

**UNIVERSIDADE PAULISTA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA**

**ESTUDO DO METABOLOMA DA SALIVA E URINA
EM PACIENTES TRANSPLANTADOS RENAIIS E SUA
ASSOCIAÇÃO COM A DOENÇA PERIODONTAL**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Paulista – UNIP, para obtenção do título de Doutora em Odontologia.

KELLY CRISTINE TARQUINIO MARINHO

SÃO PAULO

2021

**UNIVERSIDADE PAULISTA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA**

**ESTUDO DO METABOLOMA DA SALIVA E URINA
EM PACIENTES TRANSPLANTADOS RENAIIS E SUA
ASSOCIAÇÃO COM A DOENÇA PERIODONTAL**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Paulista – UNIP, para obtenção do título de Doutora em Odontologia, sob orientação do Prof. Dr. Elcio Magdalena Giovani.

KELLY CRISTINE TARQUINIO MARINHO

SÃO PAULO

2021

Marinho, Kelly Cristine Tarquinio.

Estudo do metaboloma da saliva e urina em pacientes transplantados renais e sua associação com a doença periodontal / Kelly Cristine Tarquinio Marinho. - 2021.

18 f. : il. color.

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia, São Paulo, 2021.

Área de concentração: Clínica Odontológica.

Orientador: Prof. Dr. Elcio Magdalena Giovani.

1. Transplante de rim. 2. Doenças periodontais. 3. Metaboloma. 4. Cromatografia gasosa-espectrometria de massas. I. Giovani, Elcio Magdalena (orientador). II. Título.

KELLY CRISTINE TARQUINIO MARINHO

**ESTUDO DO METABOLOMA DA SALIVA E URINA
EM PACIENTES TRANSPLANTADOS RENAIIS E SUA
ASSOCIAÇÃO COM A DOENÇA PERIODONTAL**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Paulista – UNIP, para obtenção do título de Doutora em Odontologia.

Aprovado em:

BANCA EXAMINADORA

_____/_____/_____
Profa. Dra. Janete Dias Almeida
Universidade Estadual Paulista- UNESP

_____/_____/_____
Prof. Dr. Claudio Costa
Universidade de São Paulo- USP

_____/_____/_____
Prof. Dr. Levy Anderson César Alves
Universidade Paulista – UNIP

_____/_____/_____
Prof. Dr. Bruno Vieira Caputo
Universidade Paulista – UNIP

_____/_____/_____
Prof. Dr. Elcio Magdalena Giovani
Universidade Paulista – UNIP

AGRADECIMENTOS

Agradeço a **DEUS**, pela paz e sabedoria nos momentos mais difíceis de minha vida.

A meus pais, **Ronei e Mara**, que não pouparam esforços para minha educação, sempre dedicando amor e apoio sem limites, guiando-me para o caminho da honestidade, mostrando a importância da família. Amo vocês.

A minha irmã, **Karla**, pelo carinho, amizade, companheirismo e compreensão nos momentos em que estive distante e pelo incentivo nos momentos de esgotamento. Amo você.

Aos meus avós, que estiveram por perto em alguns momentos, dando-me coragem para realizar minha pesquisa. A meu avô, **Sherlock Holmes**, *in memoriam*. Onde quer que esteja, sei que torce pela minha vitória.

A meu orientador, **Prof. Dr. Elcio Magdalena Giovani**, pela paciência, dedicação, orientação apropriada e pelas valiosas sugestões para a elaboração de minha tese. Exemplo de profissionalismo, simplicidade, capacidade de ensino e seriedade.

Ao **Prof. Carlos Eduardo Alegretti**, pela oportunidade e pela bolsa de estudos concedida para a realização desta Pós-graduação.

À **Prof.^a Dr.^a Cintia H. C. Saraceni**, coordenadora do programa de Pós-graduação em Odontologia da FOUNIP, pela competência com que desenvolve seu trabalho.

A meus amigos, que sempre acreditaram em meu sucesso.

Aos professores do doutorado, pelos ensinamentos diários, que me transmitiram segurança e conhecimento.

Aos membros da banca examinadora, por aceitar participar da avaliação desta tese, meu muito obrigada.

Aos auxiliares da Clínica Odontológica da Universidade Paulista, pelo carinho demonstrado e pela colaboração com os procedimentos de minha pesquisa.

Às funcionárias da Secretaria da Pós-graduação, pela disponibilidade em ajudar.

À Universidade Paulista- UNIP. Orgulho-me por nela ter estudado desde a graduação e por ser professora desta instituição. Obrigada pela bolsa de estudos concedida.

Ao laboratório DEMPSTER, do Departamento de Engenharia Química da Escola Politécnica da USP, pela oportunidade de realizar a análise das amostras desta pesquisa, em especial, à Dra. Maria Anita Mendes.

A meus amigos, **Levy e Helio**, com quem compartilho a disciplina de cirurgia, pelo companheirismo, pelas conversas, pela nossa amizade.

A todos que, direta ou indiretamente, colaboraram com este trabalho, meus mais sinceros agradecimentos.

*“A verdadeira coragem é ir atrás de seu sonho mesmo quando todos dizem que ele é impossível.”
(Cora Coralina).*

RESUMO

Metaboloma é a coleta dos compostos de baixo peso molecular originários das vias metabólicas do organismo, de fármacos e de microrganismos da cavidade bucal. Extraídas de tecidos ou detectadas em fluidos corporais, as moléculas pequenas são medidas usando espectroscopia de ressonância magnética nuclear ou espectrometria de massa. O objetivo deste estudo foi avaliar o metaboloma de biofluidos (saliva e urina) de pacientes transplantados renais e estabelecer uma possível associação com a doença periodontal. Trata-se de um estudo transversal, analítico e descritivo, com 61 pacientes, atendidos na Faculdade de Odontologia da Universidade Paulista, Campus Indianópolis, São Paulo, divididos em 4 grupos: GT: pacientes submetidos a transplante renal e sem doença periodontal (n=11); GTDP: pacientes submetidos a transplante renal e com doença periodontal (n=12); GC: indivíduos com função renal normal e sem doença periodontal (n=19); GCDP: indivíduos com função renal normal e com doença periodontal (n=19). Foram coletados biofluidos de saliva e urina, para posterior análise metabolômica, no Laboratório *DEMPSTER Mass Lab*, do Departamento de Engenharia Química da Escola Politécnica da Universidade de São Paulo. As análises estatísticas foram realizadas por meio da análise de componentes principais (PCA), Diagrama de Venn, Índice de similaridade de Jaccard e Permanova. O presente estudo identificou 23 metabólitos comuns aos grupos GT e GTDP, quando analisadas as amostras de saliva; e 30, nas amostras de urina, estando superexpressos os metabólitos da classe de benzenos e seus derivados. Os metabólitos expressos nos grupos com doença periodontal estão relacionados ao metabolismo bacteriano e a respiração celular anaeróbia. O metabólito mais importante pelas primeiras componentes da PCA da saliva foi o Ornitina-D7 (*Ornithine-d7*) e, para urina, ácido palmitoleico (*Palmitoleic acid*). Não houve diferença estatística entre os metabólitos salivares e urinários, quando comparados os 4 grupos. Porém, foi possível distinguir os metabólitos específicos para cada grupo e as relações entre eles.

Palavras-chave: Transplante de Rim. Doenças Periodontais. Metaboloma. Cromatografia Gasosa- Espectrometria de Massas. Saliva. Urina

ABSTRACT

Metabolome represents the collection of low molecular weight compounds that originate from metabolic pathways of the body, drugs, and microorganisms in the oral cavity. Small molecules extracted from tissues or detected in body fluids are measured using nuclear magnetic resonance spectroscopy or mass spectrometry. The aim of this study was to evaluate the biofluid metabolome of kidney transplant recipients and their possible association with periodontitis. This was a cross-sectional, analytical, and descriptive study involving 61 patients, who visited the Dental School of Paulista University, Campus Indianópolis, São Paulo. The patients were arranged in four groups: GT: kidney transplant recipients without periodontal disease (n = 11); GTDP: kidney transplant recipients with periodontal disease (n = 12); CG: normal renal function without periodontal disease (n = 19); and GCDP: normal renal function with periodontal disease (n = 19). The saliva and urine samples were collected for further metabolomic analysis at the DEMPSTER Mass Lab of the Chemical Engineering Department of the Polytechnic School of the University of São Paulo. Statistical analyses were performed using the principal component analysis (PCA), Venn diagram, Jaccard similarity index, and Permanova. The present study identified 23 and 30 metabolites common to the GT and GTDP groups when the saliva and urine samples were analyzed, respectively; the benzene class and its derivatives were overexpressed. The metabolites expressed in groups with periodontal disease were related to bacterial metabolism and anaerobic cell respiration. The most important metabolite for determining the pattern of PCA performed in saliva samples was ornithine-d7 and that in urine samples was palmitoleic acid. There was no significant difference between the salivary and urinary metabolites when compared among the four groups; however, it was possible to differentiate the specific metabolites for each group and the relationships between them.

Keywords: Kidney transplant. periodontal diseases. Metabolome. Gas Chromatography-Mass Spectrometry. Saliva. Urine.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	9
2 CONCLUSÃO GERAL	15
REFERÊNCIAS	16

1 INTRODUÇÃO

Os rins, órgãos multifuncionais especializados, que participam da produção de células vermelhas e da ativação da vitamina D, são responsáveis pela manutenção do equilíbrio eletrolítico e acidobásico; pela regulação do volume dos fluidos corpóreos; pela excreção dos resíduos metabólicos e drogas, além de fazerem parte da produção e do metabolismo de vários hormônios, incluindo a renina, a eritropoietina e a prostaglandinas.^{1,2}

O transplante renal é, atualmente, a melhor opção terapêutica e de reabilitação para pacientes com doença renal crônica em estágio terminal, seja de origem congênita seja por doenças infecciosas e/ou inflamatórias crônico-degenerativas. O paciente submetido ao transplante renal tem melhora na qualidade de vida e expectativa de vida prolongada, quando comparado àquele mantido cronicamente em diálise.³

Os pacientes receptores de transplante renal usam medicações imunossupressoras, para prevenir a rejeição ao órgão transplantado. Em decorrência da imunossupressão, ficam susceptíveis a infecções oportunistas, dada a diminuição da expressividade dos linfócitos T.^{2,4,5}

Sabe-se que a maior causa de mortalidade em transplantados renais é a doença cardiovascular. A saúde bucal apresentaria impacto sobre esse processo, pois a presença de doença periodontal está relacionada à inflamação. Evidências apontam para associação entre a presença da doença periodontal e a ativação do sistema imunológico, bem como a formação de placas de aterosclerose, o que, em teoria, aumentaria o risco de complicações cardiovasculares ou mesmo aceleração da perda do enxerto em pacientes transplantados renais. Não houve correlação entre a doença periodontal e a sobrevida do transplante renal. Entretanto, o risco cardiovascular mostrou-se significativamente maior nos portadores de doença periodontal.⁶

Segundo atesta documentação, receptores de transplante renal com periodontite crônica apresentaram aumento significativo dos níveis séricos de interleucina-6 (IL-6). Assim, a inflamação e o nível sérico elevado de IL-6 aumentariam o risco de disfunção dos órgãos transplantados.^{7,8}

O termo metaboloma foi descrito, em 1998, como um conjunto de todas as moléculas de baixa massa molecular, como carboidratos, vitaminas, ácidos

orgânicos, aminoácidos e demais produtos presentes nas células em estado fisiológico ou de desenvolvimento.⁹

O monitoramento do transplante renal depende dos níveis de creatinina, da produção total da urina e da pressão arterial. A metabolômica seria uma ferramenta valiosa, uma vez que viabilizaria um estudo de identificação e quantificação de novos metabólitos que podem - individualmente ou em combinação - auxiliar no diagnóstico do quadro clínico do paciente.^{10,11}

A identificação de metabólitos produzidos por processos catabólicos do organismo e por reações metabólicas dos medicamentos em uso pelos pacientes transplantados oferece contínua oportunidade para otimização dos métodos de diagnóstico nas áreas médica e odontológica.^{12,13}

1.1 Transplante renal e imunossupressão

As infecções ocorridas após o transplante de órgãos foram classificadas em três períodos de ocorrência, com influência de fatores cirúrgicos, estados de imunossupressão e exposição ao ambiente:

- Primeiro período: os primeiros trinta dias após o procedimento, momento em que ocorre a maioria das infecções. Os patógenos responsáveis são bactérias pertencentes à microbiota hospitalar e espécies de fungos (*Candidas*). Os fatores de risco para o desenvolvimento de infecções, nesse período, estão relacionados ao procedimento cirúrgico e ao tempo de internação;

- Segundo período: do segundo ao sexto mês pós-transplante, referente às infecções oportunistas relacionadas à imunossupressão: Citomegalovírus (CMV) e reativação de infecções latentes, como a tuberculose;

- Terceiro período ou pós-transplante tardio: a partir do sétimo mês de transplante, pacientes em estágios mais brandos de imunossupressão. As infecções são as mesmas de que sofre a população, em geral, porém, se os pacientes desenvolverem quadros de rejeição, haverá necessidade do aumento da imunossupressão, surgindo, talvez, infecções oportunistas.¹⁴

Os imunossupressores mais utilizados para o tratamento dos transplantados renais são os inibidores de calcineurina (ciclosporina, tacrolimus); os corticosteroides (prednisona); os inibidores da desidrogenase da inosina (micofenolato); os inibidores da proteína cinase, denominada mTor (sirolimus ou

rapamicina e everolimus) e o inibidor da síntese de purina (azatioprina)⁶. Na dependência do protocolo do serviço e do tempo pós-transplante, são utilizados dois ou três medicamentos concomitantemente, caracterizando o esquema duplo ou tríplice.

Os fatores que contribuem para maior incidência de infecção entre pacientes transplantados renais incluem os extremos de idade, o baixo índice de massa corporal e a presença de diabetes. Durante os últimos dez anos, o risco de infecção pós-transplante manteve-se menor do que na população em diálise, a maioria, provavelmente, por causa das técnicas melhores de transplante e de terapias imunossupressoras eficazes.⁶

1.2 Transplante renal e associação com a doença periodontal

O termo doença periodontal é utilizado para se referir às condições patológicas das estruturas do periodonto de sustentação e do periodonto de proteção. A nova classificação da Associação Americana de Periodontia utiliza como parâmetro, o Nível de Inserção Periodontal (NIC), sendo NIC de 1 a 2mm = periodontite leve; NIC de 3 a 4mm = periodontite moderada e; NIC acima de 5mm, periodontite grave.^{15,16}

Uma prevalência maior de periodontite crônica foi encontrada em pacientes que sofriam deterioração dos transplantes renais, achado sugestivo que atuaria como preditor para a deterioração dos transplantes ao longo do tempo. Assim, o status periodontal, independentemente do tempo do transplante, contribuiu para a ocorrência de complicações clínicas dos transplantados renais.¹⁷

Shaqman et al (2010)¹⁸ evidenciaram índice de placa igual nos dois grupos (transplantado com e sem doença periodontal). A média de sangramento à sondagem foi maior em pacientes saudáveis (controle), comparada aos transplantados ($p=0,06$). IL-6 e proteína C reativa (CRP) tiveram média maior no grupo dos transplantados, porém, sem correlação entre IL-6 e parâmetros periodontais. No entanto, os transplantados com periodontite severa apresentavam maiores índices de IL-6, comparados aos transplantados sem doença periodontal ($p=0,004$). Tendências de níveis aumentados de CRP nos

transplantados com periodontite severa, comparados aos transplantados sem periodontite ($p=0,12$). Em transplantados, o aumento de CRP foi maior em pacientes com *Diabetes mellitus* e em pacientes com IMC (índice de massa corpórea) aumentado. Já no grupo controle, o aumento estava relacionado apenas ao IMC elevado.

Um estudo avaliando a relação entre periodontite e terapia imunossupressora concluiu que a terapia imunossupressora pode ter influência na inflamação periodontal.¹⁹

1.3 Análise do metaboloma

O sucesso de qualquer transplante de rim está ligado à capacidade de monitorar os pacientes e modificar suas medicações de forma adequada. O monitoramento de transplantes ainda depende de tecnologias relativamente antigas: níveis séricos de creatinina, produção de urina, pressão arterial, glicemia e biópsia. Porém, essas análises não oferecem especificidade, sensibilidade ou precisão, para permitir intervenções oportunas. Usando as ferramentas de genômica, proteômica e metabolômica, novos biomarcadores estão sendo encontrados, o que pode melhorar significativamente o monitoramento de transplantes e a sobrevivência do enxerto^{20,21}

Urina e plasma são os biofluidos mais utilizados para análise metabolômica, por serem facilmente obtidos. Além desses biofluidos, podem ser incluídos: líquido seminal, fluido cérebro-espinhal, fluido sinovial, fluidos císticos, aspirações pulmonares, saliva e fluidos dialíticos, que também têm sido fonte de informações metabólicas.²²

A compreensão dos produtos finais que compõem o fluido salivar, denominado metaboloma da saliva, é de extrema importância não só na odontologia, mas também na área médica, para a detecção de doenças sistêmicas, utilizando-se a saliva como meio diagnóstico.^{23,24,25}

A metabolômica é definida pela medição quantitativa de alto rendimento de compostos de baixo peso molecular, geralmente abaixo de 1500 Daltons (peso molecular). Visa caracterizar e quantificar o metaboloma, que se origina das vias metabólicas. Extraídas de tecidos ou detectadas em fluidos corporais,

as moléculas pequenas são medidas usando espectroscopia de ressonância magnética nuclear ou espectrometria de massa.²⁶

Na metabolômica, um grande número de metabólitos é medido usando métodos não-químicos, não colorimétricos, como GC-MS (cromatografia em fase gasosa-espectrometria de massa), LC-MS (cromatografia líquida-espectrometria de massa) ou espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN).

Um estudo teve como objetivo explorar potenciais biomarcadores urinários não invasivos, para rastrear a rejeição aguda em receptores de transplante renal, usando perfil metabobômico não direcionado, Cromatografia Líquida com Espectrômetro de Massa (LC-MS). Foram encontrados cinco biomarcadores: ácido guanidoacético, ácido metilimidazolacético, dopamina, ácido 4-guanidinobutírico e L-triptofano.²⁶

Um estudo transversal, analítico e descritivo, que avaliou o metaboloma de biofluidos de adolescentes e de adultos jovens com doença renal crônica (DRC), estágios 1 a 5, e associação com a doença periodontal (DP), identificou metabólitos comuns tanto para a doença renal crônica (DRC) como para a DP. Esse fato demonstrou, principalmente, que aminoácidos, ácidos graxos e subprodutos de seu metabolismo podem ser expressos diferencialmente, em função da patologia presente. Metabólitos como ácido butírico e L-prolina foram encontrados nos indivíduos com doença periodontal. Ureia, creatinina, ácido octadecanóico, ciclohexano foram compartilhados por todos os grupos.¹³

Um estudo avaliando duas terapias imunossupressoras em transplantados renais, grupo 1: Everolimo, prednisona, tacrolimo e grupo 2: micofenolato mofetil, prednisona, tacrolimo, com uma abordagem metabolômica, observou uma perturbação no metabolismo energético e alguns aminoácidos nos dois grupos. No grupo 1 (Everolimo, prednisona, tacrolimo), os metabólitos discriminantes pertenciam ao ciclo de Krebs (ácido succínico e fumárico), catecol e hidroquinona e estão relacionados ao metabolismo xenobiotico. O grupo 2 (micofenolato mofetil, prednisona, tacrolimo) apresentou metabólitos distintos do grupo 1, como: ácido hidroxibutírico, ácido benzoico, hipúrico, ácido malônico, acetamido butírico.¹¹

Apesar da terapia imunossupressora, ainda é possível haver rejeição do enxerto. Por isso, são realizados exames como creatinina sérica e biópsia renal, de modo a diagnosticar a rejeição do órgão. Devido à dificuldade de realização

desses exames, Banas et al 2018 ²⁷ realizaram um trabalho, utilizando amostras de urina, para criar um perfil metabólico dos possíveis biomarcadores relacionados à perda do enxerto. Os seguintes metabólitos foram relacionados a essa causa: alanina, citrato, dimetilamina (DMA), Glicose, Glucuronato, Hipurato, Lactato, Fenilacetilglutamina (PAQ), Trigonelina e Ureia. ²⁸

Há relatos que associam dimetilamina (DMA) e ureia com rejeição de enxerto renal em estudos baseados em RMN (Ressonância Nuclear Magnética).²⁹

No estágio inicial da DRC, as concentrações plasmáticas de citrulina, cistina e taurina aumentaram, enquanto a serina e a ornitina foram reduzidas.³⁰

Um estudo avaliando pacientes não dialisados e dialisados mostrou diferenças significativas em 18 dos 23 aminoácidos e aminas. Pacientes dialisados apresentaram concentrações mais baixas de alanina, fenilalanina, arginina, serina e glutamina, enquanto as concentrações plasmáticas de aspartato, citrulina e prolina estavam aumentadas, avaliadas nas amostras do plasma. Os níveis plasmáticos e a excreção urinária de citrulina foram maiores no grupo de pacientes com DRC avançada (estágios 2 e 3 da DRC versus estágios 4 e 5 da DRC). Os níveis de dimetilarginina foram maiores na DRC, enquanto a excreção urinária foi menor.³¹

O objetivo do trabalho foi identificar e interpretar o metaboloma de biofluidos (saliva e urina) de pacientes transplantados renais e estabelecer uma possível associação com a doença periodontal.

2 CONCLUSÃO GERAL

Este estudo concluiu que não houve diferença estatística para as amostras de saliva e de urina quanto aos metabólitos nos quatro grupos estudados, mas foi possível distinguir os metabólitos específicos para cada grupo e as possíveis relações entre eles.

O presente estudo identificou 30 metabólitos comuns para os grupos GT e GTDP nas amostras de urina e 23, nas amostras salivares, não sendo identificados metabólitos sugestivos de perda da função renal. Os metabólitos presentes pertencem à classe benzeno e seus derivados e subclasse fenóis, podendo estar relacionados aos medicamentos utilizados pelos pacientes desses grupos.

O metabólito mais importante pelas primeiras componentes da PCA da saliva foi o *Ornitina d7 (Ornithine-d7)*, um metabólito do ciclo da ureia seguido por *1,6 Anidroglicose (1,6-Anhydroglucose)*. O mais importante pelas primeiras componentes da PCA da urina foi o ácido palmitoleico (*Palmitoleic acid*), sendo esse composto um importante anti-inflamatório, referente a via lipídica seguido de *L- alanina*, relacionada ao metabolismo do triptofano (*l-Alanine, N-(trimethylsilyl)-, trimethylsilyl ester*).

Apesar do perfil metabólico ser diferente, alguns deles, como o ácido acetoacético (*Acetoacetic acid*), ácido palmítico (*Palmitic acid*), ácido 4-Hidroxibenzóico (*4-Hydroxybenzoic acid*), 1- hexadecanol (*1-Hexadecanol*), ácido 4- hidroxifenilacético (*4-Hydroxyphenyllactic acid*) são compartilhados em todos os grupos, quando analisadas as amostras de urina.

Aminoácidos, ácidos carboxílicos (ácidos graxos) e açúcares foram compartilhados pelos 4 grupos nas amostras salivares.

Alguns metabólitos compartilhados apenas nas amostras salivares dos pacientes com doença periodontal estão relacionados ao processo de fermentação e ao metabolismo bacteriano, sugerindo indicadores de lesão periodontal.

REFERÊNCIAS

1. Sonis ST, Fazio RC, Fang L. Princípios e Prática de Medicina Oral. 2ªed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1995.
2. Costa Filho JZ, Padilha WSM, Santos, EKN. Cuidados odontológicos em portadores de insuficiência renal crônica. Rev Cir Traumatol Buco-Maxillo-fac.2007;7:19-28.
3. Silva AAG, Figueiredo MAS. Manifestações estomatológicas em pacientes receptores de transplante renal sob terapia imunossupressora: Avaliação clínica de um ano. Rev Odonto Ciên. 1998; 25:49-75.
4. Silva LCF. Manifestações orais em pacientes portadores de insuficiência renal crônica em programa de hemodiálise e em transplantados renais sob terapia imunossupressora. 2000. 116p. Dissertação (Mestrado em Odontologia)- Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2000.
5. Gudapati A, Ahmed P, Rada R. Dental Management of Patients with Renal Failure. Gen Dent. 2002; 50: 508-11.
6. Jesus PHS. Prevalência das lesões bucais em transplantados renais: correlação da sobrevida do enxerto e com o risco cardiovascular. 2013. Dissertação (Pós-Graduação em Ciências da Saúde) - Universidade de Brasília, Brasília, 2013.
7. Weinberg MA, Segelnick SL, Kay LB, Nair V. Medical and Dental Standardization for Solid Organ Transplant Recipients. N Y State Dent J.2013; 79:35-40.
8. Machado V, Botelho J, Lopes J, et al. Diagnostics 2020, 10 (4): 184; doi:10.3390/diagnostics10040184.
9. Oliver SG, Winsom MK, Kell DB, Bagazans F. Systematic functional analyses of the yeast genome. Tibtech. 1998;16: 373-8.
10. Goldsmith P, et al. Metabonomics: a useful tool for the future surgeon. J Surg Res. 2010;160(1):122-32.
11. Cruz PRL. Avaliação de terapias imunossupressoras em transplantes renais com uma abordagem metabolômica. 2017. Tese (Doutorado em Ciências-Química) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2017.
12. Weiss RH, Kim K. Metabolomics in the study of kidney diseases. Nat Rev Nephrol. 2011;25(8):22-33.
13. Alves LAC. Estudo do metaboloma de biofluidos em pacientes pediátricos nefropatas e sua associação com a doença periodontal. 2016. Tese (Pós-Graduação em Ciências Odontológicas- Doutor em Ciências). Universidade de São Paulo, São Paulo, 2016.

14. Snyderman DR. Epidemiology of Infections after Solid-Organ Transplantation. *Clin Infect Dis.*2011;33(1):5-8.
15. Lindhe J, Lang NP. *Tratado de Periodontia Clínica e Implantodontia Oral*. 11 ed. Rio de Janeiro: Guanabara/Koogan, 2018. 1312 p.
16. Papapanou et al. *J Periodontol.* 2018;89(Suppl 1):S173–S182.
17. Ioannidou E, et al. Periodontitis case definition affects the association with renal function in kidney transplant recipients. *Oral Dis.* 2010;16: 636-642. doi:10.1111/j.1601-0825.2010.01665.x.
18. Shaqman M. Periodontitis and Inflammatory Markers in Transplant Recipients. *J Periodontol.* 2010;81:666-672.
19. Pereira-Lopes O, Sampaio-Maia B, Sampaio S, et al. Periodontal inflammation in renal transplant recipients receiving everolimus or tacrolimus - preliminary results. *Oral Dis.* 2013;19:666–72.
20. Wishart DS. Metabolomics in monitoring kidney transplants. *Curr Opin in Nephrol Hypertens.* 2006;16(6): 637–642. doi: 10.1097/01.mnh.0000247499.64291.52.
21. Wishart DS. Metabolomics: the principles and potential applications to transplantation. *Am J Transplant.* 2005; 5:2814–2820.
22. Grootveld M, Silwood CJL. 1H NMR analysis as a diagnostic probe for human saliva. *Biochem Biophys Res Commun.* 2005;329(1):1-5.
23. Rochfort M. Metabolomics reviewed: a new "omics" platform technology for systems biology and implications for natural products research. *J Nat Prod.* 2005;68(12):1813-20.
24. Bertram HC, Eggers N, Eller N. Potential of human saliva for nuclear magnetic resonance-based metabolomics and for health-related biomarker identification. *Anal Chem.* 2009; 81(21): 9188-93.
25. Bonneau E, Tétreault N, Robitaille R, Boucher A, De Guire V. Metabolomics: Perspectives on potential biomarkers in organ transplantation and immunosuppressant toxicity. *Clin Biochem.*2016; 49(4-5):377-84.
26. Kim et al. Urinary metabolomic profiling for noninvasive diagnosis of acute T cell mediated rejection after kidney transplantation *Journal of Chromatography B.* 2019;1118–1119:157–163.
27. Banas et al. Identification of a urine metabolite constellation characteristic for kidney allograft rejection. *Metabolomics.*2018; 14:116 <https://doi.org/10.1007/s11306-018-1419-8>.

28. Le Moyec, L., Pruna, A., Eugene, M., Bedrossian, J., Idatte, J. M., Huneau, J. F., & Tome, D. (1993). Proton nuclear magnetic resonance spectroscopy of urine and plasma in renal transplantation follow-up. *Nephron*, 65(3), 433–439.
29. Garibotto et al. Amino acid and protein metabolism in the human kidney and in patients with chronic kidney disease. *Clin Nutr* 29: 424–433, 2010.
30. Gayraud et al. Plasma and Urinary Amino Acid Metabolomic Profiling in Patients with Different Levels of Kidney Function Flore Durantou, Ulrika Lundin. *CJASN* January 2014, 9 (1) 37-45; DOI: <https://doi.org/10.2215/CJN.06000613>
31. Halloran PF. Immunosuppressive drugs for kidney transplantation. *N Engl J Med*. 2004;351:2715-29.