	222.13
<b>P02656</b>	Apolipoprotein C-III	Lipid metabolism <sup>B</sup>	270.51
<b>P02649</b>	Apolipoprotein E	Lipid metabolism <sup>B</sup>	150.36
<b>P00915</b>	Carbonic anhydrase 1	Interleukin-12 signaling pathway <sup>B</sup>	334.32
<b>P01024</b>	Complement C3	Complement pathway <sup>B</sup>	56.56
<b>P0C0L4</b>	Complement C4-A	Complement pathway <sup>B</sup>	604.43
<b>P0C0L5</b>	Complement C4-B	Complement pathway <sup>B</sup>	603.52
<b>P00751</b>	Complement factor B	Complement pathway <sup>B</sup>	207.60
<b>P78329</b>	Cytochrome P450 4F2	Oxidoreductase <sup>J</sup>	199.77
<b>P17661</b>	Desmin	Cytoskeleton organization <sup>D</sup>	105.17
<b>Q9HBU6</b>	Ethanolamine kinase 1	Catalytic activity <sup>A</sup>	120.02
<b>P15311</b>	Ezrin	Regulation of interleukin-2 production <sup>B</sup>	44.46
<b>P02671</b>	Fibrinogen alpha chain	Adaptive immunity <sup>B</sup>	112.93
<b>P02675</b>	Fibrinogen beta chain	Adaptive immunity <sup>B</sup>	220.08
<b>O14556</b>	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase_ testis-specific	Oxidoreductase <sup>J</sup>	29.39
<b>P00739</b>	Haptoglobin-related protein	Acute inflammatory response <sup>B</sup>	240.94
<b>P0DMV8</b>	Heat shock 70 kDa protein 1A	Stress response <sup>J</sup>	123.24

<b>P0DMV9</b>	Heat shock 70 kDa protein 1B	Stress response <sup>J</sup>	126.18
<b>P34931</b>	Heat shock 70 kDa protein 1-like	Stress response <sup>J</sup>	123.24
<b>P02008</b>	Hemoglobin subunit zeta	Transport <sup>C</sup>	125.00
<b>P01871</b>	Immunoglobulin heavy constant mu	Adaptive immune response <sup>B</sup>	1292.00
<b>P01699</b>	Immunoglobulin lambda variable 1-44	Adaptive immunity <sup>B</sup>	232.14
<b>P01700</b>	Immunoglobulin lambda variable 1-47	Adaptive immunity <sup>B</sup>	232.14
<b>Q6P582</b>	Mitotic-spindle organizing protein 2A	Cytoskeleton constituent <sup>D</sup>	165.38
<b>Q6NZ67</b>	Mitotic-spindle organizing protein 2B	Cytoskeleton constituent <sup>D</sup>	165.38
<b>P53985</b>	Monocarboxylate transporter 1	Transport <sup>C</sup>	161.26
<b>P12036</b>	Neurofilament heavy polypeptide	Cytoskeleton organization <sup>D</sup>	105.17
<b>P07196</b>	Neurofilament light polypeptide	Cytoskeleton organization <sup>D</sup>	105.17
<b>P07197</b>	Neurofilament medium polypeptide	Cytoskeleton constituent <sup>D</sup>	105.17
<b>Q06830</b>	Peroxiredoxin-1	Response to oxidative stress <sup>J</sup>	1341.64
<b>P32119</b>	Peroxiredoxin-2	Response to oxidative stress <sup>J</sup>	1862.49
<b>P08567</b>	Pleckstrin	Platelet degranulation <sup>B</sup>	103.40
<b>Q9HC56</b>	Protocadherin-9	Cell adhesion <sup>F</sup>	78.89
<b>P35241</b>	Radixin	RNA binding <sup>E</sup>	44.46
<b>Q13464</b>	Rho-associated protein kinase 1	Apoptotic process <sup>I</sup>	35.79
<b>P35542</b>	Serum amyloid A-4 protein	Acute-phase response <sup>B</sup>	208.37
<b>P02766</b>	Transthyretin	Transport <sup>C</sup>	225.10
<b>F2Z3F1</b>	Uncharacterized protein C5orf67	Unknown <sup>K</sup>	201.10
<b>P04004</b>	Vitronectin	Cell adhesion <sup>F</sup>	269.54
<b>P25311</b>	Zinc-alpha-2-glycoprotein	Transmembrane transport <sup>C</sup>	804.57

Letras sobrescritas indicam a função biológica de cada proteína (banco de dados Uniprot). **A** Metabolismo e vias energéticas; **B** Resposta imune/inflamatória; **C** Transporte; **D** Estrutural; **E** Regulação e reparo de DNA/RNA; **F** Comunicação celular e transdução de sinal; **G** Crescimento e manutenção das células; **H** Diferenciação de células neurais; **I** Apoptose; **J** Resposta ao estresse; **K** desconhecido.

**Table 2.** Descrição e classificação da função biológica de proteínas humanas diferencialmente expressas, comparando o grupo de abscesso apical agudo e os grupos de periodontite apical sintomática e periodontite apical assintomática.

Diferença expressão	Razão AAA:PAS AAA:PAA**	Acesso	Descrição	Função biológica	P value
↑	11.82	P68871	Hemoglobin subunit beta	Oxygen transport <sup>C</sup>	< 0.01
↑	11.82	P02042	Hemoglobin subunit delta	Oxygen transport <sup>C</sup>	< 0.01
↑	11.82	P02100	Hemoglobin subunit epsilon	Oxygen transport <sup>C</sup>	< 0.01
↑	11.82	P69891	Hemoglobin subunit gamma-1	Oxygen transport <sup>C</sup>	< 0.01
↑	11.47	P69892	Hemoglobin subunit gamma-2	Oxygen transport <sup>C</sup>	0.01
↑	11.25	P00738	Haptoglobin	Acute phase <sup>B</sup>	< 0.01
↑	7.77	P69905	Hemoglobin subunit alpha	Oxygen transport <sup>C</sup>	< 0.01
↑	7.69	P02787	Serotransferrin	Antibacterial response <sup>B</sup>	< 0.01
↑	6.82	P02763	Alpha-1-acid glycoprotein 1	Regulation of immune system <sup>B</sup>	< 0.01
↑	6.69	P02768	Albumin	Transport <sup>C</sup>	< 0.01
↑	4.53	P19652	Alpha-1-acid glycoprotein 2	Acute-phase response <sup>B</sup>	0.01
↑	3.19	P02790	Hemopexin	Host-virus interaction <sup>B</sup>	< 0.01
↑	3.1	P0CG04	Immunoglobulin lambda constant 1	Adaptative immunity <sup>B</sup>	< 0.01
↑	3.03	A0M8Q6	Immunoglobulin lambda constant 7	Adaptative immunity <sup>B</sup>	< 0.01
↑	2.66	P01857	Immunoglobulin heavy constant gamma 1	Adaptative immunity <sup>B</sup>	< 0.01
↑	2.46	P02679	Fibrinogen gamma chain	Hemostasis <sup>F</sup>	0.02
↑	1.39	Q6S8J3	POTE ankyrin domain family member E	Unknown <sup>K</sup>	0.01
↓	0.86	P01877	Immunoglobulin heavy constant alpha 2	Adaptive immunity <sup>B</sup>	0.03
↓	0.84	P01860	Immunoglobulin heavy constant gamma 3	Adaptive immunity <sup>B</sup>	< 0.01
↓	0.81	B9A064	Immunoglobulin lambda-like polypeptide 5	Innate immune response <sup>B</sup>	< 0.01
↓	0.79	P0DOY3	Immunoglobulin lambda constant 3	Adaptive immunity <sup>B</sup>	0.02
↓	0.78	P0DOY2	Immunoglobulin lambda constant 2	Adaptive immunity <sup>B</sup>	0.02

↓	0.76	P0CF74	Immunoglobulin lambda constant 6	Adaptive immunity <sup>B</sup>	< 0.01
↓	0.71	P01859	Immunoglobulin heavy constant gamma 2	Adaptive immunity <sup>B</sup>	0.02
↓	0.71	P59665	Neutrophil defensin 1	Antiviral defense <sup>B</sup>	< 0.01
↓	0.67	P07737	Profilin-1	Cytoskeleton organization <sup>D</sup>	0.04
↓	0.63	P33778	Histone H2B type 1-B	DNA-binding <sup>E</sup>	< 0.01
↓	0.63	P62807	Histone H2B type 1-C/E/F/G/I	Antibacterial response <sup>B</sup>	< 0.01
↓	0.63	O60814	Histone H2B type 1-K	Antibacterial response <sup>B</sup>	< 0.01
↓	0.63	Q99880	Histone H2B type 1-L	DNA-binding <sup>E</sup>	< 0.01
↓	0.63	Q8N257	Histone H2B type 3-B	DNA-binding <sup>E</sup>	< 0.01
↓	0.62	P58876	Histone H2B type 1-D	DNA binding <sup>E</sup>	< 0.01
↓	0.62	P06899	Histone H2B type 1-J	Antibacterial response <sup>B</sup>	< 0.01
↓	0.62	Q99877	Histone H2B type 1-N	DNA-binding <sup>E</sup>	< 0.01
↓	0.62	P23527	Histone H2B type 1-O	DNA-binding <sup>E</sup>	< 0.01
↓	0.62	Q16778	Histone H2B type 2-E	Antibacterial response <sup>B</sup>	< 0.01
↓	0.62	P57053	Histone H2B type F-S	DNA-binding <sup>E</sup>	< 0.01
↓	0.61	Q93079	Histone H2B type 1-H	DNA binding <sup>E</sup>	< 0.01
↓	0.61	Q99879	Histone H2B type 1-M	DNA-binding <sup>E</sup>	< 0.01
↓	0.61	Q5QNW6	Histone H2B type 2-F	DNA-binding <sup>E</sup>	< 0.01
↓	0.58	Q16695	Histone H3.1t	DNA-binding <sup>E</sup>	0.04
↓	0.57	P01861	Immunoglobulin heavy constant gamma 4	Adaptive immunity <sup>B</sup>	< 0.01
↓	0.55	P52566	Rho GDP-dissociation inhibitor 2	Response to redox state <sup>J</sup>	< 0.01
↓	0.54	P04406	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase	Oxidoreductase activity <sup>J</sup>	< 0.01
↓	0.54	P01834	Immunoglobulin kappa constant	Adaptive immunity <sup>B</sup>	< 0.01
↓	0.54	P08670	Vimentin	Host-virus interaction <sup>B</sup>	< 0.01
↓	0.53	Q71DI3	Histone H3.2	DNA-binding <sup>E</sup>	0.02
↓	0.53	P35579	Myosin-9		0.02
↓	0.51	P08246	Neutrophil elastase	Response to bacterium <sup>B</sup>	< 0.01
↓	0.50	P00558	Phosphoglycerate kinase 1	Glycolysis <sup>A</sup>	< 0.01

↓	0.50	P14618	Pyruvate kinase PKM	Glycolysis <sup>A</sup>	< 0.01
↓	0.49	Q6NXT2	Histone H3.3C	DNA-binding <sup>E</sup>	0.01
↓	0.49	Q5TEC6	Histone HIST2H3PS2	DNA-binding <sup>E</sup>	0.02
↓	0.48	P04083	Annexin A1	Adaptive immunity <sup>B</sup>	< 0.01
↓	0.47	P62937	Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase A	Apoptosis <sup>I</sup>	0.01
↓	0.46	P08311	Cathepsin G	Antibacterial response <sup>B</sup>	0.02
↓	0.45	P68431	Histone H3.1	DNA-binding <sup>E</sup>	< 0.01
↓	0.45	P29401	Transketolase	Catalytic activity <sup>A</sup>	< 0.01
↓	0.41	P07205	Phosphoglycerate kinase 2	Glycolysis <sup>A</sup>	0.01
↓	0.39	P13796	Plastin-2	Interleukin-12-mediator <sup>B</sup>	< 0.01
↓	0.38	P60709	Actin_ cytoplasmic 1	Structural component <sup>D</sup>	< 0.01
↓	0.38	P63261	Actin_ cytoplasmic 2	Angiogenesis <sup>G</sup>	< 0.01
↓	0.35	P68133	Actin_ alpha skeletal muscle	Structural component <sup>D</sup>	< 0.01
↓	0.35	Q562R1	Beta-actin-like protein 2	Structural component <sup>D</sup>	< 0.01
↓	0.32	P68032	Actin_ alpha cardiac muscle 1	Structural component <sup>D</sup>	< 0.01
↓	0.32	P63267	Actin_ gamma-enteric smooth muscle	Structural component <sup>D</sup>	< 0.01
↓	0.31	P62736	Actin_ aortic smooth muscle	Structural component <sup>D</sup>	0.02
↓	0.31	P26038	Moesin	Host-virus interaction <sup>B</sup>	< 0.01
↓	0.29	P12814	Alpha-actinin-1	Apoptotic process <sup>I</sup>	< 0.01
↓	0.25	P06396	Gelsolin	Neutrophil degranulation <sup>B</sup>	< 0.01
↓	0.25	P06702	Protein S100-A9 1	Inflammatory response <sup>B</sup>	< 0.01
↓	0.2	P02788	Lactotransferrin	Defense response to bacterium <sup>B</sup>	< 0.01
↓	0.2	P80188	Neutrophil gelatinase associated lipocalin	Neutrophil degranulation <sup>B</sup>	< 0.01
↓	0.19	P12429	Annexin A3	Defense response to bacterium <sup>B</sup>	< 0.01
↓	0.15	P62805	Histone H4	DNA-binding <sup>E</sup>	< 0.01
↓	0.14	P11678	Eosinophil peroxidase	Defense response to bacterium <sup>B</sup>	< 0.01
↓	0.14	P05164	Myeloperoxidase	Response to oxidative stress <sup>J</sup>	< 0.01
↓	0.03	P05109	Protein S100-A8	Inflammatory response <sup>B</sup>	< 0.01

↑	<b>132.95**</b>	<b>P02768</b>	<b>Albumin</b>	<b>Transport<sup>C</sup></b>	<b>&lt; 0.01</b>
↑	<b>76.71**</b>	<b>P68871</b>	<b>Hemoglobin subunit beta</b>	<b>Oxygen transport<sup>C</sup></b>	<b>&lt; 0.01</b>
↑	<b>57.97**</b>	<b>P02100</b>	<b>Hemoglobin subunit epsilon</b>	<b>Oxygen transport<sup>C</sup></b>	<b>&lt; 0.01</b>
↑	<b>56.26**</b>	<b>P69891</b>	<b>Hemoglobin subunit gamma-1</b>	<b>Oxygen transport<sup>C</sup></b>	<b>&lt; 0.01</b>
↑	<b>55.70**</b>	<b>P69892</b>	<b>Hemoglobin subunit gamma-2</b>	<b>Oxygen transport<sup>C</sup></b>	<b>&lt; 0.01</b>
↑	<b>47.94**</b>	<b>P69905</b>	<b>Hemoglobin subunit alpha</b>	<b>Oxygen transport<sup>C</sup></b>	<b>&lt; 0.01</b>
↑	<b>18.92**</b>	<b>A5A3E0</b>	<b>POTE ankyrin domain family member F</b>	<b>Unknown<sup>K</sup></b>	<b>&lt; 0.01</b>
↑	<b>17.81**</b>	<b>P05109</b>	<b>Protein S100-A8</b>	<b>Inflammatory response<sup>B</sup></b>	<b>&lt; 0.01</b>
↑	<b>14.44**</b>	<b>P02788</b>	<b>Lactotransferrin</b>	<b>Defense response to bacterium<sup>B</sup></b>	<b>&lt; 0.01</b>
↑	<b>11.47**</b>	<b>P0CG38</b>	<b>POTE ankyrin domain family member I</b>	<b>Unknown<sup>K</sup></b>	<b>0.01</b>
↑	<b>8.58**</b>	<b>Q6S8J3</b>	<b>POTE ankyrin domain family member E</b>	<b>Unknown<sup>K</sup></b>	<b>&lt; 0.01</b>
↑	<b>6.17**</b>	<b>P02763</b>	<b>Alpha-1-acid glycoprotein 1</b>	<b>Regulation of immune system<sup>B</sup></b>	<b>&lt; 0.01</b>
↑	<b>5.05**</b>	<b>P02787</b>	<b>Serotransferrin</b>	<b>Antibacterial response<sup>B</sup></b>	<b>&lt; 0.01</b>
↑	<b>3.53**</b>	<b>P02042</b>	<b>Hemoglobin subunit delta</b>	<b>Oxygen transport<sup>C</sup></b>	<b>&lt; 0.01</b>
↓	<b>0.54**</b>	<b>P06702</b>	<b>Protein S100-A9 1</b>	<b>Inflammatory response<sup>B</sup></b>	<b>&lt; 0.01</b>

Diferenças na expressão entre os grupos foram expressas como ↑ para proteínas up-regulated e ↓ para proteínas down-regulated ( $p < 0,05$ ); Relação AAA/PAS = relação entre abscessos apicais agudos (AAA) em comparação com periodontite apical sintomática (PAS); Relação AAA/PAA\*\* = relação entre abscessos apicais agudos (AAA) em comparação com periodontite apical assintomática (PAA). Letras sobrescritas indicam a função biológica de cada proteína (banco de dados Uniprot). **A** Metabolismo e vias energéticas; **B** Resposta imune/inflamatória; **C** Transporte; **D** Estrutural; **E** Regulação e reparo de DNA/RNA; **F** Comunicação celular e transdução de sinal; **G** Crescimento e manutenção das células; **H** Diferenciação de células neurais; **I** Apoptose; **J** Resposta ao estresse; **K** Desconhecido. Proteínas humanas que eram mais de 2 vezes maiores ou menores estão em negrito.

**Table 3.** Quantidade (porcentagem) de proteínas exclusivas e comuns (super-reguladas e subregulada) classificadas em cada grupo, de acordo com suas funções biológicas.

Classificação da função biológica	Proteínas Exclusivas (%)			Proteínas Comuns (%)	
	Abscesso apical agudo	Periodontite apical sintomática	Periodontite apical assintomática	Super-regulada	Subregulada
Metabolismo e vias energéticas	1 (2.0)	8 (11.8)	0 (0.0)	0 (0.0)	4 (6.6)
Resposta imune	23 (46.9)	17 (25.0)	1 (5.0)	8 (47.1)	28 (45.9)
Transporte	5 (10.2)	9 (13.2)	0 (0.0)	7 (41.2)	0 (0.0)
Estrutura	6 (12.2)	14 (20.6)	1 (5.0)	0 (0.0)	7 (11.5)
Regulação e reparo de DNA/RNA	1 (2.0)	2 (2.9)	0 (0.0)	0 (0.0)	16 (26.2)
Comunicação celular e transdução de sinal	2 (4.1)	4 (5.9)	0 (0.0)	1 (5.9)	1 (1.6)
Crescimento e/ou manutenção celular	0 (0.0)	5 (7.4)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (1.6)
Diferenciação de células neurais	1 (2.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
Apoptose	2 (4.1)	1 (1.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (3.3)
Resposta ao estresse	7 (14.3)	5 (7.4)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (3.3)
Desconhecida	1 (2.0)	3 (4.4)	0 (0.0)	1 (5.9)	0 (0.0)
<b>Total</b>	49 (100)	68 (100)	2 (100)	17 (100)	61 (100)

**Tabela Suplementar 1.** Descrição de todas as proteínas identificadas neste estudo em cada grupo (n = 247).

Acesso	Descrição	Abscesso apical agudo	Periodontite apical sintomática	Periodontite apical assintomática
<b>P68032</b>	Actin_ alpha cardiac muscle 1	X	X	
<b>P68133</b>	Actin_ alpha skeletal muscle	X	X	
<b>P62736</b>	Actin_ aortic smooth muscle	X	X	
<b>P60709</b>	Actin_ cytoplasmic 1	X	X	
<b>P63261</b>	Actin_ cytoplasmic 2	X	X	

<b>P63267</b>	Actin_ gamma-enteric smooth muscle	X	X	
<b>P59998</b>	Actin-related protein 2/3 complex subunit 4		X	
<b>O15511</b>	Actin-related protein 2/3 complex subunit 5		X	
<b>Q01518</b>	Adenylyl cyclase-associated protein 1	X	X	
<b>P02768</b>	Albumin	X	X	X
<b>P02763</b>	Alpha-1-acid glycoprotein 1	X	X	X
<b>P19652</b>	Alpha-1-acid glycoprotein 2	X	X	
<b>P01011</b>	Alpha-1-antichymotrypsin	X		
<b>P01009</b>	Alpha-1-antitrypsin	X		
<b>P04217</b>	Alpha-1B-glycoprotein	X		
<b>P02765</b>	Alpha-2-HS-glycoprotein	X		
<b>P01023</b>	Alpha-2-macroglobulin	X	X	
<b>P12814</b>	Alpha-actinin-1	X	X	
<b>O43707</b>	Alpha-actinin-4		X	
<b>P19961</b>	Alpha-amylase 2B		X	
<b>P06733</b>	Alpha-enolase	X	X	X
<b>Q16352</b>	Alpha-internexin	X		
<b>Q6UXH0</b>	Angiopoietin-like protein 8	X		
<b>P04083</b>	Annexin A1	X	X	
<b>P12429</b>	Annexin A3	X	X	
<b>P08133</b>	Annexin A6	X		
<b>P02647</b>	Apolipoprotein A-I	X		
<b>P02652</b>	Apolipoprotein A-II	X		
<b>P06727</b>	Apolipoprotein A-IV	X		
<b>P02656</b>	Apolipoprotein C-III	X		
<b>P02649</b>	Apolipoprotein E	X		
<b>P20160</b>	Azurocidin	X	X	
<b>P17213</b>	Bactericidal permeability-increasing protein		X	
<b>Q562R1</b>	Beta-actin-like protein 2	X	X	X
<b>P13929</b>	Beta-enolase	X	X	
<b>P0DP23</b>	Calmodulin-1		X	
<b>P0DP24</b>	Calmodulin-2		X	
<b>P0DP25</b>	Calmodulin-3		X	
<b>P00915</b>	Carbonic anhydrase 1	X		
<b>P04040</b>	Catalase		X	
<b>P08311</b>	Cathepsin G	X	X	
<b>P51861</b>	Cerebellar degeneration-related antigen 1		X	
<b>P00450</b>	Ceruloplasmin	X	X	
<b>O00299</b>	Chloride intracellular channel protein 1		X	
<b>O43809</b>	Cleavage and polyadenylation specificity factor subunit 5		X	
<b>P23528</b>	Cofilin-1	X	X	
<b>Q9Y281</b>	Cofilin-2	X	X	
<b>P01024</b>	Complement C3	X		
<b>P08123</b>	Collagen alpha-2(I) chain			X

<b>P0C0L4</b>	Complement C4-A	X		
<b>P0C0L5</b>	Complement C4-B	X		
<b>P00751</b>	Complement factor B	X		
<b>P31146</b>	Coronin-1A	X	X	
<b>Q5T3F8</b>	CSC1-like protein 2		X	
<b>P78329</b>	Cytochrome P450 4F2	X		
<b>P17661</b>	Desmin	X		
<b>Q9NP87</b>	DNA-directed DNA/RNA polymerase mu		X	
<b>P11678</b>	Eosinophil peroxidase	X	X	
<b>Q9HBU6</b>	Ethanolamine kinase 1	X		
<b>P15311</b>	Ezrin	X		
<b>P47756</b>	F-actin-capping protein subunit beta		X	
<b>P02671</b>	Fibrinogen alpha chain	X		
<b>P02675</b>	Fibrinogen beta chain	X		
<b>P02679</b>	Fibrinogen gamma chain	X	X	
<b>P04075</b>	Fructose-bisphosphate aldolase A	X	X	X
<b>P09104</b>	Gamma-enolase	X	X	
<b>P06396</b>	Gelsolin	X	X	
<b>P06744</b>	Glucose-6-phosphate isomerase		X	
<b>P09211</b>	Glutathione S-transferase P		X	
<b>P04406</b>	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase	X	X	
<b>O14556</b>	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase_ testis-specific	X		
<b>P28676</b>	Grancalcin		X	
<b>P00738</b>	Haptoglobin	X	X	
<b>P00739</b>	Haptoglobin-related protein	X		
<b>P0DMV8</b>	Heat shock 70 kDa protein 1A	X		
<b>P0DMV9</b>	Heat shock 70 kDa protein 1B	X		
<b>P34931</b>	Heat shock 70 kDa protein 1-like	X		
<b>P69905</b>	Hemoglobin subunit alpha	X	X	X
<b>P68871</b>	Hemoglobin subunit beta	X	X	X
<b>P02042</b>	Hemoglobin subunit delta	X	X	X
<b>P02100</b>	Hemoglobin subunit epsilon	X	X	X
<b>P69891</b>	Hemoglobin subunit gamma-1	X	X	X
<b>P69892</b>	Hemoglobin subunit gamma-2	X	X	X
<b>P02008</b>	Hemoglobin subunit zeta	X		X
<b>P02790</b>	Hemopexin	X	X	
<b>P0C0S8</b>	Histone H2A type 1	X	X	
<b>Q96QV6</b>	Histone H2A type 1-A	X	X	
<b>P04908</b>	Histone H2A type 1-B/E	X	X	
<b>Q93077</b>	Histone H2A type 1-C	X	X	
<b>P20671</b>	Histone H2A type 1-D	X	X	
<b>Q96KK5</b>	Histone H2A type 1-H	X	X	
<b>Q99878</b>	Histone H2A type 1-J	X	X	
<b>Q6FI13</b>	Histone H2A type 2-A	X	X	
<b>Q8IUE6</b>	Histone H2A type 2-B	X	X	

<b>Q16777</b>	Histone H2A type 2-C	X	X
<b>Q7L7L0</b>	Histone H2A type 3	X	X
<b>Q9BTM1</b>	Histone H2A.J	X	X
<b>Q71UI9</b>	Histone H2A.V	X	X
<b>P0C0S5</b>	Histone H2A.Z	X	X
<b>P16104</b>	Histone H2AX	X	X
<b>Q96A08</b>	Histone H2B type 1-A		X
<b>P33778</b>	Histone H2B type 1-B	X	X
<b>P62807</b>	Histone H2B type 1-C/E/F/G/I	X	X
<b>P58876</b>	Histone H2B type 1-D	X	X
<b>Q93079</b>	Histone H2B type 1-H	X	X
<b>P06899</b>	Histone H2B type 1-J	X	X
<b>O60814</b>	Histone H2B type 1-K	X	X
<b>Q99880</b>	Histone H2B type 1-L	X	X
<b>Q99879</b>	Histone H2B type 1-M	X	X
<b>Q99877</b>	Histone H2B type 1-N	X	X
<b>P23527</b>	Histone H2B type 1-O	X	X
<b>Q16778</b>	Histone H2B type 2-E	X	X
<b>A0A2R8Y619</b>	Histone H2B type 2-E1		X
<b>Q5QNW6</b>	Histone H2B type 2-F	X	X
<b>Q8N257</b>	Histone H2B type 3-B	X	X
<b>P57053</b>	Histone H2B type F-S	X	X
<b>P68431</b>	Histone H3.1	X	X
<b>Q16695</b>	Histone H3.1t	X	X
<b>Q71DI3</b>	Histone H3.2	X	X
<b>P84243</b>	Histone H3.3	X	X
<b>Q6NXT2</b>	Histone H3.3C	X	X
<b>P62805</b>	Histone H4	X	X
<b>Q5TEC6</b>	Histone HIST2H3PS2	X	X
<b>P01876</b>	Immunoglobulin heavy constant alpha 1	X	X
<b>P01877</b>	Immunoglobulin heavy constant alpha 2	X	X
<b>P01857</b>	Immunoglobulin heavy constant gamma 1	X	X
<b>P01859</b>	Immunoglobulin heavy constant gamma 2	X	X
<b>P01860</b>	Immunoglobulin heavy constant gamma 3	X	X
<b>P01861</b>	Immunoglobulin heavy constant gamma 4	X	X
<b>P01871</b>	Immunoglobulin heavy constant mu	X	
<b>P01762</b>	Immunoglobulin heavy variable 3-11	X	X
<b>P01766</b>	Immunoglobulin heavy variable 3-13	X	X
<b>A0A0C4DH32</b>	Immunoglobulin heavy variable 3-20	X	X
<b>A0A0B4J1V1</b>	Immunoglobulin heavy variable 3-21	X	X
<b>P01764</b>	Immunoglobulin heavy variable 3-23	X	X
<b>P01768</b>	Immunoglobulin heavy variable 3-30	X	X
<b>P0DP02</b>	Immunoglobulin heavy variable 3-30-3	X	X
<b>P0DP03</b>	Immunoglobulin heavy variable 3-30-5	X	X
<b>P01772</b>	Immunoglobulin heavy variable 3-33	X	X

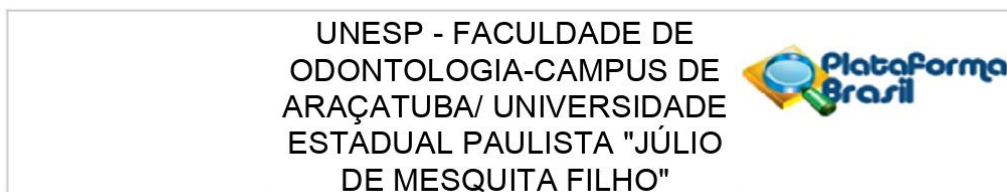
<b>A0A0B4J1X8</b>	Immunoglobulin heavy variable 3-43	X	X	
<b>P0DP04</b>	Immunoglobulin heavy variable 3-43D	X	X	
<b>P01763</b>	Immunoglobulin heavy variable 3-48	X	X	
<b>P01767</b>	Immunoglobulin heavy variable 3-53	X	X	
<b>A0A0C4DH42</b>	Immunoglobulin heavy variable 3-66	X	X	
<b>P01780</b>	Immunoglobulin heavy variable 3-7	X	X	
<b>A0A0B4J1X5</b>	Immunoglobulin heavy variable 3-74	X	X	
<b>P01782</b>	Immunoglobulin heavy variable 3-9	X	X	
<b>P01834</b>	Immunoglobulin kappa constant	X	X	
<b>P0CG04</b>	Immunoglobulin lambda constant 1	X	X	
<b>P0DOY2</b>	Immunoglobulin lambda constant 2	X	X	
<b>P0DOY3</b>	Immunoglobulin lambda constant 3	X	X	
<b>P0CF74</b>	Immunoglobulin lambda constant 6	X	X	
<b>A0M8Q6</b>	Immunoglobulin lambda constant 7	X	X	
<b>P01699</b>	Immunoglobulin lambda variable 1-44	X		
<b>P01700</b>	Immunoglobulin lambda variable 1-47	X		
<b>B9A064</b>	Immunoglobulin lambda-like polypeptide 5	X	X	
<b>P05107</b>	Integrin beta-2		X	
<b>P02788</b>	Lactotransferrin	X	X	X
<b>Q86V48</b>	Leucine zipper protein 1		X	
<b>B2RXH2</b>	Lysine-specific demethylase 4E		X	
<b>P61626</b>	Lysozyme C	X	X	
<b>Q6P582</b>	Mitotic-spindle organizing protein 2A	X		
<b>Q6NZ67</b>	Mitotic-spindle organizing protein 2B	X		
<b>P26038</b>	Moesin	X	X	
<b>P53985</b>	Monocarboxylate transporter 1	X		
<b>P24158</b>	Myeloblastin		X	
<b>P05164</b>	Myeloperoxidase	X	X	
<b>P14649</b>	Myosin light chain 6B		X	
<b>P60660</b>	Myosin light polypeptide 6		X	
<b>P35579</b>	Myosin-9	X	X	
<b>Q9UHE5</b>	N-acetyltransferase 8		X	
<b>P12036</b>	Neurofilament heavy polypeptide	X		
<b>P07196</b>	Neurofilament light polypeptide	X		
<b>P07197</b>	Neurofilament medium polypeptide	X		
<b>P59665</b>	Neutrophil defensin 1	X	X	
<b>P59666</b>	Neutrophil defensin 3	X	X	
<b>P08246</b>	Neutrophil elastase	X	X	
<b>P80188</b>	Neutrophil gelatinase-associated lipocalin	X	X	
<b>P12272</b>	Parathyroid hormone-related protein		X	
<b>P62937</b>	Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase A	X	X	
<b>Q9Y536</b>	Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase A-like 4A		X	
<b>Q06830</b>	Peroxiredoxin-1	X		
<b>P32119</b>	Peroxiredoxin-2	X		
<b>P30044</b>	Peroxiredoxin-5_mitochondrial		X	

<b>P00558</b>	Phosphoglycerate kinase 1	X	X	
<b>P07205</b>	Phosphoglycerate kinase 2	X	X	
<b>P18669</b>	Phosphoglycerate mutase 1		X	
<b>P15259</b>	Phosphoglycerate mutase 2		X	
<b>P13796</b>	Plastin-2	X	X	
<b>P08567</b>	Pleckstrin	X		
<b>Q6S8J3</b>	POTE ankyrin domain family member E	X	X	X
<b>A5A3E0</b>	POTE ankyrin domain family member F	X	X	X
<b>P0CG38</b>	POTE ankyrin domain family member I	X	X	X
<b>P0CG39</b>	POTE ankyrin domain family member J	X	X	
<b>Q8N0Y7</b>	Probable phosphoglycerate mutase 4		X	
<b>P07737</b>	Profilin-1	X	X	
<b>Q86WR7</b>	Proline and serine-rich protein 2		X	
<b>Q92733</b>	Proline-rich protein PRCC		X	
<b>Q99622</b>	Protein C10		X	
<b>P31949</b>	Protein S100-A11		X	
<b>P05109</b>	Protein S100-A8	X	X	X
<b>P06702</b>	Protein S100-A9	X	X	X
<b>P25815</b>	Protein S100-P		X	
<b>Q9UM07</b>	Protein-arginine deiminase type-4		X	
<b>Q9HC56</b>	Protocadherin-9	X		
<b>Q9BYX7</b>	Putative beta-actin-like protein 3	X	X	
<b>Q92928</b>	Putative Ras-related protein Rab-1C		X	
<b>P14618</b>	Pyruvate kinase PKM	X	X	
<b>P35241</b>	Radixin	X		
<b>Q3MIN7</b>	Ral guanine nucleotide dissociation stimulator-like 3		X	
<b>P61026</b>	Ras-related protein Rab-10		X	
<b>P51153</b>	Ras-related protein Rab-13		X	
<b>P59190</b>	Ras-related protein Rab-15		X	
<b>P62820</b>	Ras-related protein Rab-1A		X	
<b>Q9H0U4</b>	Ras-related protein Rab-1B		X	
<b>Q15286</b>	Ras-related protein Rab-35		X	
<b>P61006</b>	Ras-related protein Rab-8A		X	
<b>Q92930</b>	Ras-related protein Rab-8B		X	
<b>Q9HD89</b>	Resistin			X
<b>P52566</b>	Rho GDP-dissociation inhibitor 2	X	X	
<b>Q13464</b>	Rho-associated protein kinase 1	X		
<b>P16499</b>	Rod cGMP-specific 3'_5'-cyclic phosphodiesterase subunit alpha		X	
<b>Q7Z7L1</b>	Schlafen family member 11		X	
<b>P02787</b>	Serotransferrin	X	X	X
<b>O75830</b>	Serpin I2		X	
<b>P35542</b>	Serum amyloid A-4 protein	X		
<b>P27105</b>	Stomatin		X	
<b>Q99536</b>	Synaptic vesicle membrane protein VAT-1 homolog		X	
<b>P37837</b>	Transaldolase		X	

<b>P29401</b>	Transketolase	X	X
<b>Q9C0B7</b>	Transport and Golgi organization protein 6 homolog		X
<b>P02766</b>	Transthyretin	X	
<b>P60174</b>	Triosephosphate isomerase		X
<b>A6NNZ2</b>	Tubulin beta 8B		X
<b>P07437</b>	Tubulin beta chain		X
<b>Q13885</b>	Tubulin beta-2A chain		X
<b>Q9BVA1</b>	Tubulin beta-2B chain		X
<b>P04350</b>	Tubulin beta-4A chain		X
<b>P68371</b>	Tubulin beta-4B chain		X
<b>Q9BUF5</b>	Tubulin beta-6 chain		X
<b>Q3ZCM7</b>	Tubulin beta-8 chain		X
<b>Q9NQ32</b>	Uncharacterized protein C11orf16		X
<b>F2Z3F1</b>	Uncharacterized protein C5orf67	X	
<b>P08670</b>	Vimentin	X	X
<b>P04004</b>	Vitronectin	X	
<b>Q8NA42</b>	Zinc finger protein 383		X
<b>P25311</b>	Zinc-alpha-2-glycoprotein	X	

# **Anexos**

## Anexo - Comitê de Ética em Pesquisa em Humanos



### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

#### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** Perfil proteômico de dentes com abscesso apical agudo em comparação com periodontite apical sintomática e assintomática

**Pesquisador:** Rogério de Castilho Jacinto

**Área Temática:**

**Versão:** 1

**CAAE:** 54191721.3.0000.5420

**Instituição Proponente:** Faculdade de Odontologia do Campus de Araçatuba - UNESP

**Patrocinador Principal:** Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho  
FUNDAÇÃO DE AMPARO A PESQUISA DO ESTADO DE SÃO PAULO

#### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 5.180.905

#### Apresentação do Projeto:

Serão selecionados 27 pacientes para tratamento endodôntico na Faculdade de Odontologia de Araçatuba - UNESP. As seguintes características serão observadas para cada paciente: idade, gênero, estado dentário e pulpar, natureza da dor, história de dor prévia, dor espontânea sensibilidade à percussão, dor à palpção, mobilidade, presença de fístula e sua origem, presença de inchaço dos tecidos periodontais, e profundidade da bolsa periodontal. Após o diagnóstico baseado nos critérios clínicos e radiográficos acima os pacientes serão divididos em três grupos: O estudo será dividido em 3 grupos: abscesso (n = 9) – pacientes com diagnóstico de abscesso apical agudo; sintomático (n = 9) – pacientes com diagnóstico de periodontite apical sintomática; e assintomático (n = 9) – pacientes com diagnóstico de periodontite apical assintomática. Serão incluídos pacientes maiores de 18 anos de idade, de ambos os sexos. Apenas dentes com infecção endodôntica primária serão incluídos. Serão excluídos do estudo pacientes que fizeram o uso de antibióticos nos últimos três meses, doenças sistêmicas, dentes que não puderam ser isolados, dentes com exposição visível dos canais radiculares, fístula, doença periodontal avançada, formação incompleta da raiz e história de traumatismo dentário. Durante o tratamento endodôntico, serão realizadas coletas do canal radicular para

<b>Endereço:</b> JOSE BONIFACIO 1193		<b>CEP:</b> 16.015-050
<b>Bairro:</b> VILA MENDONÇA		
<b>UF:</b> SP	<b>Município:</b> ARACATUBA	
<b>Telefone:</b> (18)3636-3200	<b>Fax:</b> (18)3636-3332	<b>E-mail:</b> andrebertoz@foa.unesp.br

UNESP - FACULDADE DE  
ODONTOLOGIA-CAMPUS DE  
ARAÇATUBA/ UNIVERSIDADE  
ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO  
DE MESQUITA FILHO"



Continuação do Parecer: 5.180.905

posterior análise proteômica das amostras.

**Objetivo da Pesquisa:**

Objetivo Primário:

Analisar qualitativa e quantitativamente o perfil proteômico dos abscessos apicais agudos comparados a periodontite apical sintomática e assintomática e correlacionar a expressão das proteínas humanas detectadas com suas funções biológicas entre os grupos.

Objetivo Secundário:

Correlacionar a expressão das proteínas humanas e bacterianas detectadas nos canais radiculares e suas funções biológicas nos três grupos do estudo.

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

Riscos:

O risco é mínimo, a participação nesta pesquisa não infringe as normas legais e ética (A coleta da amostra é indolor, pois o dente envolvido será anestesiado. Caso sinta dor, esta não será por causa da coleta de amostra e sim pela realização da anestesia, limpeza do dente ou causada pela infecção no canal radicular). Os procedimentos adotados nesta pesquisa obedecem aos Critérios da Ética em Pesquisa com Seres Humanos conforme Resolução no. 466/12 do Conselho Nacional de Saúde. Nenhum dos procedimentos usados oferece riscos à sua dignidade.

Benefícios:

Ao participar desta pesquisa o paciente não terá nenhum benefício direto. Entretanto, esperamos que o conhecimento construído a partir desta pesquisa possa tornar o tratamento endodôntico mais efetivo, onde pesquisador se compromete a divulgar os resultados obtidos, respeitando-se o sigilo das informações coletadas.

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

Projeto científico dentro das normas da CONEP.

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

Os termos obrigatórios foram apresentados.

**Recomendações:**

Não há.

**Endereço:** JOSE BONIFACIO 1193

**Bairro:** VILA MENDONCA

**CEP:** 16.015-050

**UF:** SP

**Município:** ARACATUBA

**Telefone:** (18)3636-3200

**Fax:** (18)3636-3332

**E-mail:** andrebertoz@foa.unesp.br

**UNESP - FACULDADE DE  
ODONTOLOGIA-CAMPUS DE  
ARAÇATUBA/ UNIVERSIDADE  
ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO  
DE MESQUITA FILHO"**



Continuação do Parecer: 5.180.905

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

Não havendo pendências, o CEP propõe a aprovação do projeto de pesquisa.

**Considerações Finais a critério do CEP:**

Não havendo pendências, o CEP propõe a aprovação do projeto de pesquisa salientando que, de acordo com a Resolução 466 CNS de 12/12/2012 (título X, seção X.1., art. 3, item b, e, título XI, seção XI.2., item d), há necessidade de apresentação de relatórios semestrais, devendo o primeiro relatório ser enviado até 20/06/2022. O CEP reitera a necessidade de entrega de uma via (não cópia) do TCLE ao sujeito participante da pesquisa e solicita ao pesquisador responsável leitura da carta circular 003/2011 CONEP/CNS antes do início do projeto.

**Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:**

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1871883.pdf	07/12/2021 15:17:23		Aceito
Folha de Rosto	Folha_de_rosto.pdf	07/12/2021 15:15:35	GLADISTON WILLIAM LOBO RODRIGUES	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_Proteoma_Abscessos.docx	07/12/2021 08:51:14	GLADISTON WILLIAM LOBO RODRIGUES	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_proteoma_abscessos.docx	07/12/2021 08:50:55	GLADISTON WILLIAM LOBO RODRIGUES	Aceito
Cronograma	Cronograma_abscessos.docx	07/12/2021 08:50:48	GLADISTON WILLIAM LOBO RODRIGUES	Aceito

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

**Endereço:** JOSE BONIFACIO 1193  
**Bairro:** VILA MENDONCA **CEP:** 16.015-050  
**UF:** SP **Município:** ARACATUBA  
**Telefone:** (18)3636-3200 **Fax:** (18)3636-3332 **E-mail:** andrebertoz@foa.unesp.br

UNESP - FACULDADE DE  
ODONTOLOGIA-CAMPUS DE  
ARAÇATUBA/ UNIVERSIDADE  
ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO  
DE MESQUITA FILHO"



Continuação do Parecer: 5.180.905

ARACATUBA, 20 de Dezembro de 2021

---

**Assinado por:**  
**Aldiéris Alves Pesqueira**  
**(Coordenador(a))**

**Endereço:** JOSE BONIFACIO 1193  
**Bairro:** VILA MENDONCA **CEP:** 16.015-050  
**UF:** SP **Município:** ARACATUBA  
**Telefone:** (18)3636-3200 **Fax:** (18)3636-3332 **E-mail:** andrebertoz@foa.unesp.br