

**UNIVERSIDADE DE UBERABA
ALEX ALVES DA COSTA ANDRADE**

**ESTUDO IMUNOHISTOQUÍMICO DE PROTEÍNAS DA VIA INTRÍNSECA DA
APOPTOSE (BAK E BCL-2) EM LESÕES ORAIS DE HISTOPLASMOSE E
PARACOCCIDIODOMICOSE COMPARADAS COM A MUCOSA ORAL NORMAL**

UBERABA, MG

2023

**UNIVERSIDADE DE UBERABA
ALEX ALVES DA COSTA ANDRADE**

**ESTUDO IMUNOHISTOQUÍMICO DE PROTEÍNAS DA VIA INTRÍNSECA DA
APOPTOSE (BAK E BCL-2) EM LESÕES ORAIS DE HISTOPLASMOSE E
PARACOCCIDIODOMICOSE COMPARADAS COM A MUCOSA ORAL NORMAL**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado Acadêmico em Odontologia da Universidade de Uberaba, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Odontologia. Área de Concentração: Clínica Odontológica Integrada.

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Sivieri de Araújo

UBERABA, MG

2023

Catálogo elaborado pelo Setor de Referência da Biblioteca Central UNIUBE

- A24e Andrade, Alex Alves da Costa.
Estudo imunohistoquímico de proteínas da via intrínseca da apoptose (Bak e Bcl-2) em lesões orais de histoplasmose e paracoccidiodomicose comparadas com a mucosa oral normal / Alex Alves da Costa Andrade. – Uberaba, 2023.
60 f. : il., color.
- Dissertação (Mestrado) – Universidade de Uberaba. Programa de Pós-graduação em Odontologia. Área de Concentração em Clínica Odontológica Integrada.
Orientador: Prof. Dr. Marcelo Sivieri de Araújo.
1. Odontologia. 2. Boca – Infecções. 3. Morte celular. 4. Boca – Doenças. I. Araújo, Marcelo Sivieri de. II. Universidade de Uberaba. Programa de Mestrado em Odontologia. Área de Concentração em Clínica Odontológica Integrada. III. Título.

CDD 617.6

ALEX ALVES DA COSTA ANDRADE

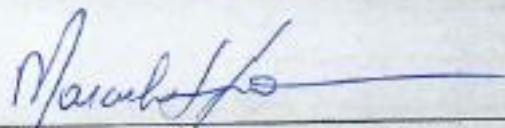
ESTUDO IMUNOHISTOQUÍMICO DE PROTEÍNAS DA VIA INTRÍNSECA DA APOPTOSE (BAK E BCL-2) EM LESÕES ORAIS DE HISTOPLASMOSE E PARACOCCIDIODOMICOSE COMPARADAS COM A MUCOSA ORAL NORMAL

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Odontologia do Programa de Pós-Graduação em Odontologia - Mestrado da Universidade de Uberaba.

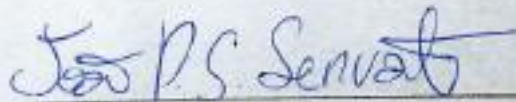
Área de concentração: Clínica Odontológica Integrada

Aprovado (a) em: 10/03/2023

BANCA EXAMINADORA:



Prof. Dr. Marcelo Sivieri de Araújo
Orientador
Universidade de Uberaba



Prof. Dr. João Paulo Silva Servato
Universidade de Uberaba



Prof. Dr. Luiz Fernando Barbosa de Paulo
Universidade Federal de Uberlândia

À minha filha Alice que me alegra e inspira a ser um ser humano melhor, diariamente.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela graça de me conduzir a este caminho. Por trazer força, coragem e determinação para seguir mesmo em momentos de cansaço e dificuldade. Por me cercar de pessoas generosas e sábias.

Aos meus pais e a minha família que sempre me apoiaram e incentivaram ao longo de toda a minha vida escolar e acadêmica.

A minha esposa por estar comigo e dar todo o suporte necessário sempre que precisei. Por compartilhar a vida durante mais de 10 anos trazendo sempre palavras de otimismo, sabedoria e fé.

Ao meu orientador **Prof. Dr. Marcelo Sivieri de Araújo**, que gentilmente aceitou me orientar mesmo me conhecendo tão pouco. Pela paciência, por todo tempo e conhecimento compartilhado. Suas orientações e os seus ensinamentos contribuíram para o meu crescimento.

À **Universidade de Uberaba (UNIUBE)** e à **Pró-reitoria de Pesquisa, Pós-graduação e Extensão (PROPEPE)** pela oportunidade de realizar este curso, pela infraestrutura e apoio concedido.

A todos os **docentes do Curso de Mestrado em Odontologia da Universidade de Uberaba** pela transmissão de conhecimentos e ensinamentos durante este período.

Agradeço a todos que de alguma forma contribuíram, direta ou indiretamente, para a conclusão desta dissertação.

“O importante da educação não é apenas formar um mercado de trabalho, mas formar uma nação com gente capaz de pensar”.

José Arthur Giannotti

RESUMO

A presença de infecções fúngicas tem se tornado comum na prática odontológica. Uma maior compreensão do funcionamento do sistema imune em humanos revelou que a imunidade da mucosa da boca fornece uma resposta única aos patógenos fúngicos. Estudos mostram que a inibição da apoptose pode influenciar no resultado da infecção, afetando a resistência do hospedeiro e aumentando a suscetibilidade à infecção pelo *Histoplasma capsulatum* e pelo *Paracoccidioides brasiliensis*. As razões pelas quais a apoptose contribui para a exacerbação das micoses, ainda não foram delineadas, principalmente na cavidade oral. O objetivo do trabalho foi avaliar a imunexpressão de proteínas da via intrínseca da apoptose (Bcl-2, Bak) em lesões orais de Histoplasmose (HO) e de Paracoccidioidomicose (PCM) quando comparadas com a mucosa oral normal. Foram analisadas 16 biópsias de pacientes com HO, 17 de PCM e 14 de mucosa oral com características histológicas de normalidade. O material foi avaliado por meio da técnica de imuno-histoquímica indireta, onde foram avaliadas de forma semi-quantitativa as células imunomarcadas. A expressão *in situ* de Bak e Bcl-2 foi significativamente maior nas biópsias dos pacientes com HO e PCM quando comparadas com a mucosa oral normal (Kruskal-Wallis, $p = <0,0001$). Os resultados encontrados demonstram haver uma alteração da homeostasia do microambiente nas lesões de HO e PCM em relação a quantidade da Bcl-2 e Bak, expressas na mucosa oral normal, o que corrobora para a hipótese de haver estímulos na cinética da via intrínseca da apoptose, que podem estar exercendo influência na implantação e manutenção do fungo no tecido do hospedeiro, onde os mecanismos utilizados pelo patógeno para escapar da ação do sistema imune, podem contribuir para a piora das micoses na cavidade oral.

Palavras-chave: Apoptose; Cavidade oral; Histoplasmose; Paracoccidioidomicose; Via intrínseca da Apoptose.

ABSTRACT

The presence of fungal fungi has become common in dental practice. A greater understanding of the functioning of the immune system in humans has revealed that the mucosal immunity of the mouth provides a unique response to fungal pathogens. Studies show that apoptosis can influence the outcome of infection, affecting host resistance and increasing susceptibility to infection by *Histoplasma capsulatum* and *Paracoccidioides brasiliensis*. The reasons why apoptosis contributes to the exacerbation of mycoses have not yet been delineated, especially in the oral cavity. The aim of this study was to evaluate the immunoexpression of intrinsic apoptosis pathway proteins (Bcl-2, Bak) in oral lesions of Histoplasmosis (HO) and Paracoccidioidomycosis (PCM) when detected with a normal oral mucosa. There were 16 biopsies from patients with HO, 17 from PCM and 14 from oral mucosa with normal histological characteristics. The material was evaluated using the indirect immunohistochemistry technique, where the immunostained cells were semi-quantitatively evaluated. Bak and Bcl-2 in situ expression was significantly higher in biopsies from patients with HO and PCM when detected with normal oral mucosa (Kruskal-Wallis, $p = <0.0001$). The results showed that there is a change in the homeostasis of the microenvironment in HO and PCM lesions in relation to the amount of Bcl-2 and Bak, expressed in the normal oral mucosa, which corroborates the hypothesis that there are stimuli in the kinetics of the intrinsic pathway of apoptosis, which may be influencing the implantation and maintenance of the fungus in the host tissue, where the mechanisms used by the pathogen to escape the action of the immune system, may contribute to the worsening of mycoses in the oral cavity.

Keywords: Apoptosis; Oral cavity; Histoplasmosis; Paracoccidioidomycosis; Intrinsic pathway of Apoptosis.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 Imunomarcção para Bak e Bcl2 em biópsias de pacientes com mucosa oral normal (A, B), HO (C, D), PCM (E, F). Em (A, B) expressão de Bak e Bcl2 foi leve moderada no citoplasma de células epiteliais e escassa nas células endoteliais e fibroblásticas. Nas imagens da amostras de HO (C e D) a expressão de Bak e Bcl2, foi intensa no citoplasma da células do infiltrado inflamatório, principalmente no interior de macrófagos com o *H. capsulatum* em seu interior. Nas imagens da amostras de PCM (E e F) a expressão de Bak e Bcl2, foi intensa no citoplasma da células do infiltrado inflamatório, principalmente no interior de células gigantes e do infiltrado de células inflamatórias do granuloma com numerosos *P. brasiliensis* em seu interior. (Aumento de 630X). 29
- Figura 2 A - Distribuição das células imunomarcadas de Bak e nas lesões de HO, PCM e no grupo controle. B - Distribuição das células imunomarcadas de Bak e nas lesões de HO, PCM e no grupo controle * Kruskal-Wallis, $p = <0,0001$ 30

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Especificação dos produtos utilizados para cada anticorpo primário.....	26
Tabela 2	Expressão <i>in situ</i> das proteínas Bak e Bcl-2 da via intrínseca da Apoptose na HO, PCM e no grupo controle	30

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CAPFOUNC	Cátedra A de Anatomia Patológica da faculdade de Odontologia da Universidade Nacional de Córdoba – Argentina
Céls/mL	Células por mililitro
FMOCN	Fragmentos de mucosa oral com características de normalidade
HD	Histoplasmose disseminada
HE	Hematoxilina e Eosina
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
HP	Histoplasmose
HO	Histoplasmose oral
IgG	Imunoglobulina G
MCP	Morte Celular Programada
PAS	Ácido Periódico de Schiff
PBS/BSA	Tampão fosfato salino
PCM	Paracoccidiodomicose
SAPCOU	Serviço de Anatomia Patológica do Curso de Odontologia da Universidade de Uberaba
SAPHR	Serviço de Anatomia Patológica do Hospital Rawson da Provincia de Córdoba-Argentina
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
UNIUBE	Universidade de Uberaba

LISTA DE SÍMBOLOS

*	asterisco
g	grama
°C	Grau Celsius
μl	Microlitro
μm	Micrômetro
%	Por cento
®	Registrado
X	Veze de aumento

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	OBJETIVOS	22
2.1	GERAL	22
2.2	ESPECÍFICOS	22
3	HIPÓTESE	23
4	MATERIAL E MÉTODOS	24
4.1	AMOSTRA.....	24
4.2	IMUNOHISTOQUÍMICA	25
4.3	IDENTIFICAÇÃO E ESTUDO MORFOMÉTRICO DA IMUNOMARCAÇÃO	26
4.4	ANÁLISE ESTATÍSTICA	27
5	RESULTADOS	28
5.1	DADOS EPIDEMIOLÓGICOS E CLÍNICOS	28
5.2	DADOS DA IMUNOMARCAÇÃO	28
6	DISCUSSÃO	31
7	CONCLUSÃO	35
	REFERÊNCIAS	36
	ANEXO 1 - APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA DA UNIUBE	47
	APÊNDICE 1 - MODELO DO TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE ESCLARECIDO (TCLE)	55

1. INTRODUÇÃO

Histoplasmose:

A Histoplasmose (HP) é uma doença sistêmica descrita primeiramente por Samuel Darling em 1905, sendo causada pelo fungo dimórfico *Histoplasma capsulatum* (*H. capsulatum*), causando variadas manifestações clínicas. Os fungos são esporos de forma micélica que viajam pelo ar; entretanto no organismo humano estes se encontram na fase de levedura (GOODWIN; DES PREZ, 1978; MILLER *et al.*, 1982; BOUTROS *et al.*, 1995; NEGRONI, 1999).

É uma doença prevalente em regiões das Américas do Norte, Central, Latina e África, sendo tipicamente encontrada em áreas rurais com temperatura tropical (MIGNOGNA *et al.*, 2001).

A doença é adquirida pela inalação de partículas de poeira do solo, contaminadas por fezes de pássaros e morcegos que contém esporos na forma infecciosa do fungo em áreas quentes, úmidas e em ambientes que contém alta concentração de ureia (SOUSA; MUNERATO, 2017).

O *H. capsulatum* entra no organismo predominantemente por via inalatória, onde a quantidade de inóculo e o estado imunológico do hospedeiro influenciam na apresentação e evolução da doença. Se o indivíduo for imunossuprimido ou a exposição tiver sido maciça, serão apresentadas formas de maior severidade, como descrito em pacientes com linfoma, infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV), transplante de órgãos e tratamento imunossupressor (FERREIRA *et al.*, 2002; FLOR *et al.*, 2003; TORRES RODRIGUEZ; SEGURA-ROCA; COOL, 2009).

A doença acomete primariamente os pulmões, no entanto, pode haver o envolvimento da pele e mucosa oral, se caracterizando como uma forma de Histoplasmose Disseminada (HD) (HERNANDEZ; MORGENSTERN; WEISS, 1986). Na América Latina, sítios primários para as lesões cutâneas são os braços, face e tronco (KLEIN *et al.*, 2016).

Na HD muitas lesões orais ocorrem, podendo afetar várias áreas da cavidade oral (VIDYANATH *et al.*, 2013) mas na forma isolada, são raras (YOUNG *et al.*, 1972). Lesões de Histoplasmose Oral (HO) estão presentes em 30% a 50% dos pacientes com HD (FERREIRA *et al.*, 2002). Estas podem ocorrer em quase toda parte da

mucosa oral, como a língua, palato e mucosa jugal, sendo os locais mais comuns (AKIN *et al.*, 2011). Como diagnóstico diferencial das lesões orais, devem ser incluídas doenças como a Paracoccidioidomicose e o Carcinoma de Células Escamosas (YOUNG *et al.*, 1972; FERREIRA *et al.*, 2002).

A HD é mais prevalente em homens (PUTOT *et al.*, 2015), bem como, em pacientes adultos, idosos ou imunocomprometidos, como os HIV positivos (COBB *et al.*, 1989; RODRIGUEZ-CERDEIRA *et al.*, 2014). É uma infecção micótica oportunista potencialmente fatal entre os pacientes com HIV em áreas de alta prevalência da infecção, especialmente em indivíduos com uma contagem de linfócitos CD4 de menos de 150 céls/mL (SAROSI; JOHNSON, 1992; KAUFFMANN, 2007; SOLARI *et al.*, 2007).

Na HP o exame microscópico exibe um infiltrado difuso de macrófagos ou, na maioria das vezes, acúmulos de macrófagos organizados em granulomas. As células gigantes multinucleadas normalmente são vistas junto com a inflamação granulomatosa. O microrganismo causador é difícil de ser identificado nos cortes de rotina corados com hematoxilina e eosina; no entanto, corantes especiais, como os métodos PAS e metamina de prata de Grocott-Gomori, demonstram imediatamente as leveduras típicas medindo de 1 a 3 µm de *H. capsulatum* (NEVILLE *et al.*, 2016).

Paracoccidioidomicose:

Adolpho Lutz, em 1908 observando lesões encontradas na boca de alguns pacientes foi o primeiro a descrever as principais considerações sobre o fungo causador da Paracoccidioidomicose (PCM). Esta micose também ficou conhecida como blastomicose brasileira, blastomicose sul-americana e moléstia de Lutz (ARAÚJO, 1999).

A espécie *Paracoccidioides ssp.* É representada por fungos dimórficos termais que, em sua forma saprófita, vivem livre na natureza, provavelmente nas plantas, no solo e na água (ARAÚJO, 1999). Esta é a micose sistêmica mais importante da América Latina, Brasil, Venezuela e Argentina, sendo estes os países com o maior número de pacientes (OLIVEIRA *et al.*, 2015).

Devido aos avanços nos estudos filogenéticos de diferentes *Paracoccidioides*, esta espécie foi dividida em dois gêneros: o *Paracoccidioides brasiliensis* (*P.*

brasiliensis) e o *Paracoccidioides lutzii* (*P. lutzii*). Estes fungos expressam fatores que facilitam sua sobrevivência em condições adversas dentro das células e tecidos e como tal, beneficiam o desenvolvimento da doença (CASADEVALL; PIROFSKI, 1999).

A PCM é uma micose endêmica no Brasil, responsável pela maior causa de mortalidade e a oitava mais importante causa de mortalidade por doenças infecciosas crônicas, atingindo taxas de 0,9 - 1 morte por 1.000.000 de habitantes (COUTINHO *et al.*, 2002; BOCCA *et al.*, 2013). Estima-se que 3.360 novos casos ocorram por ano, refletindo as altas taxas de morbidade e mortalidade atribuída a PCM no Brasil (BLOTTA *et al.*, 1999; MARTINEZ, 2010; BELLISSIMO-RODRIGUES; MACHADO; MARTINEZ, 2011; LOTH *et al.*, 2011; DE SOUZA *et al.*, 2014; VIEIRA *et al.*, 2014).

Estudos ecoepidemiológicos têm demonstrado a ocorrência da micose em várias regiões do Brasil, ressaltando a importância desta doença no país (OLIVEIRA *et al.*, 2015). No Brasil as regiões endêmicas para a PCM são: São Paulo, Rio de Janeiro, Minas Gerais, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul (YASUDA *et al.*, 2006; GONDAK *et al.*, 2012).

A PCM é classificada de acordo com sua história natural e condições clínicas do paciente nas formas aguda ou subaguda e crônica. As manifestações clínicas dependem da virulência da cepa infectante do fungo, do grau e do tipo de resposta imunológica desencadeada, dos tecidos infectados e, especificamente, de características intrínsecas do seu hospedeiro (GONDAK *et al.*, 2012).

A forma crônica, também denominada “do adulto”, é a mais comum na prática clínica. Desenvolve-se a partir do complexo primário pulmonar ou da reativação de foco quiescente pulmonar ou metastático. A maior parte dos casos tem início nos pulmões e progride lentamente. Geralmente, é observada em adultos do sexo masculino com mais de 30 anos de idade. Apresenta quadro clínico de duração prolongada, normalmente acima de seis meses de história clínica, e se expressa frequentemente pelo comprometimento pulmonar e tegumentar (cutâneo e/ou mucoso) (VILLALBA, 1998).

As manifestações bucais na PCM são muito importantes, uma vez que 30 a 50% destas ocorrem como queixa principal. Tais manifestações afetam principalmente, os lábios, bochechas, soalho da boca, língua e faringe, podendo invadir várias áreas simultaneamente, como lesões inflamatórias granulomatosas

crônicas e progressivas (SPOSTO *et al.*, 1993; TOLENTINO *et al.*, 2010; BRAZÃO-SILVA *et al.*, 2011; AZENHA *et al.*, 2012; ABREU E SILVA *et al.*, 2013; NEVILLE *et al.*, 2016).

A capacidade do *Paracoccidioides* de colonizar seus hospedeiros é altamente dependente de mecanismos que facilitem o fungo em eliminar as barreiras físicas e imunológicas impostas pelo hospedeiro, onde os patógenos se aderem às células hospedeiras, tornando a colonização bem-sucedida (MONTENEGRO; FRANCO, 1994; FORTES *et al.*, 2011).

Nos tecidos do hospedeiro a invasão é um evento complexo, geralmente envolvendo vários mecanismos de regulação da homeostase celular e a expressão de vários diferentes fatores de virulência, que permitem o desenvolvimento de uma micose sistêmica com extensão profunda ao organismo hospedeiro (OLIVEIRA *et al.*, 2015).

Na PCM é frequente a ocorrência de distúrbios imunorregulatórios, manifestando-se com graus variados, exibindo depressão da imunidade mediada por células, ativação deficiente de leucócitos polimorfonucleares e macrófagos, ativação policlonal de linfócitos B e títulos elevados de anticorpos da classe IgG (ALCÂNTARA, 2002).

O substrato inflamatório na PCM é caracterizado pela presença de uma reação inflamatória granulomatosa e supurativa, com destaque para a formação do granuloma paracoccidióidico. Como vários tipos celulares estão envolvidos na inflamação granulomatosa da PCM, há a necessidade de existir um meio de comunicação entre estas células, que é realizado por mediadores moleculares denominados de citocinas. Estas dirigem todas as etapas da resposta inflamatória e do reparo tecidual (ALCÂNTARA, 2002; ARAÚJO, 2014, ARAÚJO *et al.*, 2015).

Apoptose celular:

Em organismos pluricelulares, a apoptose é indispensável para o seu desenvolvimento e homeostase (QUARLERI; CEVALLOS; DELPINO, 2021). As primeiras observações da morte celular programada (MCP) datam de 1842, quando Karl Vogt observou que durante a metamorfose do sapo, a notocorda é eliminada por morte celular. No entanto, a pesquisa sobre a morte celular programada começou em

1972, quando o termo apoptose começou a ser usado por John Keer e colaboradores. A apoptose foi diferenciada da necrose como uma forma definida de MCP com alterações morfológicas particulares (KERR; WYLE; CURRIE, 1972).

A apoptose ocorre em várias condições fisiológicas e patológicas. Como processo fisiológico, a apoptose é fundamental para a homeostase tecidual, incluindo a remodelação tecidual e a regulação das respostas imunológicas (SINGH; LETAI; SAROSIEK, 2019).

Ao longo dos últimos 30 anos, os mecanismos moleculares que regulam a apoptose têm sido amplamente investigados em vários organismos. Atualmente é sabido que a apoptose consiste em dois subtipos principais, chamados apoptose extrínseca e intrínseca. Em ambas as vias, os principais reguladores são as caspases, a família Bcl2, a proteína P53, a família do fator de necrose tumoral (TNF) e inibidores de proteínas de apoptose (IAPs) (QUARLERI; CEVALLOS; DELPINO, 2021).

A via intrínseca da apoptose (também chamada mitocondrial ou Bcl2 regulada) requer ativação das Caspases citosólicas por meio da liberação do citocromo c mitocondrial e envolve a regulação da permeabilização da membrana mitocondrial externa por proteínas família Bcl-2. As proteínas Bcl-2 que promovem a morte celular, incluem aquelas com vários domínios de BH (Bax, Bak) ou uma única sequência BH3 (Bad, Bik, Bid, Puma, Bim, Bmf e Noxa) (MARTINOU; YOULE, 2011).

Várias proteínas de Bcl-2 com domínio BH possuem ação anti-apoptóticas, estas incluem as proteínas Bcl-2, Bcl-xL e Bcl-w. Proteínas pró-apoptóticas como o Bax e o Bak, oligomerizam as mitocôndrias alterando a permeabilidade da membrana permitindo a liberação do citocromo c no citosol (PORTT *et al.*, 2011).

Durante a apoptose intrínseca, as mitocôndrias recebem danos suficientes para segregarem proteínas que existem no espaço inter membranoso das mitocôndrias. Este caminho apoptótico é mediado por membros da família Bcl2 (QUARLERI; CEVALLOS; DELPINO, 2021).

A família Bcl2 regula de perto a permeabilização da membrana externa da mitocôndria. O processo envolve membros pró-apoptóticos, como o Bcl2x, Bax, Bak/Bak1, e membros anti-apoptóticos, como o Bcl2, BclxL e BclLb (CZABOTAR *et al.*, 2014; SINGH; LETAI; SAROSIEK, 2019).

O Bcl-2 e Bcl-xL inibem a apoptose, pois previnem a liberação de citocromo c e são chamados de reguladores anti-apoptóticos. Por outro lado, Bax, Bid e Bak são

proteínas pró-apoptóticas (HENGARTNER, 2000). A expressão de Bcl-2 é capaz de inibir a geração de espécies reativas do oxigênio e a acidificação intracelular, bem como, estabilizar o potencial de membrana da mitocôndria (VANDER HEIDEN; THOMPSON, 1999).

A ativação de Bax e Bak é conhecida como um passo sem retorno, que inevitavelmente conduz à morte celular. Isso se deve, em parte, ao lançamento de citocromo c no citosol mediado por Bax e Bak. A presença de citocromo c é essencial para manter a cadeia respiratória mitocondrial e seu potencial de membrana para limpar espécies reativas de oxigênio. No citoplasma, o citocromo c ativa as vias de sinalização e as caspases (LIU *et al.*, 1996; ZOU *et al.*, 1997; HAKEM *et al.*, 1998; LI *et al.*, 2000). Em seguida, a Caspase 9 se ativa clivando a Caspase-3, -6, e -7 entre outras, induzindo a ação de DNases, inativando proteínas envolvidas na reparação do DNA (KUIDA *et al.*, 1998; YU *et al.*, 2002).

Relação da apoptose celular com doenças fúngicas:

O desencadeamento ou a prevenção da apoptose pode ser um passo crítico no desenvolvimento de processos infecciosos (STRASSER; CORY; ADAMS, 2011). Esta tem sido observada como uma resposta a uma variedade de infecções e pode ser mediada por variedade de determinantes de virulência codificados pelos patógenos, o que favorece a eliminação de células do sistema imune ou evasão da resposta de defesa do hospedeiro, que tentam agir para eliminar a infecção (WEINRAUCH; ZYCHLINSKY, 1999).

Um grande número de patógenos podem desregular a apoptose, buscando uma ativação da morte celular programada alternativa, criando um mecanismo de “backup” que permite que células alteradas alertem as células do sistema imune para a presença de um patógeno no organismo (JORGENSEN; RAYAMAJHI; MIAO, 2017).

Alguns patógenos são capazes de inibir a morte celular para sobreviver e multiplicar dentro da célula hospedeira; e outros induzem a morte celular como um mecanismo por escapar de uma célula e infectar uma célula adjacente (BEHAR; DIVANGAHI; REMOLD, 2010; LAMKANFI; DIXIT, 2010).

Em algumas circunstâncias patógenos que conseguem inibir a apoptose, podem ter como alvo, as mitocôndrias de células imunes ou epiteliais que atuam como

barreira para a prevenção da infecção, induzindo a apoptose intrínseca e eliminando estas células ou paralisando suas funções. Uma vez que a apoptose geralmente não provoca respostas inflamatórias, este pode ser o caminho preferido por alguns patógenos, em vez de outras formas de morte celular, para o benefício de sua sobrevivência (BIELASZEWSKA *et al.*, 2017).

O uso da apoptose por microrganismos em benefício de sua sobrevivência, sugere uma co-evolução entre os agentes infecciosos e o sistema imune. No qual os patógenos destroem mecanismos de defesa induzindo a morte de células imunes por apoptose, enquanto o sistema imunológico tenta desenvolver mecanismos para reconhecer células danificadas pela infecção e alertar outras células para a presença de agentes infecciosos (QUARLERI; CEVALLOS; DELPINO, 2021).

A entrada de um fungo nas células hospedeiras é iniciada quando estes obtenham acesso à superfície da célula, que então gera sinais para induzir sua internalização. Este processo é regulado geneticamente e bioquimicamente por meio da apoptose, estando este processo associado com a patogênese de várias doenças (THOMPSON, 1995).

A capacidade dos agentes patogênicos, como o *P. brasiliensis*, o *H. capsulatum* e outros fungos de induzir apoptose em fagócitos pode ser um fator importante na virulência, reduzindo os mecanismos de defesa do hospedeiro, e usando a apoptose do fagócito em proveito próprio, o que permitiria sua sobrevivência intracelular em células epiteliais (DEL VECCHIO *et al.*, 2009; ASHIDA *et al.*, 2011).

A apoptose parece exercer um importante papel dentre os muitos elementos imunológicos que modulam o curso da infecção pelo *H. capsulatum*, onde a inibição da apoptose pode influenciar o resultado da infecção com patógenos intracelulares e extracelulares e/ou modular a resposta inflamatória (GAVRILESCU; DENKERS, 2003; CARRERO; CALDERON; UNANUE, 2004).

Proteínas pró-apoptóticas da família Bcl2 são necessários para a cinética normal e extensão da morte de células hospedeiras como os macrófagos, durante a infecção por *H. capsulatum*. Isso decorre da secreção de proteína Cbp1 dependente da união ao cálcio celular e da ativação de Caspases mediadas por Bax e Bak (ISSAC *et al.*, 2015). A manipulação das vias de morte celular dos macrófagos, podem induzir a morte desses fagócitos, sendo este mecanismo usado pelo fungo, para aumentar a virulência em infecções pelo *H. capsulatum* (DEEPE JR; BUESING, 2012).

O esclarecimento dos mecanismos, receptores e fatores microbianos envolvidos na apoptose poderá revelar novos “insights” sobre o relação hospedeiro-patógeno e novos potenciais alvos terapêuticos. O presente trabalho contribuiu no conhecimento sobre a apoptose na sua via intrínseca em infecções fúngicas orais profundas mais prevalentes, fato esse, pouco estudado nos dias atuais.

2. OBJETIVOS

2.1. GERAL

- Avaliar a imunexpressão de proteínas da via intrínseca da apoptose em lesões orais de PCM crônica e HO, quando comparadas a mucosa oral com características de normalidade.

2.2. ESPECÍFICOS

- Descrever os aspectos clínicos e patológicos em amostras de pacientes com PCM e HO;
- Avaliar *in situ* a imunexpressão de proteínas da via intrínseca da apoptose (Bcl-2, Bak);
- Comparar a imunexpressão das proteínas da via intrínseca da apoptose em lesões de HO e PCM e na mucosa oral com características de normalidade.

3. HIPÓTESE

O conhecimento da expressão das proteínas das vias intrínsecas da apoptose nas células do infiltrado inflamatório envolvidas na resposta contra o *P. brasiliensis* e o *H. capsulatum*, pode auxiliar na elucidação dos mecanismos envolvidos na disseminação dos patógenos e indução da imunossupressão, favorecendo a disseminação destes, ou ainda, beneficiar na erradicação ou a permanência e sobrevivência deste agentes infecciosos no hospedeiro, podendo ser utilizado como um marcador de gravidade para estas doenças.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Amostra:

Após a aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade de Uberaba (CEP-UNIUBE) (CAAE:13675019.7.0000.5145 e 88456318.3.0000.5145) (Anexo 1) foram coletados os dados referentes a 16 pacientes com resultados de exame anatomopatológico com diagnóstico de HO, 17 pacientes com resultados de exame anatomopatológico com diagnóstico de PCM oral e de 14 fragmentos de mucosa oral com características de normalidade (FMOCN). Sendo a amostragem não probabilística por critério de conveniência, devido a disponibilidade imediata dos casos.

Os casos de PCM e FMOCN foram obtidos do Serviço de Anatomia Patológica do Curso de Odontologia da Universidade de Uberaba (SAPCOU), e os casos de HO foram obtidos do Serviço de Anatomia Patológica do Hospital Rawson da Província de Córdoba (SAPHR) e da Cátedra de Anatomia Patológica A da Faculdade de Odontologia da Universidade Nacional de Córdoba – Argentina (CAPFOUNC), no período de 1995 a 2019.

Para cada caso de HO, PCM e de FMOCN diagnosticado no SAPCOU, SAPHR e na CAPFOUNC, foram fornecidas as seguintes informações: número do prontuário, número do laboratório, idade, sexo genético, cor de pele, tipo de biópsia, localização e diagnóstico histopatológico, sendo que, os dados foram fornecidos, por meio de uma planilha eletrônica montada no *Software Excel*[®].

De posse dos números dos prontuários dos casos de HO, PCM e de FMOCN diagnosticados no SAPCOU, SAPHR e na CAPFOUNC, os prontuários foram levantados para que fossem obtidas informações que permitissem o contato para com estes pacientes, a fim de que, estes assinassem o Termo de Consentimento Livre Esclarecido (TCLE) (Apêndice 1) autorizando a utilização no presente projeto, do material de biópsia estocado em blocos de parafina.

Após a assinatura do TCLE pelos 47 pacientes que compuseram a amostra, autorizando a utilização do material de biópsia estocado em parafina, os blocos foram então encaminhados para a realização das colorações histoquímicas e imuno-histoquímicas.

As técnicas de histoquímica e imunohistoquímica foram realizadas nas dependências da Universidade de Uberaba, no Serviço de Anatomia Patológica do Curso de Odontologia e no Laboratório de Pesquisa em Biologia Celular e Molecular localizados no Campus Aeroporto da Universidade de Uberaba, salas 2D31 e 52.

Os blocos de parafina selecionados foram cortados em micrótomo com cortes seriados de 5µm de espessura. Nas lâminas foram realizadas a coloração histoquímica de Hematoxilina e Eosina (HE) (MICHALANY, 1980) e em seguida foi realizada a técnica imuno-histoquímica indireta.

4.2 Imuno-histoquímica:

A técnica de imuno-histoquímica indireta foi realizada nas dependências da Universidade de Uberaba, no Serviço de Anatomia Patológica do Curso de Odontologia e no Laboratório de Pesquisa em Biologia Celular e Molecular localizados no Campus Aeroporto da Universidade de Uberaba, sala 2D52.

Inicialmente houve a preparação das lâminas que receberiam os cortes histológicos, as quais foram mergulhadas em solução de gelatina (15 g de gelatina, 1,5g de sulfato de cromo potássio e 3 litros de água destilada), por duas horas. A partir dos blocos de parafina foram obtidos cortes histológicos de 3 µm de espessura, sendo estes estendidos sobre lâmina previamente gelatinizada, sendo estes incubados em estufa a 37°C durante 24 horas.

As lâminas foram desparafinizadas em quatro banhos de xilol cada um por 10 minutos, em seguida passadas por dois banhos de álcool absoluto, um banho de álcool 95%, um banho de álcool 70% com tempo de 5 minutos cada banho, e depois mergulhadas por 5 minutos em água ultrapura para tirar o excesso do álcool.

Para recuperação dos antígenos, as lâminas foram colocadas em Banho Maria a 90°C em ácido cítrico 0.01 molar pH=6,0 onde permaneceram por 30 minutos, após esse tempo as lâminas foram retiradas e permaneceram por 10 minutos ainda dentro da solução de ácido cítrico. Após o resfriamento, para o bloqueio de ligações inespecíficas, as lâminas foram secas uma a uma e então acrescentados 100µl de PBS/BSA 2% em cada corte durante 30 minutos.

Após secar as lâminas uma a uma, o anticorpo primário foi diluído em PBS/BSA 2% de acordo com as especificações de cada anticorpo e colocado nas lâminas onde

permaneceram em câmara úmida por 2 horas. Em seguida as lâminas foram lavadas durante 5 minutos por 4 vezes com PBS e Tween 20, a 0,05%. Após a lavagem, as lâminas foram imersas na solução de água oxigenada 30% e metanol por 10 minutos e lavadas novamente durante 5 minutos por 4 vezes com PBS e Tween 20, a 0,05%.

Em seguida as lâminas foram lavadas duas vezes com PBS e Tween 20, a 0,05% durante 5 min cada para retirada do excesso do anticorpo primário, e incubadas com anticorpo secundário conjugado a biotina (REVEAL® – SRPINGBIO = Pleasanton, CA, USA) durante 30 minutos. Posteriormente, foi retirado o excesso do anticorpo secundário com lavagem em PBS e colocado um complexo de streptoavidina-biotina que foi incubado por mais 30 minutos em temperatura ambiente.

As lâminas foram lavadas com tampão PBS e Tween 20, a 0,05%, e secas onde foi acrescentada a solução reveladora, contendo 1 ml de tampão Tris-HCl (pH 7,2), 1 comprimido de diaminobenzidina (DAB) (Sigma, St Louis, MO-USA) e 25µl de água oxigenada. A reação foi interrompida lavando-se em água corrente.

Posteriormente foi realizada a coloração de fundo com hematoxilina e a montagem das lâminas com Entelan®, e em seguida a análise morfométrica das células positivas foi realizada. A coloração de fundo com hematoxilina e a montagem das lâminas com Entelan® foi realizada, seguida da análise morfométrica das células positivas.

Tabela 1- Especificação dos produtos utilizados para cada anticorpo primário

Anticorpo	Fabricante	Código
Anticorpo anti-Bak humano	ST JOHN'S LAB****	STJ112652
Anticorpo anti-Bcl-2 humano	BIORBYT***	ORB418681

BIORBYT*** = San Francisco, CA, USA; ST JOHN'S LAB**** = University Way, London, UK.

4.3 Identificação e estudo morfométrico da imunomarcção:

Na avaliação morfométrica das lâminas de imunohistoquímica, o número de células marcadas com positividade foi realizado de forma semi-quantitativa, conforme descrito por Fregnani e colaboradores em 2009; Kellermann e colaboradores em 2008 e por Henriques e colaboradores em 2011. Esta ocorreu a partir das imagens dos

cortes histológicos capturadas por microscópio Zeiss Axioskop 2 (Carl Zeiss, Gottingen, Germany) equipado com uma câmera digital AxioCam e software AxioVision (Carl Zeiss, Gottingen, Germany) com aumento de 400X. Para auxiliar na contagem e análise das células imunomarcadas as imagens obtidas dos cortes foram analisadas como auxílio do software “Image J” (National Institutes of Health, USA). Foi analisada a presença de células imunomarcadas no tecido conjuntivo de cada corte capturado. Esta foi classificada como negativa (0), escassa ou < 50% de células imunomarcadas e abundante ou > 50% de células imunomarcadas.

4.4 Análise estatística:

A análise estatística foi realizada por meio do programa GraphPad Prisma 7.0. A análise das variáveis foi feita pelo teste de Dunn e Kruskal-Wallis, onde resultados foram considerados estatisticamente significativos quando a probabilidade foi menor que 5% ($p < 0,05$).

5. RESULTADOS

5.1 Dados epidemiológicos e clínicos:

Dos 16 casos de HO selecionados para este trabalho, 14 (87,5%) eram do sexo masculino, todos (100%) de etnia branca, com idade variando de 24 a 59 anos, onde as localizações preferenciais das lesões foram: língua (43,75%), o palato duro (37,5%), mucosa jugal (6,25%), palato mole (6,25%) e gengiva (6,25%).

Dos 17 casos de PCM oral na forma crônica selecionados para este trabalho, 100% eram do sexo masculino, etnia branca, com idade variando de 32 a 89 anos, onde as localizações preferenciais das lesões foram: o palato (20%), língua (32%), mucosa jugal (18%), lábio inferior (20%) e região retromolar (10%).

Para os casos controles que tiveram diagnóstico histopatológico de mucosa oral com características de normalidade (14 casos), 57,14% eram pacientes do sexo masculino, 100% possuíam etnia branca, com idade mais prevalente variando entre 18 a 73 anos, onde as localizações preferenciais das lesões foram: língua, lábio inferior e mucosa jugal representaram individualmente 21,4% cada, palato duro e região retromolar (7,14%) e gengiva (14,28%).

5.2 Dados da imunomarcação:

Nas células do grupo controle, a imunomarcação para Bak foi moderada no citoplasma de células epiteliais e escassa nas células endoteliais e fibroblásticas. Já as células coradas por Bcl-2, a imunomarcação foi intensa tanto no citoplasma de células epiteliais, como nas células endoteliais e fibroblásticas das células da mucosa oral.

No grupo de pacientes com HO, as células exibiram a expressão da proteína Bak e Bcl-2 de forma intensa no citoplasma de células mononucleares e de forma exuberante no citoplasma de macrófagos que continham o *H. capsulatum* no seu interior.

No grupo de pacientes com PCM, as células exibiram a expressão da proteína Bak e Bcl-2 de forma intensa no citoplasma de células mononucleares e no citoplasma

de células gigantes multinucleadas que estavam próximas ao *P. brasiliensis*, tanto nos granulomas organizados e não organizados.

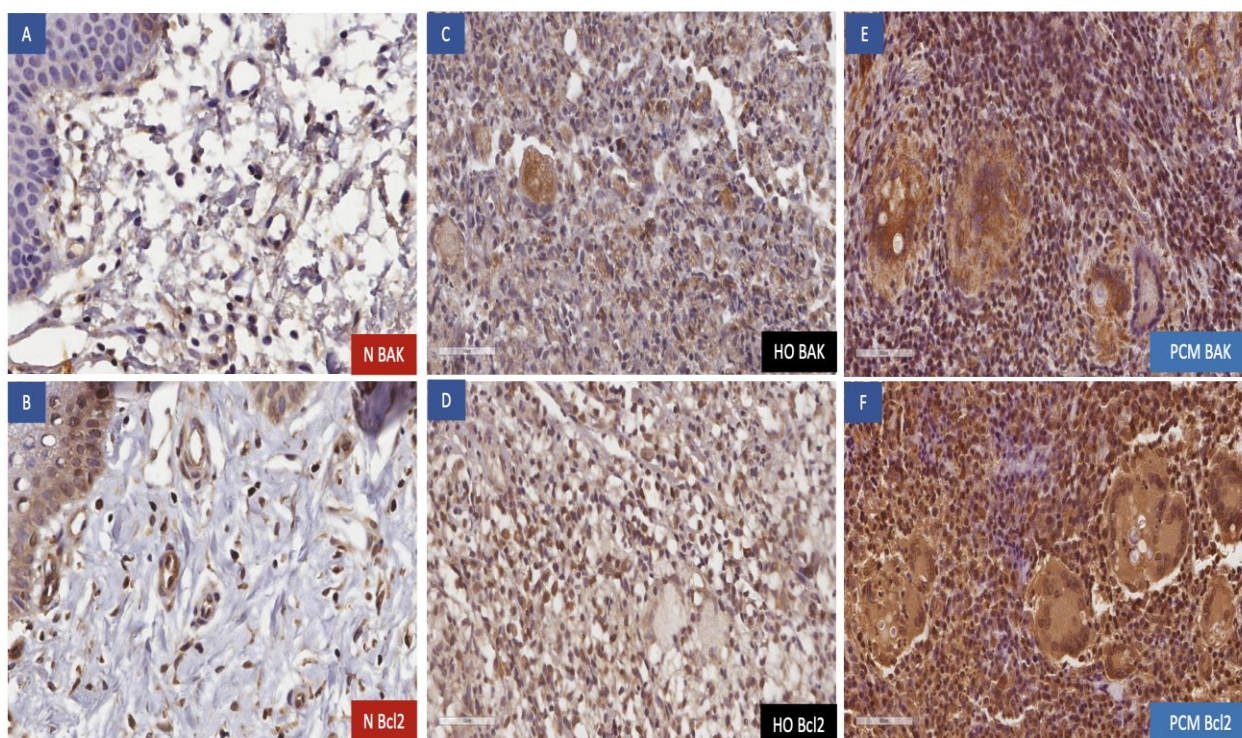


Figura 1. Imunomarcação para Bak e Bcl2 em biópsias de pacientes com mucosa oral normal (A, B), HO (C, D), PCM (E, F). Em (A, B) expressão de Bak e Bcl2 foi leve moderada no citoplasma de células epiteliais e escassa nas células endoteliais e fibroblásticas. Nas imagens da amostras de HO (C e D) a expressão de Bak e Bcl2, foi intensa no citoplasma da células do infiltrado inflamatório, principalmente no interior de macrófagos com o *H.capsulatum* em seu interior. Nas imagens da amostras de PCM (E e F) a expressão de Bak e Bcl2, foi intensa no citoplasma da células do infiltrado inflamatório, principalmente no interior de células gigantes e do infiltrado de células inflamatórias do granuloma com numerosos *P. brasiliensis* em seu interior. (Aumento de 630X).

Na análise dos resultados do estudo morfométrico, o teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis demonstrou haver diferença significativa na imunoexpressão de Bak e Bcl-2 em relação aos grupos estudados. Os valores de p das proteínas testadas e a quantificação das células imunomarcadas que variou de escassa a intensa podem ser apreciados na Tabela 2 e na Figura 2 A e B.

Os resultados apresentados na tabela 2 e nas figuras 1 e 2 demonstram haver uma alteração da homeostasia do microambiente nas lesões de HO e PCM oral em relação a quantidade de proteínas intrínsecas anti-apoptótica (Bcl-2) e pró-apoptótica (Bak) quando comparado a mucosa oral com características de normalidade (grupo controle).

Tabela 2- Expressão *in situ* das proteínas Bak e Bcl-2 da via intrínseca da Apoptose na HO, PCM e no grupo controle.

Proteínas	n (%)			P value *
	Controle	HO	PCM	
Bak				<0,0001*
0%	12 (85,72%)	0 (0%)	0 (0%)	
1% - 50%	2 (14,28%)	5 (31,25%)	12 (70,58%)	
> 50%	0 (0%)	11 (68,75%)	5 (29,42%)	
Bcl-2				<0,0001*
0%	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	
1% - 50%	13 (92,85%)	0 (0%)	7 (41,18%)	
> 50%	1 (7,15%)	16 (100%)	10 (58,82%)	

*Os valores foram significativos quando a probabilidade foi menor de 5% ($p < 0,05$). **HO**: Histoplasmosse oral. **PCM**: Paracoccidiodomicose.

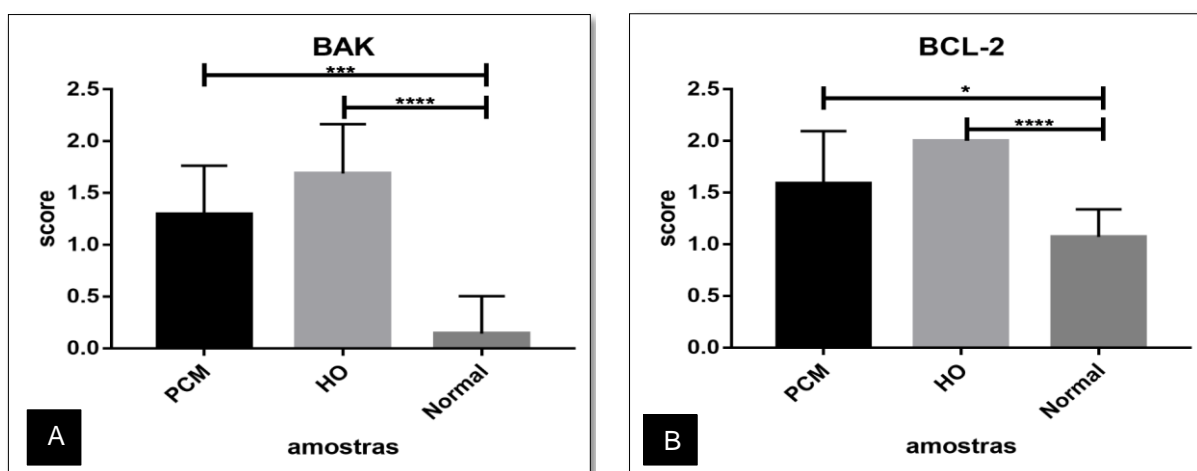


Figura 2 – A - Distribuição das células imunomarcadas de Bak e nas lesões de HO, PCM e no grupo controle. **B** - Distribuição das células imunomarcadas de Bcl-2 e nas lesões de HO, PCM e no grupo controle * Kruskal-Wallis, $p = < 0,0001$.

6. DISCUSSÃO

No presente estudo, houve maior prevalência de pacientes do sexo masculino, adultos e de etnia branca. Esse quadro está de acordo com achados anteriores de estudos sobre micoses profundas da cavidade oral (BICALHO *et al.*, 2001 e MARTINEZ *et al.*, 2015; SHINKANAI-YASUDA *et al.*, 2017) que demonstraram uma predileção da infecção por PCM em trabalhadores rurais do sexo masculino que exerciam atividades correlacionadas ao campo, como terraplanagem, jardinagem e cultivo de vegetais.

Costa *et al* 2020, através de uma revisão sistemática analisou 25 artigos de acordo com o *Prisma Guedelines*, e concluiu que a PCM em mulheres é rara, normalmente associada a alterações sistêmicas como: infecção pelo HIV, gravidez ou depressão. Situação verificada em nosso estudo, onde a maioria da amostra pertencia ao sexo masculino.

De acordo com os dados coletados, foi observado que o sítio mais comumente afetado pelas lesões de PCM e HO foi a língua, divergente dos estudos de Arruda *et al.*, 2018, que realizaram um estudo multicêntrico com análise de 320 casos de lesões orais de PCM em que houve prevalência de lesões na gengiva inserida e na mucosa alveolar, respectivamente. Entretanto, os dados demonstrados por Vidyanath *et al.*, 2013, concordam com os resultados desta pesquisa concluindo que a localização mais frequente das lesões orais de HO ocorre na língua.

Em relação ao processo de infecção pelos patógenos estudados, percebe-se que a indução de apoptose em células do hospedeiro tem sido associada a patogênese dos fungos. Os estudos de Mendes-Giannini em 2004 e Del Vecchio em 2009, demonstraram um maior número de células apoptóticas através da exposição ao *P. brasiliensis* sugerindo como requisito para sobrevivência do fungo, desencadear apoptose nas células epiteliais. O aumento da imunoexpressão das moléculas Bak e Bcl-2 encontrados no presente estudo reforça o desequilíbrio da apoptose celular nessa doença.

Vários estudos, demonstram que o *P. brasiliensis* e o *H. capsulatum* induzem a apoptose quando estes invadem as células epiteliais ou fagócitos, buscando aumentar suas vantagens quanto a sua sobrevivência intracelular (CACERE *et al.*, 2002; SOUTO *et al.*, 2003; MENDES-GIANNINI *et al.*, 2004; VERÍCIMO *et al.*, 2006;

KETELUT-CARNEIRO *et al.*, 2015). Como os mecanismos de indução da apoptose, ainda não foram totalmente esclarecidos principalmente nas lesões orais de pacientes acometidos pela PCM e HO, compreender a relação entre o aumento da imunoexpressão de moléculas pró e anti-apoptóticas nessas infecções, pode ser relevante para elucidar os mecanismos de sobrevivência destes fungos na cavidade oral. No presente trabalho os resultados encontrados corroboraram com um maior conhecimento sobre a apoptose na PCM oral e HO.

Isaac *et al* em 2015, demonstraram que a apoptose desempenha um papel importante na célula hospedeira mediada pelo *H. capsulatum*, demonstrando o aumento das proteínas da família Bcl-2, Bak e Bax, que contribuiu para a morte da célula hospedeira. Os dados encontrados no presente estudo demonstraram o aumento na expressão das proteínas Bak e Bcl-2, o que está em consonância com os achados destes autores, indicando que a apoptose celular pela via intrínseca contribui com a manutenção da infecção de macrófagos pelo *H. capsulatum*.

Os dados encontrados no presente estudo revelaram a imunoexpressão aumentada de moléculas apoptóticas da via intrínseca nas infecções induzidas pelo *H. capsulatum* e *P. brasiliensis*. Fato semelhante foi constatado em trabalhos experimentais com camundongos, em que o *P. brasiliensis* influenciou na modulação da apoptose de células epiteliais A549 pela imunoexpressão de moléculas apoptóticas como Bcl-2, Bak e CASP-3, confirmando a alteração nas vias da apoptose pelo fungo, que pode sobreviver e se espalhar para outras partes do corpo (DEL VECCHIO *et al.*, 2009). Silva *et al.*, 2015, mostraram que as adesinas 14-3-3 e a gp43 possuem forte influência neste processo.

Estudos experimentais anteriores, demonstraram que a expressão do Bcl-2 foi significativamente reduzida nas células T dos pacientes com PCM em comparação com os níveis dos controles (CACERE *et al.*, 2009). Em pacientes com sepse de origem bacteriana e fúngica, os linfócitos apresentam taxas de apoptose alteradas, onde os níveis de Bcl-2 mostram-se reduzidos (HOTCHKISS *et al.*, 2005). No entanto, os dados encontrados nesta pesquisa apontaram resultado distinto. A imunoexpressão de Bcl-2 apresentou-se aumentada nas células do infiltrado inflamatório tanto nas lesões orais de PCM quanto na de HO. Essa divergência pode estar relacionada aos diferentes sítios dos estudos realizados e por estes serem

experimentais, sendo necessário maiores investigações para esclarecimentos dessas distinções, principalmente utilizando amostras de pacientes.

Silva e colaboradores em 2015, propuseram mecanismos que justificam a expressão alterada das moléculas Bak e Bcl-2 na PCM, onde o patógeno induz a apoptose através da expressão de Bak, levando a uma resposta celular do organismo aumentando a expressão de Bcl-2 para evitar a morte celular. Ou ainda, o fungo induz a expressão de Bak e Bcl-2 para danificar a célula sem matá-la, protegendo-se assim do sistema imune do hospedeiro, resultados estes semelhantes ao encontrado nos experimentos de Mendes-Giannini em 2004. Os resultados encontrados no presente estudo, demonstraram um desequilíbrio gerado pelo patógeno na expressão aumentada das moléculas estudadas, principalmente a Bak que possui ação pró-apoptótica, o que está de acordo aos achados dos autores citados acima.

O aumento na expressão das proteínas Bak e Bcl-2, quando comparado a mucosa oral com características de normalidade (grupo controle) e demonstrado nas Figuras 1 e 2 e na Tabela 2, pode ser interpretado como uma forma encontrada pelo *H. capsulatum* e pelo *P. brasiliensis* de modular a apoptose pela maior expressão de moléculas anti e pró-apoptóticas da via intrínseca, influenciando na desregulação da apoptose pelo fungo, que pode sobreviver e se espalhar para outras partes do corpo, promovendo uma possível inibição da resposta imune durante as infecções, conforme apresentado por Del Vecchio e colaboradores em 2009; Ashida e colaboradores em 2011.

As diferenças encontradas na expressão das proteínas da via intrínseca da apoptose e os resultados estatísticos presentes neste trabalho, corroboram com a afirmativa postulada por Cacere e colaboradores em 2009, onde o *H. capsulatum* e o *P. brasiliensis* podem buscar obter vantagens quanto a sua sobrevivência intracelular, interferindo no aumento da expressão de moléculas pró-apoptóticas (Bak), induzindo a apoptose e facilitando sua sobrevivência, fato estes também defendido por Souto e colaboradores em 2003; Mendes-Giannini e colaboradores em 2004; Verícimo e colaboradores em 2006 e Ketelut-Carneiro e colaboradores em 2015.

Allen em 2005, conduziu um estudo para determinar se a indução da apoptose de linfócitos pelo *H. capsulatum* influenciou a resistência do hospedeiro ao fungo. As descobertas levantaram a possibilidade de que a indução da apoptose não só influenciou na susceptibilidade da infecção, mas também serviu como marcador de sua

gravidade. Esse desequilíbrio das vias de indução da apoptose também foram percebidos nos resultados deste trabalho através da expressão alterada das moléculas estudadas.

As alterações encontradas neste trabalho, demonstraram mudanças na expressão das proteínas Bak e Bcl-2, corroborando para a hipótese de haver estímulos na cinética da via intrínseca da apoptose, que podem estar exercendo influência na implantação e manutenção dos fungos no tecido do hospedeiro, conforme demonstrado por Gavrilescu; Denkers em 2003; Carrero; Calderon; Unanue em 2004; Behar; Divangahi; Remold em 2010; Lamkanfi e Dixit em 2010; Deepe Jr; Buesing em 2012; Issac e colaboradores em 2015; Quarleri; Cevallos; Delpino em 2021.

Em 2009, Del Vecchio e colaboradores, ressaltaram ser importante a realização de mais estudos para a compreensão da interação entre fungos e as vias de transdução de sinal em células do hospedeiro, incluindo a sinalização relacionada a apoptose, bem como, trabalhos que contribuam no entendimento dos mecanismos e das proteínas envolvidas nas vias intrínsecas e extrínsecas da apoptose. Neste contexto, o estudo realizado teve como limitação a não investigação das moléculas da via extrínseca da apoptose nestas infecções fúngicas, que poderiam contribuir para a melhor compreensão dos achados.

7. CONCLUSÃO

Com base na amostra estudada, e após análise dos objetivos propostos neste estudo, constatou-se que:

- No presente trabalho houve prevalência de pacientes adultos, do sexo masculino e etnia branca, sendo a língua o sítio preferencial das lesões.
- Os resultados encontrados neste trabalho demonstraram o aumento da imunexpressão das proteínas da via intrínseca da apoptose (Bak, Bcl-2) nos grupos de pacientes com PCM e HO.
- Em comparação ao tecido oral com características de normalidade, houve um aumento na imunexpressão da proteína anti-apoptótica Bcl-2 e pró-apoptótica Bak, nos grupos de PCM e HO, demonstrando assim, haver um desequilíbrio na expressão de proteínas da via intrínseca da apoptose.
- O mecanismo de indução a apoptose utilizados pelos fungos estudados na tentativa de escapar da ação do sistema imune, pode contribuir para a evolução e agravamento das micoses avaliadas, devido ao desequilíbrio de proteínas anti e pró apoptóticas da via intrínseca, encontrado nas amostras testadas quando comparadas ao grupo controle.

REFERÊNCIAS

ABREU E SILVA, Mariana Álvares de; SALUM, Fernanda Gonçalves; FIGUEIREDO, Maria Antonia; CHERUBINI, Karen. Important aspects of oral paracoccidioidomycosis- a literature review. **Mycoses**, [S.L.], v. 56, n. 3, p. 189-199, 23 out. 2012. Wiley. <<http://dx.doi.org/10.1111/myc.12017>>.

AKIN, Lee; HERFORD, Alan S.; CICCÌ, Marco. Oral Presentation of Disseminated Histoplasmosis: a case report and literature review. **Journal Of Oral And Maxillofacial Surgery**, [S.L.], v. 69, n. 2, p. 535-541, fev. 2011. Elsevier BV. <<http://dx.doi.org/10.1016/j.joms.2010.05.053>>.

ALCÂNTARA, Tânia Machado de. **Fenotipagem das populações celulares e detecção in situ de citocinas em biópsias de pacientes com Paracoccidioidomicose**. 2002. 150 f. Tese (Doutorado) - Curso de Medicina, Unesp, Botucatu, 2002.

ALLEN, H. L.. Apoptosis modulates protective immunity to the pathogenic fungus *Histoplasma capsulatum*. **Journal Of Clinical Investigation**, [S.L.], v. 115, n. 10, p. 2875-2885, 1 out. 2005. American Society for Clinical Investigation. <<http://dx.doi.org/10.1172/jci25365>>.

ARAÚJO, Marcelo Sivieri de. **Estudo epidemiológico de pacientes com paracoccidioidomicose crônica, com avaliação da sensibilidade do exame citológico bucal, utilizando a coloração de impregnação pela prata (Gomori-Grocott)**. 1999. 90 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Odontologia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1999.

ARAÚJO, Marcelo Sivieri de. **Estudo da resposta imune nas lesões orais de Paracoccidioidomicose por meio da expressão de citocinas do perfil Th1, Th2, Th17 e Treg, dos receptores do tipo Toll, Galectinas e Metaloproteínas de Matriz**. 2014. 100 f. Tese (Doutorado) - Curso de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Uberaba, 2014.

ARAÚJO, Marcelo Sivieri de; ALVES, Polyanna Miranda; LIMA, Lilian Margareth Biagioni de; SILVA, Marcelo Fernandes da; PEREIRA, Sanívia Aparecida de Lima; RODRIGUES, Virmondês; RODRIGUES, Denise Bertulucci Rocha. Evaluation of in situ expression of effector and regulatory cytokines, TLR, galectins and matrix metalloproteinases in oral manifestations of paracoccidioidomycosis. **Immunobiology**, [S.L.], v. 220, n. 1, p. 154-163, jan. 2015. Elsevier BV. <<http://dx.doi.org/10.1016/j.imbio.2014.08.006>>.

ARRUDA, José Alcides Almeida de; SCHUCH, Lauren Frenzel; ABREU, Lucas Guimarães; SILVA, Leni Verônica de Oliveira; MOSCONI, Carla; MONTEIRO, João Luiz Gomes Carneiro; BATISTA, Aline Carvalho; HILDEBRAND, Laura de Campos; MARTINS, Manoela Domingues; SOBRAL, Ana Paula Veras. A multicentre study of oral paracoccidioidomycosis: analysis of 320 cases and literature review. **Oral Diseases**, [S.L.], v. 24, n. 8, p. 1492-1502, 6 ago. 2018. Wiley. <<http://dx.doi.org/10.1111/odi.12925>>.

ASHIDA, Hiroshi; MIMURO, Hitomi; OGAWA, Michinaga; KOBAYASHI, Taira; SANADA, Takahito; KIM, Minsoo; SASAKAWA, Chihiro. Cell death and infection: a double-edged sword for host and pathogen survival. **Journal Of Cell Biology**, [S.L.], v. 195, n. 6, p. 931-942, 28 nov. 2011. Rockefeller University Press. <<http://dx.doi.org/10.1083/jcb.201108081>>.

AZENHA, Marcelo Rodrigues; CALIENTO, Rubens; BRENTGANI, Luiz Guilherme; LACERDA, Suzie Aparecida de. A retrospective study of oral manifestations in patients with paracoccidioidomycosis. **Brazilian Dental Journal**, [S.L.], v. 23, n. 6, p. 753-757, 2012. FapUNIFESP (SciELO). <<http://dx.doi.org/10.1590/s0103-64402012000600021>>.

BEHAR, Samuel M.; DIVANGAHI, Maziar; REMOLD, Heinz G. Evasion of innate immunity by Mycobacterium tuberculosis: is death an exit strategy? **Nature Reviews Microbiology**, [S.L.], v. 8, n. 9, p. 668-674, 2 ago. 2010. Springer Science and Business Media LLC. <<http://dx.doi.org/10.1038/nrmicro2387>>.

BELLISSIMO-RODRIGUES, Fernando; MARTINEZ, Roberto; MACHADO, Alcyone Artioli. Paracoccidioidomycosis Epidemiological Features of a 1,000-Cases Series from a Hyperendemic Area on the Southeast of Brazil. **The American Journal Of Tropical Medicine And Hygiene**, [S.L.], v. 85, n. 3, p. 546-550, 1 set. 2011. American Society of Tropical Medicine and Hygiene. <<http://dx.doi.org/10.4269/ajtmh.2011.11-0084>>.

BICALHO, Rn *et al.* Oral paracoccidioidomycosis: a retrospective study of 62 brazilian patients. **Oral Diseases**, [S.L.], v. 7, n. 1, p. 56-60, jan. 2001. Wiley. <<http://dx.doi.org/10.1034/j.1601-0825.2001.70111.x>>.

BIELASZEWSKA, Martina; RÜTER, Christian; BAUWENS, Andreas; GREUNE, Lilo; JAROSCH, Kevin-André; STEIL, Daniel; ZHANG, Wenlan; HE, Xiaohua; LLOUBES, Roland; FRUTH, Angelika. Host cell interactions of outer membrane vesicle-associated virulence factors of enterohemorrhagic Escherichia coli O157: intracellular delivery, trafficking and mechanisms of cell injury. **Plos Pathogens**, [S.L.], v. 13, n. 2, p. 329, 3 fev. 2017. Public Library of Science (PLoS). <<http://dx.doi.org/10.1371/journal.ppat.1006159>>.

BLOTTA, M H; A NOUÉR, S; MAMONI, R L; CAMARGO, Z P; PAPAORDANOU, P M; OLIVEIRA, S J; A GOVEIA. Endemic regions of paracoccidioidomycosis in Brazil: a clinical and epidemiologic study of 584 cases in the southeast region. **The American Journal of Tropical Medicine And Hygiene**, [S.L.], v. 61, n. 3, p. 390-394, 1 set. 1999. American Society of Tropical Medicine and Hygiene. <<http://dx.doi.org/10.4269/ajtmh.1999.61.390>>.

BOCCA, Anamelia Lorenzetti; AMARAL, André Corrêa; TEIXEIRA, Marcus Melo; SATO, Paula Keiko; SHIKANAI-YASUDA, Maria Aparecida; FELIPE, Maria Sueli Soares. Paracoccidioidomycosis: eco-epidemiology, taxonomy and clinical and therapeutic issues. **Future Microbiology**, [S.L.], v. 8, n. 9, p. 1177-1191, set. 2013. Future Medicine Ltd. <<http://dx.doi.org/10.2217/fmb.13.68>>.

BOUTROS, Hedy H; VAN WINCKLE, Robert B; A EVANS, Gerald; WASAN, Santosh M. Oral histoplasmosis masquerading as an invasive carcinoma. **Journal Of Oral And Maxillofacial Surgery**, [S.L.], v. 53, n. 9, p. 1110-1114, set. 1995. Elsevier BV. <[http://dx.doi.org/10.1016/0278-2391\(95\)90135-3](http://dx.doi.org/10.1016/0278-2391(95)90135-3)>.

BRAZÃO-SILVA, Marco Túllio; ANDRADE, Marília Ferreira; FRANCO, Talita; RIBEIRO, Rosy Iara Maciel Azambuja; SILVA, Weuler dos Santos; FARIA, Gabriele; FARIA, Paulo Rogério de; CARDOSO, Sérgio Vitorino; LOYOLA, Adriano Mota. Paracoccidioidomycosis: a series of 66 patients with oral lesions from an endemic area. **Mycoses**, [S.L.], v. 54, n. 4, p. 189-195, 6 abr. 2010. Wiley. <<http://dx.doi.org/10.1111/j.1439-0507.2010.01873.x>>.

CACERE, C. The Role of Apoptosis in the Antigen-Specific T Cell Hyporesponsiveness of Paracoccidioidomycosis Patients. **Clinical Immunology**, [S.L.], v. 105, n. 2, p. 215-222, nov. 2002. Elsevier BV. <<http://dx.doi.org/10.1006/clim.2002.5272>>.

CARRERO, Javier A.; CALDERON, Boris; UNANUE, Emil R. Type I Interferon Sensitizes Lymphocytes to Apoptosis and Reduces Resistance to Listeria Infection. **Journal Of Experimental Medicine**, [S.L.], v. 200, n. 4, p. 535-540, 9 ago. 2004. Rockefeller University Press. <<http://dx.doi.org/10.1084/jem.20040769>>.

CASADEVALL, Arturo; PIROFSKI, Liise-Anne. Host-Pathogen Interactions: redefining the basic concepts of virulence and pathogenicity. **Infection And Immunity**, [S.L.], v. 67, n. 8, p. 3703-3713, ago. 1999. American Society for Microbiology. <<http://dx.doi.org/10.1128/iai.67.8.3703-3713.1999>>.

COBB, Charles M.; SHULTZ, Rudane E.; BREWER, Joseph H.; DUNLAP, Charles L.. Chronic pulmonary histoplasmosis with an oral lesion. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology**, [S.L.], v. 67, n. 1, p. 73-76, jan. 1989. Elsevier BV. <[http://dx.doi.org/10.1016/0030-4220\(89\)90305-8](http://dx.doi.org/10.1016/0030-4220(89)90305-8)>.

COSTA, Matheus de Castro; CARVALHO, Milena Moraes de; SPERANDIO, Felipe Fornias; RIBEIRO JUNIOR, Noé Vital; HANEMANN, João Adolfo Costa; PIGOSSI, Suzane Cristina; CARLI, Marina Lara de. Oral Paracoccidioidomycosis affecting women: a systematic review. **Mycoses**, [S.L.], v. 64, n. 2, p. 108-122, 25 out. 2020. Wiley. <<http://dx.doi.org/10.1111/myc.13194>>.

COUTINHO, Ziadir Francisco; SILVA, Delson da; LAZÉRA, Márcia; PETRI, Valéria; OLIVEIRA, Rosely Magalhães de; SABROZA, Paulo C.; WANKE, Bodo. Paracoccidioidomycosis mortality in Brazil (1980-1995). **Cadernos de Saúde Pública**, [S.L.], v. 18, n. 5, p. 1441-1454, out. 2002. FapUNIFESP (SciELO). <<http://dx.doi.org/10.1590/s0102-311x2002000500037>>.

CZABOTAR, Peter E.; LESSENE, Guillaume; STRASSER, Andreas; ADAMS, Jerry M. Control of apoptosis by the BCL-2 protein family: implications for physiology and therapy. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, [S.L.], v. 15, n. 1, p. 49-63, 20 dez. 2013. Springer Science and Business Media LLC. <<http://dx.doi.org/10.1038/nrm3722>>.

DE SOUZA, Silvana Pereira; JORGE, Valéria Magalhães; XAVIER, Melissa Orzechowski. Paracoccidioidomycosis in southern Rio Grande do Sul: a retrospective study of histopathologically diagnosed cases. **Brazilian Journal Of Microbiology**, [S.L.], v. 45, n. 1, p. 243-247, 2014. FapUNIFESP (SciELO). <<http://dx.doi.org/10.1590/s1517-83822014000100035>>.

DEEPE, George S.; BUESING, William R. Deciphering the Pathways of Death of *Histoplasma capsulatum*-Infected Macrophages: implications for the immunopathogenesis of early infection. **The Journal Of Immunology**, [S.L.], v. 188, n. 1, p. 334-344, 1 jan. 2012. The American Association of Immunologists. <<http://dx.doi.org/10.4049/jimmunol.1102175>>.

DEL VECCHIO, Adriana; SILVA, Julhiany de Fatima da; SILVA, Juliana Leal Monteiro da; ANDREOTTI, Patricia Ferrari; SOARES, Christiane Pienna; BENARD, Gil; GIANNINI, Maria José Soares Mendes. Induction of apoptosis in A549 pulmonary cells by two *Paracoccidioides brasiliensis* samples. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, [S.L.], v. 104, n. 5, p. 749-754, ago. 2009. FapUNIFESP (SciELO). <<http://dx.doi.org/10.1590/s0074-02762009000500015>>.

FERREIRA, Orgânia Gomes; CARDOSO, Sérgio Vitorino; BORGES, Aécio S.; FERREIRA, Marcelo Simão; LOYOLA, Adriano Mota. Oral histoplasmosis in Brazil. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, And Endodontology**, [S.L.], v. 93, n. 6, p. 654-659, jun. 2002. Elsevier BV. <<http://dx.doi.org/10.1067/moe.2002.122588>>.

FLOR, Antonia *et al.* Histoplasmosis pulmonar aguda en un viajero español a Nicaragua: ejemplo de enfermedad importada. **Revista Iberoamericana de Micología**, Barcelona, v. 20, n. 1, p. 24-28, 10 fev. 2003.

FORTES, Maria Rita Parise; MIOT, Hélio Amante; KUOKAWA, Cilmary Suemi; MARQUES, Mariângela Esther Alencar; MARQUES, Sílvio Alencar. Imunologia da paracoccidioidomicose. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, [S.L.], v. 86, n. 3, p. 516-524, jun. 2011. FapUNIFESP (SciELO). <<http://dx.doi.org/10.1590/s0365-05962011000300014>>.

FREGNANI, Eduardo Rodrigues *et al.* Presence of Myofibroblasts and Expression of Matrix Metalloproteinase-2 (MMP-2) in Ameloblastomas Correlate with Rupture of the Osseous Cortical. **Pathology & Oncology Research**, [S.L.], v. 15, n. 2, p. 231-240, 19 dez. 2008. Springer Science and Business Media LLC. <<http://dx.doi.org/10.1007/s12253-008-9110-4>>.

GAVRILESCU, L. Cristina; DENKERS, Eric Y. Apoptosis and the Balance of Homeostatic and Pathologic Responses to Protozoan Infection. **Infection And Immunity**, [S.L.], v. 71, n. 11, p. 6109-6115, nov. 2003. American Society for Microbiology. <<http://dx.doi.org/10.1128/iai.71.11.6109-6115.2003>>.

GONDAK, Rogério de Oliveira; MARIANO, Fernanda Viviane; SILVA, Alan Roger dos Santos; VARGAS, Pablo Agustin; LOPES, Márcio Ajudarte. Single Oral

Paracoccidioidomycosis Mimicking Other Lesions: report of eight cases. **Mycopathologia**, [S.L.], v. 173, n. 1, p. 47-52, 12 ago. 2011. Springer Science and Business Media LLC. <<http://dx.doi.org/10.1007/s11046-011-9461-3>>.

GOODWIN, Robert Albert; PREZ, Robert Mike Dez. Histoplasmosis. State of the art. **American Review of Respiratory Diseases**, New York, v. 117, n. 1, p. 929-956, jan. 1978. HAKEM, R. et al. Differential requirement for caspase 9 in apoptotic pathways in vivo. **Cell**, v.94 n.3, p.352. 1998.

HAKEM, Razqallah *et al.* Differential Requirement for Caspase 9 in Apoptotic Pathways In Vivo. **Cell**, [S.L.], v. 94, n. 3, p. 339-352, ago. 1998. Elsevier BV. <[http://dx.doi.org/10.1016/s0092-8674\(00\)81477-4](http://dx.doi.org/10.1016/s0092-8674(00)81477-4)>.

HENGARTNER, Michael O. The biochemistry of apoptosis. **Nature**, [S.L.], v. 407, n. 6805, p. 770-776, out. 2000. Springer Science and Business Media LLC. <<http://dx.doi.org/10.1038/35037710>>.

HENRIQUES, Águida Cristina Gomes *et al.* Comparative analysis of the immunohistochemical expression of collagen IV, MMP-9, and TIMP-2 in odontogenic cysts and tumors. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, And Endodontology**, [S.L.], v. 112, n. 4, p. 468-475, out. 2011. Elsevier BV. <<http://dx.doi.org/10.1016/j.tripleo.2011.05.033>>.

HERNANDEZ, Dimas E.; MORGENSTERN, Jose; WEISS, Eduardo; PLANAS, Guillermo; RUIZ, Andres; OLAVARRIA, Renato; TAPIA, Felix; MUCI, Rafael; VARGAS, Rafael; WUANI, Herman. Cutaneous Lesions of Disseminated Histoplasmosis in a Haitian Man with the Acquired Immunodeficiency Syndrome. **International Journal of Dermatology**, [S.L.], v. 25, n. 2, p. 117-118, mar. 1986. Wiley. <<http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-4362.1986.tb04553.x>>.

HOTCHKISS, Richard S.; OSMON, Stephen B.; CHANG, Katherine C.; WAGNER, Tracey H.; COOPERSMITH, Craig M.; KARL, Irene E. Accelerated Lymphocyte Death in Sepsis Occurs by both the Death Receptor and Mitochondrial Pathways. **The Journal of Immunology**, [S.L.], v. 174, n. 8, p. 5110-5118, 15 abr. 2005. The American Association of Immunologists. <<http://dx.doi.org/10.4049/jimmunol.174.8.5110>>.

ISAAC, Dervla T.; BERKES, Charlotte A.; ENGLISH, Bevin C.; MURRAY, Davina Hocking; LEE, Young Nam; COADY, Alison; SIL, Anita. Macrophage cell death and transcriptional response are actively triggered by the fungal virulence factor Cbp1 during *H.capsulatum* infection. **Molecular Microbiology**, [S.L.], v. 98, n. 5, p. 910-929, 29 set. 2015. Wiley. <<http://dx.doi.org/10.1111/mmi.13168>>.

JORGENSEN, Ine; RAYAMAJHI, Manira; MIAO, Edward A. Programmed cell death as a defence against infection. **Nature Reviews Immunology**, [S.L.], v. 17, n. 3, p. 151-164, 31 jan. 2017. Springer Science and Business Media LLC. <<http://dx.doi.org/10.1038/nri.2016.147>>.

KAUFFMAN, Carol A. Histoplasmosis: a clinical and laboratory update. **Clinical Microbiology Reviews**, [S.L.], v. 20, n. 1, p. 115-132, jan. 2007. American Society for Microbiology. <<http://dx.doi.org/10.1128/cmr.00027-06>>.

KELLERMANN, Michele G. *et al.* Mutual paracrine effects of oral squamous cell carcinoma cells and normal oral fibroblasts: induction of fibroblast to myofibroblast transdifferentiation and modulation of tumor cell proliferation. **Oral Oncology**, [S.L.], v. 44, n. 5, p. 509-517, maio 2008. Elsevier BV. <<http://dx.doi.org/10.1016/j.oraloncology.2007.07.001>>.

KERR, J F R; WYLLIE, A H; CURRIE, A R. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wideranging implications in tissue kinetics. **British Journal of Cancer**, [S.L.], v. 26, n. 4, p. 239-257, ago. 1972. Springer Science and Business Media LLC. <<http://dx.doi.org/10.1038/bjc.1972.33>>.

KETELUT-CARNEIRO, Natália; SILVA, Grace Kelly; ROCHA, Fernanda Agostini; MILANEZI, Cristiane Maria; CAVALCANTI-NETO, Florêncio Figueiredo; ZAMBONI, Dario Simões; SILVA, João Santana. IL-18 Triggered by the Nlrp3 Inflammasome Induces Host Innate Resistance in a Pulmonary Model of Fungal Infection. **The Journal of Immunology**, [S.L.], v. 194, n. 9, p. 4507-4517, 1 maio 2015. The American Association of Immunologists. <<http://dx.doi.org/10.4049/jimmunol.1402321>>.

KLEIN, Isadora Peres; MARTINS, Marco Antonio Trevizani; MARTINS, Manoela Domingues; CARRARD, Vinicius Coelho. Diagnosis of HIV infection on the basis of histoplasmosis-related oral ulceration. **Special Care In Dentistry**, [S.L.], v. 36, n. 2, p. 99-103, 24 nov. 2015. Wiley. <<http://dx.doi.org/10.1111/scd.12147>>.

KUIDA, Keisuke; HAYDAR, Tarik F; KUAN, Chia-Yi; GU, Yong; TAYA, Choji; KARASUYAMA, Hajime; SU, Michael S.-S; RAKIC, Pasko; A FLAVELL, Richard. Reduced Apoptosis and Cytochrome c–Mediated Caspase Activation in Mice Lacking Caspase 9. **Cell**, [S.L.], v. 94, n. 3, p. 325-337, ago. 1998. Elsevier BV. <[http://dx.doi.org/10.1016/s0092-8674\(00\)81476-2](http://dx.doi.org/10.1016/s0092-8674(00)81476-2)>.

LAMKANFI, Mohamed; DIXIT, Vishva M. Manipulation of Host Cell Death Pathways during Microbial Infections. **Cell Host & Microbe**, [S.L.], v. 8, n. 1, p. 44-54, jul. 2010. Elsevier BV. <<http://dx.doi.org/10.1016/j.chom.2010.06.007>>.

LI, Kang; LI, Yucheng; SHELTON, John M; A RICHARDSON, James; SPENCER, Erika; CHEN, Zhijian J; WANG, Xiaodong; WILLIAMS, R.Sanders. Cytochrome c Deficiency Causes Embryonic Lethality and Attenuates Stress-Induced Apoptosis. **Cell**, [S.L.], v. 101, n. 4, p. 389-399, maio 2000. Elsevier BV. <[http://dx.doi.org/10.1016/s0092-8674\(00\)80849-1](http://dx.doi.org/10.1016/s0092-8674(00)80849-1)>.

LIU, Xuesong; KIM, Caryn Naekyung; YANG, Jie; JEMMERSON, Ronald; WANG, Xiaodong. Induction of Apoptotic Program in Cell-Free Extracts: requirement for datp and cytochrome c. **Cell**, [S.L.], v. 86, n. 1, p. 147-157, jul. 1996. Elsevier BV. <[http://dx.doi.org/10.1016/s0092-8674\(00\)80085-9](http://dx.doi.org/10.1016/s0092-8674(00)80085-9)>.

LOTH, Eduardo Alexandre; CASTRO, Solange Venturini de; SILVA, Joseane Rodrigues da; GANDRA, Rinaldo Ferreira. Occurrence of 102 cases of paracoccidioidomycosis in 18 months in the Itaipu Lake region, Western Paraná. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, [S.L.], v. 44, n. 5, p. 636-637, out. 2011. FapUNIFESP (SciELO). <<http://dx.doi.org/10.1590/s0037-86822011000500023>>.

MARTINEZ, Roberto. Paracoccidioidomycosis: the dimension of the problem of a neglected disease. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, [S.L.], v. 43, n. 4, p. 480-480, ago. 2010. FapUNIFESP (SciELO). <<http://dx.doi.org/10.1590/s0037-86822010000400034>>.

MARTINO, Jean-Claude; YOULE, Richard J.. Mitochondria in Apoptosis: bcl-2 family members and mitochondrial dynamics. **Developmental Cell**, [S.L.], v. 21, n. 1, p. 92-101, jul. 2011. Elsevier BV. <<http://dx.doi.org/10.1016/j.devcel.2011.06.017>>.

MENDES-GIANNINI, Maria José Soares; HANNA, Samira Abdallah; SILVA, Juliana Leal Monteiro da; ANDREOTTI, Patricia Ferrari; VINCENZI, Luciana Raquel; BENARD, Gil; LENZI, Henrique Leonel; SOARES, Christiane Pienna. Invasion of epithelial mammalian cells by Paracoccidioides brasiliensis leads to cytoskeletal rearrangement and apoptosis of the host cell. **Microbes And Infection**, [S.L.], v. 6, n. 10, p. 882-891, ago. 2004. Elsevier BV. <<http://dx.doi.org/10.1016/j.micinf.2004.05.005>>.

MICHALANY, Jorge *et al.* Métodos selecionados de colorações e de impregnações argênticas. In: MICHALANY, Jorge. **Técnica Histológica em Anatomia Patológica**. São Paulo: Pedagogia e Universitária, 1980. Cap. 11. p. 123-180.

MIGNOGNA, M.; FEDELE, S.; LORUSSO, L.; RUOPPO, E.; LOMUZIO, L. A Case of Oral Localized Histoplasmosis in an Immunocompetent Patient. **European Journal Of Clinical Microbiology And Infectious Diseases**, [S.L.], v. 20, n. 10, p. 753-755, out. 2001. Springer Science and Business Media LLC. <<http://dx.doi.org/10.1007/s100960100592>>.

MILLER, Richard L.; GOULD, Alan R.; SKOLNICK, Judah L.; EPSTEIN, William M. Localized oral histoplasmosis. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology**, [S.L.], v. 53, n. 4, p. 367-374, abr. 1982. Elsevier BV. <[http://dx.doi.org/10.1016/0030-4220\(82\)90437-6](http://dx.doi.org/10.1016/0030-4220(82)90437-6)>.

MENDES, Rinaldo Poncio; CAVALCANTE, Ricardo de Souza; MARQUES, Sílvia Alencar; MARQUES, Mariângela Esther Alencar; VENTURINI, James; SYLVESTRE, Tatiane Fernanda; PANIAGO, Anamaria Mello Miranda; PEREIRA, Ana Carla; SILVA, Julhiany de Fátima da; FABRO, Alexandre Todorovic. Paracoccidioidomycosis: current perspectives from brazil. **The Open Microbiology Journal**, [S.L.], v. 11, n. 1, p. 224-282, 31 out. 2017. Bentham Science Publishers Ltd. <<http://dx.doi.org/10.2174/1874285801711010224>>.

MONTENEGRO, M R; FRANCO, M. **Paracoccidioidomycosis**. Boca Raton: Crc Press, 1994. 150 p.

NEGRONI, Marta. **Microbiología Estomatológica Fundamentos y guías prácticas. Médica Panamericana**. 3. ed. Buenos Aires: Rústica, 1999. 373 p.

NEVILLE, Brad W *et al.* **Patología Oral & Maxilofacial**. 4. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2016. 912 p.

OLIVEIRA, Haroldo C. de; ASSATO, Patrícia A.; MARCOS, Caroline M.; SCORZONI, Liliana; SILVA, Ana C. A. de Paula e; SILVA, Julhiany de Fátima da; SINGULANI, Junya de Lacorte; ALARCON, Kaila M.; FUSCO-ALMEIDA, Ana M.; MENDES-GIANNINI, Maria J. S. Paracoccidioides-host Interaction: an overview on recent advances in the paracoccidioidomycosis. **Frontiers In Microbiology**, [S.L.], v. 6, n. 1, p. 1319-1339, 25 nov. 2015. Frontiers Media SA. <<http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2015.01319>>.

PORTT, Liam; NORMAN, Grant; CLAPP, Caitlin; GREENWOOD, Matthew; GREENWOOD, Michael T. Anti-apoptosis and cell survival: a review. **Biochimica Et Biophysica Acta (Bba) - Molecular Cell Research**, [S.L.], v. 1813, n. 1, p. 238-259, jan. 2011. Elsevier BV. <<http://dx.doi.org/10.1016/j.bbamcr.2010.10.010>>.

PUTOT, A.; PERRIN, S.; JOLIVET, A.; VANTILCKE, V. HIV-associated disseminated histoplasmosis in western French Guiana, 2002-2012. **Mycoses**, [S.L.], v. 58, n. 3, p. 160-166, 15 jan. 2015. Wiley. <<http://dx.doi.org/10.1111/myc.12293>>.

QUARLERI, Jorge; CEVALLOS, Cintia; DELPINO, María Victoria. Apoptosis in infectious diseases as a mechanism of immune evasion and survival. **Advances In Protein Chemistry And Structural Biology**, [S.L.], p. 1-24, 2021. Elsevier. <<http://dx.doi.org/10.1016/bs.apcsb.2021.01.001>>.

RODRÍGUEZ-CERDEIRA, C.; ARENAS, R.; MORENO-COUTIÑO, G.; VÁSQUEZ, E.; FERNÁNDEZ, R.; CHANG, P. Systemic Fungal Infections in Patients with human immunodeficiency virus. **Actas Dermo-Sifiliográficas (English Edition)**, [S.L.], v. 105, n. 1, p. 5-17, jan. 2014. Elsevier BV. <<http://dx.doi.org/10.1016/j.adengl.2012.06.032>>.

SAROSI, George A.; JOHNSON, Philip C. Disseminated Histoplasmosis in Patients Infected with Human Immunodeficiency Virus. **Clinical Infectious Diseases**, [S.L.], v. 14, n. 1, p. 60-67, 1 mar. 1992. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/clinids/14.supplement_1.s60>.

SHIKANAI-YASUDA, Maria Aparecida; MENDES, Rinaldo Pôncio; COLOMBO, Arnaldo Lopes; QUEIROZ-TELLES, Flávio de; KONO, Adriana Satie Gonçalves; PANIAGO, Anamaria M. M; NATHAN, André; VALLE, Antonio Carlos Francisconi do; BAGAGLI, Eduardo; BENARD, Gil. Brazilian guidelines for the clinical management of paracoccidioidomycosis. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, [S.L.], v. 50, n. 5, p. 715-740, 12 jul. 2017. FapUNIFESP (SciELO). <<http://dx.doi.org/10.1590/0037-8682-0230-2017>>.

SILVA, Julhiany de Fátima da; VICENTIM, Juliana; OLIVEIRA, Haroldo Cesar de; MARCOS, Caroline Maria; ASSATO, Patricia Akemi; ANDREOTTI, Patrícia Ferrari; SILVA, Juliana Leal Monteiro da; SOARES, Christiane Pienna; BENARD, Gil; ALMEIDA, Ana Marisa Fusco. Influence of the Paracoccidioides brasiliensis14-3-3 and gp43 proteins on the induction of apoptosis in A549 epithelial cells. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, [S.L.], v. 110, n. 4, p. 476-484, 2 jun. 2015. FapUNIFESP (SciELO). <<http://dx.doi.org/10.1590/0074-02760150057>>.

SILVA, Mariana Álvares de Abreu e; SALUM, Fernanda Gonçalves; FIGUEIREDO, Maria Antonia; CHERUBINI, Karen. Important aspects of oral paracoccidioidomycosis-a literature review. **Mycoses**, [S.L.], v. 56, n. 3, p. 189-199, 23 out. 2012. Wiley. <<http://dx.doi.org/10.1111/myc.12017>>.

SINGH, Rumani; LETAI, Anthony; SAROSIEK, Kristopher. Regulation of apoptosis in health and disease: the balancing act of bcl-2 family proteins. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, [S.L.], v. 20, n. 3, p. 175-193, 17 jan. 2019. Springer Science and Business Media LLC. <<http://dx.doi.org/10.1038/s41580-018-0089-8>>.

SOLARI, Rubén; CORTI, Marcelo; CANGELOSI, Diana; ESCUDERO, Manuel; NEGRONI, Ricardo; SACCHERI, Christian; SHTIRBU, Ricardo. Histoplasmosis diseminada con lesiones limitadas a la laringe en un paciente con SIDA. Reporte de un caso y revisión de la literatura. **Revista Iberoamericana de Micología**, [S.L.], v. 24, n. 2, p. 164-166, jun. 2007. Elsevier BV. <[http://dx.doi.org/10.1016/s1130-1406\(07\)70036-0](http://dx.doi.org/10.1016/s1130-1406(07)70036-0)>.

SOUTO, Paula C. S.; BRITO, Vânia N.; GAMEIRO, Jacy; CRUZ-HÖFLING, Maria Alice da; VERINAUD, Liana. Programmed cell death in thymus during experimental paracoccidioidomycosis. **Medical Microbiology and Immunology**, [S.L.], v. 192, n. 4, p. 225-229, 8 abr. 2003. Springer Science and Business Media LLC. <<http://dx.doi.org/10.1007/s00430-003-0180-3>>.

SOUZA, Barbara Capitanio de; MUNERATO, Maria Cristina. Oral manifestation of histoplasmosis on the palate. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, [S.L.], v. 92, n. 51, p. 107-109, 2017. FapUNIFESP (SciELO). <<http://dx.doi.org/10.1590/abd1806-4841.20175751>>.

SPOSTO, Maria Regina; SCULLY, Crispian; ALMEIDA, Oslei Paes de; JORGE, Jacks; GRANER, Edgard; BOZZO, Laurencio. Oral paracoccidioidomycosis. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology**, [S.L.], v. 75, n. 4, p. 461-465, abr. 1993. Elsevier BV. <[http://dx.doi.org/10.1016/0030-4220\(93\)90171-y](http://dx.doi.org/10.1016/0030-4220(93)90171-y)>.

STRASSER, Andreas; CORY, Suzanne; ADAMS, Jerry M. Deciphering the rules of programmed cell death to improve therapy of cancer and other diseases. **The Embo Journal**, [S.L.], v. 30, n. 18, p. 3667-3683, 23 ago. 2011. Wiley. <<http://dx.doi.org/10.1038/emboj.2011.307>>.

THOMPSON, Craig B. Apoptosis in the Pathogenesis and Treatment of Disease. **Science**, [S.L.], v. 267, n. 5203, p. 1456-1462, 10 mar. 1995. American

Association for the Advancement of Science (AAAS).
<<http://dx.doi.org/10.1126/science.7878464>>.

TOLENTINO, Ellen De Souza; AIELLO, Bruno Barbosa. Manifestações bucais da paracoccidiodomicose – considerações gerais e relato de caso. **Revista da Faculdade de Odontologia - UPF**, v. 15, n. 1, 9 ago. 2010.

TORRES-RODRÍGUEZ, Josep M.; SEGURA-ROCA, Gemma; COLL, Joaquín. Histoplasmosis en un varón inmunocompetente manifestada 45 años después de la infección. **Revista Iberoamericana de Micología**, [S.L.], v. 26, n. 4, p. 244-246, out. 2009. Elsevier BV. <<http://dx.doi.org/10.1016/j.riam.2009.03.004>>.

VANDER-HEIDEN, Matthew G.; THOMPSON, Craig B. Bcl-2 proteins: regulators of apoptosis or of mitochondrial homeostasis? **Nature Cell Biology**, [S.L.], v. 1, n. 8, p. 209-216, dez. 1999. Springer Science and Business Media LLC. <<http://dx.doi.org/10.1038/70237>>.

VERÍCIMO, Maurício A.; FRANÇA, Karla Marcelino; ARNHOLDT, Andrea C.V.; KIPNIS, Thereza L. Increased apoptosis during the early phase of experimental paracoccidiodomycosis as a phenotypic marker of resistance. **Microbes And Infection**, [S.L.], v. 8, n. 12-13, p. 2811-2820, out. 2006. Elsevier BV. <<http://dx.doi.org/10.1016/j.micinf.2006.08.012>>.

VIEIRA, Gabriel de Deus; ALVES, Thaianne da Cunha; LIMA, Sônia Maria Dias de; CAMARGO, Luís Marcelo Aranha; SOUSA, Camila Maciel de. Paracoccidiodomycosis in a western Brazilian Amazon State: clinical-epidemiologic profile and spatial distribution of the disease. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, [S.L.], v. 47, n. 1, p. 63-68, jan. 2014. FapUNIFESP (SciELO). <<http://dx.doi.org/10.1590/0037-8682-0225-2013>>.

VIDYANATH, S; SHAMEENA, Pm; SUDHA, S; NAIR, Resmig. Disseminated histoplasmosis with oral and cutaneous manifestations. **Journal Of Oral and Maxillofacial Pathology**, [S.L.], v. 17, n. 1, p. 139, 2013. Medknow. <<http://dx.doi.org/10.4103/0973-029x.110722>>.

VILLALBA, Hebert. **Características microscópicas da Paracoccidiodomicose bucal**. 1998. 85 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Odontologia, Universidade Estadual de Campinas, Piracicaba, 1998.

WEINRAUCH, Yvette; ZYCHLINSKY, Arturo. The Induction of Apoptosis by Bacterial Pathogens. **Annual Review of Microbiology**, [S.L.], v. 53, n. 1, p. 155-187, out. 1999. Annual Reviews. <<http://dx.doi.org/10.1146/annurev.micro.53.1.155>>.

WOOD, Karen L.; HAGE, Chadi A.; KNOX, Kenneth S.; KLEIMAN, Martin B.; SANNUTI, Aruna; DAY, Richard B.; WHEAT, L. Joseph; TWIGG, Homer L. Histoplasmosis after Treatment with Anti-Tumor Necrosis Factor- α Therapy. **American Journal of Respiratory And Critical Care Medicine**, [S.L.], v. 167, n. 9, p. 1279-1282, 1 maio 2003. American Thoracic Society. <<http://dx.doi.org/10.1164/rccm.200206-563oc>>.

YASUDA, Maria Aparecida Shikanai; TELLES FILHO, Flávio de Queiroz; MENDES, Rinaldo Pôncio; COLOMBO, Arnaldo Lopes; MORETTI, Maria Luiza. Consenso em paracoccidiodomicose. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, [S.L.], v. 39, n. 3, p. 297-310, jun. 2006. FapUNIFESP (SciELO). <<http://dx.doi.org/10.1590/s0037-86822006000300017>>.

YOUNG, Louis L.; DOLAN, C.Terrence; SHERIDAN, Phillip J.; REEVE, Charles M.. Oral manifestations of histoplasmosis. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology**, [S.L.], v. 33, n. 2, p. 191-204, fev. 1972. Elsevier BV. <[http://dx.doi.org/10.1016/0030-4220\(72\)90389-1](http://dx.doi.org/10.1016/0030-4220(72)90389-1)>.

YU, Seong-Woon; WANG, Hongmin; POITRAS, Marc F.; COOMBS, Carmen; BOWERS, William J.; FEDEROFF, Howard J.; POIRIER, Guy G.; DAWSON, Ted M.; DAWSON, Valina L. Mediation of Poly (ADP-Ribose) Polymerase-1-Dependent Cell Death by Apoptosis-Inducing Factor. **Science**, [S.L.], v. 297, n. 5579, p. 259-263, 12 jul. 2002. American Association for the Advancement of Science (AAAS). <<http://dx.doi.org/10.1126/science.1072221>>.

ZOU, Hua; HENZEL, William J; LIU, Xuesong; LUTSCHG, Alexis; WANG, Xiaodong. Apaf-1, a Human Protein Homologous to C. elegans CED-4, Participates in Cytochrome c-Dependent Activation of Caspase-3. **Cell**, [S.L.], v. 90, n. 3, p. 405-413, ago. 1997. Elsevier BV. <[http://dx.doi.org/10.1016/s0092-8674\(00\)80501-2](http://dx.doi.org/10.1016/s0092-8674(00)80501-2)>.

ANEXO 1

UNIVERSIDADE DE UBERABA -
UNIUBE



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Estudo morfométrico da densidade de mastócitos, quantificação de colágeno, fibrose e das vias intrínsecas e extrínsecas da apoptose, em biopsias de lesões orais de Histoplasmose.

Pesquisador: Marcelo Sivieri de Araújo

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 13675019.7.0000.5145

Instituição Proponente: Sociedade Educacional Uberabense

Patrocinador Principal: SOCIEDADE EDUCACIONAL UBERABENSE

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.376.681

Apresentação do Projeto:

A Histoplasmose oral (HO) é uma doença fúngica rara, e pouco se sabe sobre o comportamento do *Histoplasma capsulatum* na cavidade oral. Estudos em humanos sobre a resposta do hospedeiro contra a invasão e sobrevivência de fungos nas estruturas orais são escassos. Os mecanismos envolvidos na estratégia deste fungo em induzir apoptose em células orais, reduzindo os mecanismos de defesa do hospedeiro, em proveito próprio, permitindo sua sobrevivência intracelular no hospedeiro, ainda carecem de estudos. Os objetivos da pesquisa serão avaliar, em biópsias de lesões orais de Histoplasmose a densidade de mastócitos, a porcentagem de fibrose e as vias intrínseca e extrínseca da apoptose; avaliar, in situ, a densidade de mastócitos, a porcentagem de fibrose; Quantificar e comparar a densidade de mastócitos e a porcentagem de fibrose em lesões de HO e na mucosa oral com características de normalidade; Avaliar, in situ, a imunexpressão de proteínas da via intrínseca e extrínseca da apoptose e quantificar e comparar a imunexpressão das proteínas das vias intrínseca e extrínseca da apoptose em lesões de HO e na mucosa oral com características de normalidade. Serão coletados os dados de todos os resultados de exame anatomopatológico com diagnóstico de Histoplasmose oral (HO) e de fragmento de mucosa oral com características de normalidade (FMOCN) do Serviço de Anatomia Patológica do Curso de Odontologia da Universidade de Uberaba (SAPCOU), no período de abril de 1999 a abril de 2019, provenientes da Policlínica Odontológica Getúlio Vargas da Universidade de Uberaba.

Endereço: Av.Nene Sabino, 1801

Bairro: Universitário

CEP: 38.055-500

UF: MG

Município: UBERABA

Telefone: (34)3319-8816

Fax: (34)3314-8910

E-mail: cep@uniube.br

Continuação do Parecer: 3.376.681

Para cada caso de Histoplasmose oral e de fragmento de mucosa oral com características de normalidade diagnosticados serão fornecidas as seguintes informações: número do prontuário, número do laboratório, idade, gênero, cor de pele, tipo de biópsia, localização e diagnóstico histopatológico. De posse dos números dos prontuários, os pacientes serão contatados para que assinem o Termo de Consentimento Livre Esclarecido autorizando a utilização do material de biópsia estocado em blocos de parafina no SAPCOU. Serão selecionados como amostra da pesquisa, 45 indivíduos, onde 30 indivíduos terão diagnóstico positivo para HO e outros 15 (grupo controle), terão diagnóstico histopatológico para FMOCN. Serão realizadas, de acordo com o caso, técnicas de coloração de Hematoxilina e Eosina, coloração de Picrossirius e imunohistoquímica, para a morfometria e quantificação celular das amostras. As lâminas serão observadas no microscópio de luz polarizada com aumento de 400X, fotografadas e analisadas através do software "Image J" (National Institutes of Health, USA). Os resultados serão submetidos a testes estatísticos apropriados e serão consideradas estatisticamente significantes as diferenças em que a probabilidade de rejeição da hipótese de nulidade seja menor que 5%.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

*Avaliar em biópsias de lesões orais de Histoplasmose a densidade de mastócitos, a porcentagem de fibrose e as vias intrínseca e extrínseca da apoptose.

Objetivos Secundários:

*Avaliar in situ a densidade de mastócitos

*Avaliar in situ a porcentagem de fibrose.

*Quantificar e comparar a densidade de mastócitos e a porcentagem de fibrose em lesões de HO e na mucosa oral com características de normalidade.

*Avaliar in situ a imunexpressão de proteínas da via intrínseca e extrínseca da apoptose (Bcl-2, Bak, Caspases -3, -8, -9, Fas/CD95, Fas-L).

*Quantificar e comparar a imunexpressão das proteínas das vias intrínseca e extrínseca da apoptose em lesões de HO e na mucosa oral com características de normalidade.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Os benefícios superam os riscos. Existe o risco da perda da confidencialidade dos dados. Contudo, o pesquisador propôs medidas para minimizar esse risco. Não existe benefício direto para o participante. Porém, os resultados obtidos poderão contribuir com a literatura acadêmica no que diz respeito aos fatores de virulência do *Histoplasma capsulatum*, o que poderia levar a melhorias

Endereço: Av. Nene Sabino, 1801

Bairro: Universitário

CEP: 38.055-500

UF: MG

Município: UBERABA

Telefone: (34)3319-8816

Fax: (34)3314-8910

E-mail: cep@uniube.br

UNIVERSIDADE DE UBERABA -
UNIUBE



Continuação do Parecer: 3.376.681

significativas no tratamento de pacientes com esta infecção, criando protocolos terapêuticos que poderiam aumentar a proteção mediada por células em pacientes infectados pelo fungo.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A pesquisa é pertinente e possui valor científico. O tema é atual e relevante. Os métodos estão descritos com clareza e permitem que os objetivos sejam alcançados.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Foram apresentados os seguintes documentos:

- Projeto de pesquisa
- Folha de rosto assinada pelo pró-reitor de pesquisa, pós-graduação e extensão da Universidade de Uberaba, Prof. Dr. Andre Luis Teixeira Fernandes. Nesta folha consta a participação de 45 participantes.
- Carta de autorização para a utilização das dependências da Policlínica Odontológica Getúlio Vargas, assinada pelo diretor Prof. Msc. Otávio de Oliveira Filho.
- Carta de autorização para a utilização do Serviço de Anatomia Patológica do Curso de Odontologia da Universidade de Uberaba, assinada pelo diretor do curso Prof. Dr. Luis Henrique Borges.
- Termos de Consentimento Livre e Esclarecido para participantes diagnosticados com Histoplasmosose oral e de fragmento de mucosa oral com características de normalidade.

Recomendações:

Não há.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

O relator vota pela aprovação do protocolo de pesquisa

Considerações Finais a critério do CEP:

Em 06/06/2019 a plenária votou de acordo com o relator, pela aprovação da proposta. O CEP-UNIUBE lembra o pesquisador sobre seu compromisso com a Resolução 466/12, especialmente no que diz respeito à entrega do Relatório Parcial e Final, conforme estabelece a Resolução.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1341443.pdf	09/05/2019 09:39:56		Aceito

Endereço: Av.Nene Sabino, 1801

Bairro: Universitário

CEP: 38.055-500

UF: MG

Município: UBERABA

Telefone: (34)3319-8816

Fax: (34)3314-8910

E-mail: cep@uniube.br

UNIVERSIDADE DE UBERABA -
UNIUBE



Continuação do Parecer: 3.376.681

Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETOBROCHURAPESQUISADOR versaofinal.pdf	09/05/2019 09:38:44	Marcelo Sivieri de Araújo	Aceito
Folha de Rosto	folhaderostoprojetohistoplasnose.pdf	09/05/2019 09:37:00	Marcelo Sivieri de Araújo	Aceito
Brochura Pesquisa	PROJETOBROCHURAPESQUISADOR.pdf	02/05/2019 10:46:04	Marcelo Sivieri de Araújo	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	ANEXO5TCLEPOLICLINICA.pdf	02/05/2019 10:07:50	Marcelo Sivieri de Araújo	Aceito
Outros	ANEXO2AUTORIZDIRETORPOLICLINICA.pdf	02/05/2019 10:04:21	Marcelo Sivieri de Araújo	Aceito
Outros	ANEXO1AUTORIZADIRETORCURSO.pdf	02/05/2019 10:03:54	Marcelo Sivieri de Araújo	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	ANEXO4TCLEpacientesmucosanormal.pdf	02/05/2019 10:00:41	Marcelo Sivieri de Araújo	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	ANEXO_3TCLE_pacientecom_HISTOP.pdf	02/05/2019 09:57:34	Marcelo Sivieri de Araújo	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

UBERABA, 07 de Junho de 2019

Assinado por:
Geraldo Thedei Junior
(Coordenador(a))

Endereço: Av.Nene Sabino, 1801

Bairro: Universitário

CEP: 38.055-500

UF: MG

Município: UBERABA

Telefone: (34)3319-8816

Fax: (34)3314-8910

E-mail: cep@uniube.br

UNIVERSIDADE DE UBERABA -
UNIUBE



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Estudo das vias extrínseca e intrínseca da apoptose em biópsias de lesões orais de Paracoccidioidomicose crônica.

Pesquisador: Marcelo Sivieri de Araújo

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 88456318.3.0000.5145

Instituição Proponente: Sociedade Educacional Uberabense

Patrocinador Principal: SOCIEDADE EDUCACIONAL UBERABENSE

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.697.871

Apresentação do Projeto:

O projeto intitulado "Estudo das vias extrínseca e intrínseca da apoptose em biópsias de lesões orais de Paracoccidioidomicose crônica" encaminhado pelo Pesquisador Marcelo Sivieri de Araújo, descreve que: "Muito ainda precisa ser esclarecido sobre o comportamento do Paracoccidioides ssp. na cavidade oral. Estudos em humanos sobre a resposta do hospedeiro contra a invasão e sobrevivência do fungo nas estruturas orais são escassos. Os mecanismos envolvidos na estratégia deste fungo em induzir apoptose em células orais, reduzindo os mecanismos de defesa do hospedeiro, em proveito próprio, permitindo sua sobrevivência intracelular no hospedeiro, ainda carecem de estudos."

As amostras serão: "coletados a partir dos dados referentes a todos os resultados de exame anatomopatológico com diagnóstico de Paracoccidioidomicose oral crônica (PCMOC) e de fragmento de mucosa oral com características de normalidade (FMOCN) do Serviço de Anatomia Patológica do Curso de Odontologia da Universidade de Uberaba (SAPCOU), no período de abril de 1999 a abril de 2019, provenientes da Policlínica Odontológica Getúlio Vargas da Universidade de Uberaba (POGV)". O autor relata que o "Tamanho da Amostra no Brasil: 45".

Ademais, "serão obtidas informações que permitam o contato para com estes pacientes, a fim de que, estes assinem o Termo de Consentimento Livre Esclarecido (TCLE) autorizando a utilização do material de biópsia estocado em blocos de parafina no SAPCOU".

Endereço: Av.Nene Sabino, 1801

Bairro: Universitário

CEP: 38.055-500

UF: MG

Município: UBERABA

Telefone: (34)3319-8950

Fax: (34)3314-8910

E-mail: cep@uniube.br

UNIVERSIDADE DE UBERABA -
UNIUBE



Continuação do Parecer: 2.697.871

Objetivo da Pesquisa:

Retira-se da proposta:

"Objetivo Primário: Avaliar in situ a imunexpressão de proteínas da via intrínseca (Bcl-2, Bak) e da via extrínseca (Caspases -3, -8,-9, Fas/CD95, Fas-L) da apoptose (Caspases -3, -8,-9, Fas/CD95, Fas-L).
Objetivo Secundário: Quantificar e comparar a imunexpressão das proteínas da via intrínseca e extrínseca da apoptose em lesões de PCM oral crônica e na mucosa oral com características de normalidade".

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos: o autor relata que os riscos são: "mínimos ou inexistentes, pois serão tomadas medidas preventivas adequadas por parte do pesquisador responsável, quanto a perda da confidencialidade dos dados obtidos".
Pela característica retrospectiva do estudo, nenhum paciente será submetido a nenhum novo procedimento exclusivamente para esta pesquisa.

Dessa forma os benefícios relatados: "melhorias significativas no tratamento de pacientes com infecções fúngicas, como a PCM, criando protocolos terapêuticos que poderiam aumentar a proteção mediada por células empacientes infectados pelo fungo", são superiores aos riscos.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A pesquisa é pertinente e tem valor científico adequado. Em razão dos baixos riscos e dos potenciais benefícios, a mesma deve ser realizada sem dificuldade éticas.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Apresenta-se o projeto na plataforma Brasil, projeto completo, autorização do Gestor do Curso e do Diretor da Policlínica, folha de rosto e TCLE adequado.

Nota-se ausência do Termo de Compromisso dos Pesquisadores.

Recomendações:

Não há...

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

O relator vota pela aprovação da proposta, salvo melhor juízo dos membros do CEP-UNIUBE.

Considerações Finais a critério do CEP:

Em 06/06/2018 a plenária votou de acordo com o relator, pela aprovação da proposta, lembrando o proponente do compromisso com o que trata a Resolução 466/12, especialmente no que diz respeito a entrega dos Relatórios Parcial e Final da pesquisa ao CEP.

Endereço: Av.Nene Sabino, 1801

Bairro: Universitário

CEP: 38.055-500

UF: MG

Município: UBERABA

Telefone: (34)3319-8950

Fax: (34)3314-8910

E-mail: cep@uniube.br

UNIVERSIDADE DE UBERABA -
UNIUBE



Continuação do Parecer: 2.697.871

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_713582.pdf	24/04/2018 16:57:48		Aceito
Folha de Rosto	Folhaderosto.pdf	24/04/2018 16:54:58	Marcelo Sivieri de Araújo	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETODEPESQUISAPCMAPOPTO SE.pdf	23/04/2018 10:09:12	Marcelo Sivieri de Araújo	Aceito
Outros	ANEXO5.pdf	23/04/2018 10:07:40	Marcelo Sivieri de Araújo	Aceito
Outros	ANEXO2.pdf	23/04/2018 10:07:20	Marcelo Sivieri de Araújo	Aceito
Outros	ANEXO1.pdf	23/04/2018 10:07:07	Marcelo Sivieri de Araújo	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	ANEXO4TCLEpacientesmucosanormal.pdf	23/04/2018 10:05:18	Marcelo Sivieri de Araújo	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	ANEXO3TCLEpPCM.pdf	23/04/2018 10:05:07	Marcelo Sivieri de Araújo	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

UBERABA, 07 de Junho de 2018

Assinado por:
Geraldo Thedei Junior
(Coordenador)

Endereço: Av.Nene Sabino, 1801

Bairro: Universitário

CEP: 38.055-500

UF: MG

Município: UBERABA

Telefone: (34)3319-8950

Fax: (34)3314-8910

E-mail: cep@uniube.br

APÊNDICE 1

Uberaba, ____ de _____ de 2019.

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA OS PACIENTES DIAGNOSTICADOS COM MUCOSA ORAL COM CARACTERÍSTICAS DE NORMALIDADE

Nome do participante da pesquisa:

Identificação (RG) do participante da pesquisa: _____

Nome do responsável (quando aplicável): _____

Identificação (RG) do responsável: _____

Título do projeto: “Estudo morfométrico da densidade de mastócitos, quantificação de colágeno, fibrose e das vias intrínsecas e extrínsecas da apoptose, em biopsias de lesões orais de Histoplasmore”.

Instituição onde será realizado: **Universidade de Uberaba (UNIUBE)**

Pesquisador Responsável: **Marcelo Sivieri de Araújo (CRO-MG 16636)**

Endereço do Responsável: **Laboratório de Histopatologia – UNIUBE**

Av. Nenê Sabino, 1801 – Bairro: Universitário – Campus Aeroporto Sala 2D31

CEP: 38055-500 - Uberaba/MG - Tel: (34) 3319-8978

e-mail: histopatologia@uniube.br / marcelo.sivieri@uniube.br

CEP-UNIUBE: Telefone (34) 3319-8816; e-mail: cep@uniube.br

Você está sendo convidado(a) para participar do projeto **“Estudo morfométrico da densidade de mastócitos, quantificação de colágeno, fibrose e das vias intrínsecas e extrínsecas da apoptose, em biopsias de lesões orais de Histoplasmore”** de responsabilidade de **Prof. Dr. Marcelo Sivieri de Araújo (CRO-MG 16636)**, desenvolvido na **Universidade de Uberaba (UNIUBE)**.

Este projeto tem como objetivo estudar a doença denominada de Histoplasmore, e procurar entender algumas alterações sofridas no interior das células da mucosa bucal, quando da presença do fungo causador desta doença na mucosa da boca.

Este projeto no qual você estará participando, é necessário para que possamos compreender melhor, como o fungo causador da Histoplasmore, provoca a morte das células da mucosa bucal e das células de defesa. Estas células deveriam nos proteger contra esta doença, fato este que não pode não ocorrer, e com isso, os pacientes portadores desta doença passam a apresentar várias lesões, que podem comprometer sua saúde bucal e geral.

Se aceitar participar desse projeto, você estará **AUTORIZANDO** a utilização do bloco de parafina que contém o fragmento de mucosa oral que foi retirado de você quando da realização da biópsia que o(a) diagnosticou como sendo um fragmento de mucosa oral com características de normalidade. Este bloco de parafina se encontra estocado nas dependências do Serviço de Anatomia Patológica do Curso de Odontologia da Universidade de Uberaba,

localizado no Campus Aeroporto da UNIUBE, na Av. Nenê Sabino, 1801, bloco D sala 31. Este bloco será utilizado apenas para confeccionar lâminas de microscópico que serão utilizadas neste projeto de pesquisa, como material de controle negativo para a doença que estaremos pesquisando.

Os seus dados serão mantidos em sigilo e serão utilizados apenas com fins científicos, tais como, apresentações em congressos e publicação de artigos científicos. Seu nome ou qualquer identificação (voz, foto, assinatura etc) jamais aparecerão.

Pela sua participação no estudo, você não receberá nenhum pagamento, e também não terá nenhum custo. Você pode parar de participar a qualquer momento, sem nenhum tipo de prejuízo para você ou para seu tratamento/atendimento. Sinta-se à vontade para solicitar, a qualquer momento, os esclarecimentos que você julgar necessários. Caso decida-se por não participar, nenhuma penalidade será imposta a você, nem seu tratamento ou atendimento será alterado ou prejudicado.

Você receberá uma cópia desse termo, assinada pela equipe, onde consta a identificação, os telefones da equipe de pesquisadores e o contato do Comitê de Ética em Pesquisa da UNIUBE, caso você queira entrar em contato com eles.

Nome do participante ou responsável e assinatura

Prof. Dr. Marcelo Sivieri de Araújo (CRO-MG 16636) - Tel: (34) 3319-8978

Pesquisador Responsável

Uberaba, _____ de _____ de 2018

**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO
PARA OS PACIENTES DIAGNOSTICADOS COM
PARACOCCIDIOIDOMICOSE ORAL CRÔNICA**

Nome do participante da pesquisa:

Identificação (RG) do participante da pesquisa: _____

Nome do responsável (quando aplicável): _____

Identificação (RG) do responsável: _____

Título do projeto: **ESTUDO DAS VIAS EXTRÍNSECA E INTRÍNSECA DA APOPTOSE EM BIÓPSIAS DE LESÕES ORAIS DE PARACOCCIDIOIDOMICOSE CRÔNICA.**

Instituição onde será realizado: **Universidade de Uberaba (UNIUBE)**

Pesquisador Responsável: **Marcelo Sivieri de Araújo (CRO-MG 16636)**

Endereço do Responsável: **Laboratório de Histopatologia – UNIUBE**

Av. Nenê Sabino, 1801 – Bairro: Universitário – Campus Aeroporto Sala 2D31

CEP: 38055-500 - Uberaba/MG - Tel: (34) 3319-8978

e-mail: histopatologia@uniube.br / marcelo.sivieri@uniube.br

CEP-UNIUBE: Telefone (34) 3319-8816; e-mail: cep@uniube.br

Você está sendo convidado(a) para participar do projeto "**ESTUDO DAS VIAS EXTRÍNSECA E INTRÍNSECA DA APOPTOSE EM BIÓPSIAS DE LESÕES ORAIS DE PARACOCCIDIOIDOMICOSE CRÔNICA**", de responsabilidade de **Prof. Dr. Marcelo Sivieri de Araújo (CRO-MG 16636)**, desenvolvido na **Universidade de Uberaba (UNIUBE)**.

Este projeto tem como objetivo estudar, algumas alterações sofridas no interior das células de sua mucosa bucal, devido a presença do fungo causador da doença diagnosticada em sua boca.

Este projeto no qual você estará participando, é necessário para que possamos compreender melhor, como o fungo que causa a doença diagnosticada em sua boca, provoca a morte das células da mucosa bucal e de suas células de defesa. Estas células deveriam proteger você contra esta doença, fato este que não ocorreu, já que você acabou desenvolvendo a lesão bucal, a qual foi diagnosticada na Policlínica Odontológica Getúlio Vargas da Universidade de Uberaba.

Se aceitar participar desse projeto, você estará **AUTORIZANDO** a utilização do bloco de parafina que contém o fragmento de mucosa oral que foi retirado de você quando da realização da biópsia que o(a) diagnosticou com Paracoccidiodomicose oral crônica. Este bloco de parafina se encontra estocado nas dependências do Serviço de Anatomia Patológica do Curso de Odontologia da Universidade de Uberaba, localizado no Campus Aeroporto da

UNIUBE, na Av. Nenê Sabino, 1801, bloco D sala 31. Este bloco será utilizado apenas para confeccionar lâminas de microscópico que serão utilizadas neste projeto de pesquisa.

Os seus dados serão mantidos em sigilo e serão utilizados apenas com fins científicos, tais como, apresentações em congressos e publicação de artigos científicos. Seu nome ou qualquer identificação (voz, foto, assinatura etc) jamais aparecerão.

Pela sua participação no estudo, você não receberá nenhum pagamento, e também não terá nenhum custo. Você pode parar de participar a qualquer momento, sem nenhum tipo de prejuízo para você ou para seu tratamento/atendimento. Sinta-se à vontade para solicitar, a qualquer momento, os esclarecimentos que você julgar necessários. Caso decida-se por não participar, nenhuma penalidade será imposta a você, nem seu tratamento ou atendimento será alterado ou prejudicado.

Você receberá uma cópia desse termo, assinada pela equipe, onde consta a identificação, os telefones da equipe de pesquisadores e o contato do Comitê de Ética em Pesquisa da UNIUBE, caso você queira entrar em contato com eles.

Nome do participante ou responsável e assinatura

Prof. Dr. Marcelo Sivieri de Araújo (CRO-MG 16636) - Tel: (34) 3319-8978

Pesquisador Responsável

Janaína Martins de Freitas (CRO-GO 15266 / RA 5109003) – Tel: (64) 99213-4804

Aluna do Curso de Mestrado Acadêmico em Odontologia da UNIUBE

Pesquisadora Colaboradora

Uberaba, ____ de _____ de 2019

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA OS PACIENTES DIAGNOSTICADOS COM HISTOPLASMOSE ORAL

Nome do participante da pesquisa:

Identificação (RG) do participante da pesquisa: _____

Nome do responsável (quando aplicável): _____

Identificação (RG) do responsável: _____

Título do projeto: Estudo morfométrico da densidade de mastócitos, quantificação de colágeno, fibrose e das vias intrínsecas e extrínsecas da apoptose, em biopsias de lesões orais de Histoplasmose.

Instituição onde será realizado: **Universidade de Uberaba (UNIUBE)**

Pesquisador Responsável: **Marcelo Sivieri de Araújo (CRO-MG 16636)**

Endereço do Responsável: **Laboratório de Histopatologia – UNIUBE**

Av. Nenê Sabino, 1801 – Bairro: Universitário – Campus Aeroporto Sala 2D31

CEP: 38055-500 - Uberaba/MG - Tel: (34) 3319-8978

e-mail: histopatologia@uniube.br / marcelo.sivieri@uniube.br

CEP-UNIUBE: Telefone (34) 3319-8816; e-mail: cep@uniube.br

Você está sendo convidado(a) para participar do projeto **“ESTUDO MORFOMÉTRICO DA DENSIDADE DE MASTÓCITOS, QUANTIFICAÇÃO DE COLÁGENO, FIBROSE E DAS VIAS INTRÍNSECAS E EXTRÍNSECAS DA APOPTOSE, EM BIÓPSIAS DE LESÕES ORAIS DE HISTOPLASMOSE”**, de responsabilidade de **Prof. Dr. Marcelo Sivieri de Araújo (CRO-MG 16636)**, desenvolvido na **Universidade de Uberaba (UNIUBE)**.

Este projeto tem como objetivo estudar, algumas alterações sofridas no interior das células de sua mucosa bucal, devido a presença do fungo causador da doença diagnosticada em sua boca.

Este projeto no qual você estará participando, é necessário para que possamos compreender melhor, como o fungo que causa a doença diagnosticada em sua boca, provoca a morte das células da mucosa bucal e de suas células de defesa. Estas células deveriam proteger você contra esta doença, fato este que não ocorreu, já que você acabou desenvolvendo a lesão bucal, a qual foi diagnosticada na Policlínica Odontológica Getúlio Vargas da Universidade de Uberaba.

Se aceitar participar desse projeto, você estará **AUTORIZANDO** a utilização do bloco de parafina que contém o fragmento de mucosa oral que foi retirado de você quando da realização da biópsia que o(a) diagnosticou com Histoplasmose oral . Este bloco de parafina se encontra estocado nas dependências do Serviço de Anatomia Patológica do Curso de Odontologia da Universidade de Uberaba, localizado no Campus Aeroporto da UNIUBE, na Av.

Nenê Sabino, 1801, bloco D sala 31. Este bloco será utilizado apenas para confeccionar lâminas de microscópico que serão utilizadas neste projeto de pesquisa.

Os seus dados serão mantidos em sigilo e serão utilizados apenas com fins científicos, tais como, apresentações em congressos e publicação de artigos científicos. Seu nome ou qualquer identificação (voz, foto, assinatura etc) jamais aparecerão.

Pela sua participação no estudo, você não receberá nenhum pagamento, e também não terá nenhum custo. Você pode parar de participar a qualquer momento, sem nenhum tipo de prejuízo para você ou para seu tratamento/atendimento. Sinta-se à vontade para solicitar, a qualquer momento, os esclarecimentos que você julgar necessários. Caso decida-se por não participar, nenhuma penalidade será imposta a você, nem seu tratamento ou atendimento será alterado ou prejudicado.

Você receberá uma cópia desse termo, assinada pela equipe, onde consta a identificação, os telefones da equipe de pesquisadores e o contato do Comitê de Ética em Pesquisa da UNIUBE, caso você queira entrar em contato com eles.

Nome do participante ou responsável e assinatura

Prof. Dr. Marcelo Sivieri de Araújo (CRO-MG 16636) - Tel: (34) 3319-8978

Pesquisador Responsável

Uberaba, ____ de _____ de 2019

CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PACIENTES DIAGNOSTICADOS CON HISTOPLASMOSIS ORAL

Nombre del participante de la investigación:

Identificación (RG) del participante de la investigación: _____

Nombre del responsable (cuando corresponda): _____

Identificación (RG) del responsable: _____

Título del proyecto: "Estudio morfométrico de la densidad de los mastocitos cuantificación de colágeno, fibrosis y las vías intrínsecas y extrínsecas de la apoptosis en biopsias de lesiones orales de la Histoplasmosis".

Institución se llevará a cabo: **Universidad de Uberaba / Universidad Nacional de Córdoba.**

Investigador responsable: **Dra. Silvia Lopez de Blanc / Dr. Marcelo Sivieri de Araújo**

Dirección del responsable: **Laboratorio de Histopatología – UNIUBE**

Av. Nenê Sabino, 1801 – Bairro: Universitário – Campus Aeroporto Sala 2D31

CEP: 38055-500 - Uberaba/MG - Tel: 55 34 3319-8978

e-mail: histopatologia@uniube.br / marcelo.sivieri@uniube.br

CEP-UNIUBE: Telefone 55 34 3319-8816; e-mail: cep@uniube.br

Está siendo invitado a participar en el proyecto "Estudio morfométrico de la densidad de los mastocitos, cuantificación de colágeno, fibrosis y las vías intrínsecas y extrínsecas de apoptosis en biopsias de lesiones orales de histoplasmosis", la responsabilidad de la **Profa. Dra. Silvia Lopez de Blanc y Prof. Dr. Marcelo Sivieri de Araújo**, desarrollado en la **Facultad de Odontología / Universidad Nacional de Córdoba (UNC)**.

Este proyecto tiene como objetivo estudiar, algunos cambios efectuados dentro de las células de la mucosa oral, debido a la presencia del hongo que causa la enfermedad diagnosticada en la boca.

Este proyecto en el que usted estará participando, es necesaria para que podemos comprender mejor, como el hongo que causa la enfermedad diagnosticada en la boca, causa la muerte de las células de la mucosa oral y sus células de defensa. Estas células se suponen que protege contra esta enfermedad, que no ha ocurrido desde que se desarrolló la lesión oral, que fue

diagnosticada en la Cátedra de Estomatología B. Facultad de Odontología. U.N.C.

Si usted acepta participar en este proyecto, se autoriza el uso de taco de parafina que contiene el fragmento de la mucosa oral que fue tomado de usted cuando la biopsia que diagnostique con la Histoplasmosis. Este taco de parafina se encuentra en las instalaciones del servicio de Anatomía Patológica de la Cátedra de Estomatología B. Facultad de Odontología. U.N.C. Este taco se utilizará sólo para fabricar vidrios para microscopía que se utilizarán en este proyecto de investigación.

Sus datos se mantendrán confidenciales y se utilizarán únicamente con fines científicos, como presentaciones en congresos y publicación de artículos científicos. Su nombre o cualquier identificación (voz, foto, firma, etc.) nunca aparecerán.

Por su participación en el estudio, usted no recibirá ningún pago, y también tendrá ningún costo. Usted puede dejar de participar en cualquier momento sin ningún tipo de lesión para usted o para su tratamiento/asistencia. Siéntase libre de solicitar, en cualquier momento, cualquier aclaración que considere necesaria. Si decide no participar, no se le impondrán multas, ni su tratamiento o asistencia se alterará ni menoscabará.

Recibirás una copia de este término, firmada por el equipo, donde se identificarán, los teléfonos del equipo de investigación y el contacto del Comité ético de la Facultad de Odontología. U.N.C., en caso de que quieras contactarlos.

Nombre del participante o tutor y firma

Profa. Dra. Silvia Lopez de Blanc - Tel: 54 93 51663 3620

Investigadora responsable

Prof. Dr. Marcelo Sivieri de Araújo - Tel: 55 34 3319-8978

Investigador corresponsable