

MARCELO VALDEMIR DE ARAÚJO

**Incorporação do peptídeo sintético (P10) de
Paracoccidioides brasiliensis em lipídeo catiônico (DDA) e
sua ação sobre a resposta imune em camundongos
C57Bl/6 e BALB/c infectados com *P. brasiliensis*.**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, para obtenção do Título de Doutor em Ciências.

São Paulo

2019

MARCELO VALDEMIR DE ARAÚJO

**Incorporação do peptídeo sintético (P10) de
Paracoccidioides brasiliensis em lipídeo catiônico (DDA) e
sua ação sobre a resposta imune em camundongos
C57Bl/6 e BALB/c infectados com *P. brasiliensis*.**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Microbiologia do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, para obtenção do Título de Doutor em Ciências.

Área de concentração: Microbiologia
Orientador: Prof. Dr. Carlos Pelleschi Taborda

São Paulo

2019

Resumo

A paracoccidioidomicose (PCM) é uma micose sistêmica granulomatosa cujo agente etiológico é o fungo termodimórfico *Paracoccidioides* spp.. A doença é amplamente distribuída pela América Latina com maior número de casos no Brasil, Argentina, Venezuela e Colômbia. Atinge principalmente trabalhadores rurais trazendo importantes repercussões econômico-produtivas dos indivíduos acometidos. A PCM apresenta três quadros clínicos: forma assintomática, aguda ou subaguda (tipo juvenil), e crônica (tipo adulto). O antígeno imunodominante de *Paracoccidioides brasiliensis* é a gp43, onde um trecho específico de 15 aminoácidos, designado como P10, é reconhecido pelos linfócitos T desencadeando uma resposta pró- inflamatória contra a infecção fúngica. O presente estudo, avaliou a utilização do adjuvante a base de lipídeo catiônico (DDA) com o peptídeo sintético P10. Os resultados mostraram que o adjuvante sozinho tem pouca estabilidade e baixa imunogenicidade, a adição da carboximetilcelulose (CMC) aumentou a estabilidade do complexo DDA/CMC/P10, porém sem indução de resposta imune protetora devido as baixas concentrações dos componentes. A incorporação da trealose dibehenato (TDB) aumentou as características físico-químicas e imunogênicas do DDA e do peptídeo P10 refletindo na diminuição da carga fúngica nos pulmões dos camundongos C57Bl/6 infectados com Pb18, induzindo robusta resposta imune celular com altos níveis de citocinas pró inflamatórias Th1/Th17. O estudo demonstrou também que a utilização do glicolipídeo

Palavras chave: vacina fúngica, micose pulmonar, paracoccidioidomicose, adjuvante, DDA/TDB

Abstract

Paracoccidioidomycosis (PCM) is a granulomatous systemic mycosis whose etiologic agent is thermal dimorphic fungus *Paracoccidioides* spp., the disease is widely distributed in Latin America with the highest number of cases in Brazil, Argentina, Venezuela, and Colombia. It reaches mainly rural workers bringing important economic-productive repercussions of affected individuals. PCM presents three clinical manifestations: asymptomatic, acute or subacute (juvenile type), and chronic (adult type). The immunodominant antigen of *Paracoccidioides brasiliensis* is gp43, a glycoprotein of 416 amino acids, where a specific stretch of 15 amino acids, designated as P10, is recognized by T lymphocytes triggering a pro-inflammatory response against the fungal infection. Previous studies have shown that immunization with P10 associated with some adjuvants decreases fungal load in the lungs of mice and increases levels of cytokines in homogenate pulmonary. The present study evaluated the use of adjuvant based on cationic lipid (DDA) with synthetic peptide P10. The results showed that adjuvant alone has not stability even in the presence of carboxymethylcellulose (CMC) which led to greater stability of DDA/CMC/P10 complex but without immunogenicity. The incorporation of dibehenate trehalose (TDB) increased the stability and immunogenic characteristics of DDA and P10 peptide by decreasing the fungal load of lungs of C57Bl/6 mice infected with Pb18, inducing a robust cellular immune response with high levels of Th1/Th17 proinflammatory cytokines.

Keywords: fungal vaccine, pulmonary mycosis, paracoccidioidomycosis, adjuvant, DDA/TDB