

*Resumo***Antígenos excretados/secretados de *Toxoplasma gondii*: resposta imune celular e humoral na toxoplasmose cerebral e Aids****Cristina da Silva Meira; Vera Lucia Pereira Chioccola (orientadora)**

Programa de Pós-Graduação em Ciências da Coordenadoria de Controle de Doenças – Secretaria de Estado da Saúde. São Paulo – Brasil, 2013.

RESUMO

O presente estudo avaliou alguns aspectos da resposta imune celular e humoral na co-infecção toxoplasmose cerebral e Aids (TC/Aids). O primeiro passo foi aperfeiçoar a produção de dois ntígenos que foram utilizados em todos os experimentos. Um deles foi o antígeno lisado de aquizoítos (ALT) e o outro, um grupamento de antígenos excretados/secretados (ESA) obtidos dos sobrenadantes de culturas de células VERO, sem soro fetal bovino infectadas com taquizoítos. A seguir foram avaliados os níveis de IgG anti-T. gondii no líquido cefalorraquidiano (LCR) de 99 pacientes com TC/Aids. Em ambos os ensaios (Elisa e Western Blotting), ESA desencadeou reatividade nas amostras desses pacientes, o que não foi observado com o ALT. Concomitantemente, foi padronizado a Elisa, empregando ambos os antígenos, para a detecção de subclasses de IgG em 265 amostras de soro e 270 amostras de LCR. Os grupos de soros foram compostos de 58 pacientes TC/Aids; 49 com Aids/outras neuroinfecções/positivos para toxoplasmose; 58 com Aids/outras neuroinfecções/negativos para toxoplasmose; 50 indivíduos soropositivos para toxoplasmose e 50 indivíduos saudáveis. Os de LCR foram compostos conforme a presença ou não de toxoplasmose ativa sendo: 99 pacientes com TC/Aids; 112 com outras neuroinfecções/soropositivos para toxoplasmose e 59 com outras neuroinfecções/sorologia negativa para toxoplasmose. Somente com ESA obtivemos uma diferenciação no perfil de subclasses de IgG, onde níveis de IgG4 só foram detectados nos pacientes com TC/Aids, e a presença de IgG2 predominou nos indivíduos cronicamente infectados. O valor diagnóstico das IgA e IgE na TC/Aids foi também avaliado. Os resultados mostraram que não foi possível correlacionar tais anticorpos com a reativação da infecção. A resposta imune celular na TC/Aids foi parcialmente avaliada estudando-se os níveis de citocinas (IFN-g, TNF- α , IL-10, IL-12 e IL-4) em sobrenadantes de culturas de células mononucleares do sangue periférico de 15 pacientes com TC/Aids. Tais pacientes apresentaram deficiência na produção de IFN-g, altos níveis de TNF-a e uma pequena produção de IL-10 em comparação com os outros grupos de pacientes. O monitoramento da produção destas citocinas durante a evolução do tratamento específico para T. gondii mostrou que no 15º dia os pacientes já apresentam uma discreta produção de IFN-g e uma diminuição nos níveis de TNF-a e IL-10. Não foi possível detectar IL-12 e IL-4 nos grupos estudados. Estes achados sugerem que baixos níveis de IFN-g estão correlacionados à redução e/ou deficiência na capacidade células TCD4+ de pacientes com TC/Aids em produzir tal citocina, bem como altos níveis de TNF-a refletem a alta resposta inflamatória desencadeada pelo parasita. Em contrapartida, a presença de IL-10 sugere um efeito imunoregulatório nos indivíduos cronicamente infectados e naqueles negativos para toxoplasmose, porém uma suscetibilidade à infecção nos pacientes com TC/Aids, uma vez que tal citocina esta associada com um aumento da suscetibilidade a infecção, decorrente da deficiência no número de células TCD4+.

PALAVRAS-CHAVE: Toxoplasma. Toxoplasmose cerebral. Antígenos. Imunidade celular, Imunidade humoral. Síndrome de imunodeficiência Adquirida.

Antigens excreted/secreted of Toxoplasma gondii: cellular and humoral immune response in cerebral toxoplasmosis and AIDS

Cristina da Silva Meira; Vera Lucia Pereira Chioccola (orientadora)

Programa de Pós-Graduação em Ciências da Coordenadoria de Controle de Doenças – Secretaria de Estado da Saúde. São Paulo – Brasil, 2013.

ABSTRACT

The present study evaluated some aspects of humoral and cellular immune response in the co-infection cerebral toxoplasmosis and Aids (CT/Aids). The first step was to improve the production of two antigens that were used in all experiments. One was the tachyzoite lysate antigen (TLA) and the other was a group of excreted/secreted antigens (ESA) obtained from culture supernatants of VERO cells without fetal calf serum and infected with tachyzoites. Then, anti-*T. gondii* IgG levels in cerebrospinal fluid (CSF) of 99 TC/Aids patients were evaluated. In both methodologies (Elisa and Western blotting), ESA triggered reactivity in samples from TC/AIDS patients, which were not observed using TLA. Concomitantly, methodologies employing ELISA and two antigens for IgG subclasses detection in serum and CSF samples were standardized. The assays were performed in 265 sera and 270 CSF samples composed of 58 sera (patients with CT/Aids); 49 sera (patients with Aids/other neuroinfections/positive toxoplasmosis); 58 sera (patients with AIDS/other neuroinfections/negative toxoplasmosis); 50 sera (individuals with asymptomatic toxoplasmosis/negative HIV); 50 sera (healthy individuals/negative toxoplasmosis and HIV); 99 CSF samples (patients with CT/Aids); 112 CSF samples (patients with Aids/other neuroinfections/positive toxoplasmosis); and 59 CSF samples (patients with Aids/other neuroinfections/ negative toxoplasmosis). Only ESA was able to differentiate the IgG subclasses profile. IgG4 levels were detected only in TC/Aids patients, and IgG2 levels were predominate in chronically infected patients. The diagnostic value of IgA and IgE in TC/Aids patients was also evaluated. The results showed that it was not possible correlating these antibodies with the infection reactivation. The cellular immune response of TC/Aids patients was partially evaluated considering the cytokine levels (IFN- γ , TNF- α , IL-10, IL-12 e IL-4) in supernatants from cultures of peripheral blood mononuclear cells. CT/Aids patients showed deficiency in IFN- γ , high TNF- α levels and small IL-10 levels, when compared with patients of other groups. The monitoring of the production of these cytokines, during the specific *T. gondii* treatment, showed that after 15 days, patients already were able to produce small IFN- γ levels. At the same time, TNF- α and IL-10 levels were decreased. IL-12 and IL-4 levels were not detected in studied groups. These findings suggest that low IFN- γ levels are closely correlated to the reduction and/or deficiency in the ability CD4⁺ T cells of TC/Aids patients in producing this cytokine, as well as high levels of TNF- α reflect the high inflammatory response triggered by parasite. In contrast, IL-10 production suggests an immune-regulatory effect in chronically infected individuals and those negative for toxoplasmosis, but an infection susceptibility in CT/Aids patients, since IL-10 is associated with an increased susceptibility to infection, caused by deficiency of CD4⁺ T cells

KEYWORDS: Toxoplasma. Cerebral toxoplasmosis. Antigens. Cellular immunity, humoral immunity. Acquired Immunodeficiency Syndrome.