

## Vacinação de camundongos Balb/c com o gene da gp43 de *Paracoccidioides brasiliensis*: estudo da resposta imune

Pinto, A.R. **Vacinação de camundongos Balb/c com o gene da gp43 de *Paracoccidioides Brasiliensis*: estudo da resposta imune.** São Paulo, 2000. [Tese de Doutorado – Escola Paulista de Medicina, Universidade Federal Paulista].

*Paracoccidioides brasiliensis* é um fungo dimórfico que causa paracoccidioidomicose (PCM), uma doença que afeta geralmente trabalhadores rurais, mas que também pode chegar até grandes centros urbanos através da migração de indivíduos infectados. É encontrada na América Latina, sendo a micose profunda mais prevalente nesta região. O uso de vacinas na prevenção de doenças infecciosas têm sido utilizado com bastante sucesso contra infecções causadas por vírus e bactérias, porém não foi ainda eficazmente utilizado na prevenção de doenças fúngicas. Dentre as diversas maneiras de se produzir vacinas, nos últimos anos foi desenvolvido uma metodologia que utiliza seqüências de DNA, o que se convencionou chamar de vacinas genéticas. Esta terceira geração de vacinas têm sido utilizada em ensaios de imunoproteção contra infecções virais, bacterianas e parasitárias, e o objetivo deste trabalho foi buscar o desenvolvimento de uma vacina genética contra a PCM.

Resultados prévios mostraram que a imunização com a gp43 nativa ou com um peptídeo de 15 aminoácidos (P10) contido neste antígeno protegeu camundongos contra o desafio de leveduras virulentas de *P. brasiliensis*. Para determinar se similar imunidade protetora poderia ser conseguida pela imunização com DNA, o cDNA da gp43 foi subclonado em um vetor de expressão para células de mamíferos denominado VR-1012 (Vical Inc.), criando assim o vetor VR-gp43. Grupos de camundongos BALB/c foram imunizados com 100µg de VR-

gp43 ou VR-1012, num total de 4 doses, com intervalos de 2 semanas, por 2 meses. A resposta humoral contra a gp43 aumentou durante a imunização com VR-gp43, sendo IgG1, IgG2a e IgG2b os principais isótipos produzidos. Resposta imune celular também foi induzida, como medido pela estimulação *in vitro* com gp43 de células de linfonodos dos animais imunizados com VR-gp43, com alta produção de IL-2 e  $\gamma$ -INF. Estes resultados sugerem que uma resposta imune celular mista TH1/TH2, modulada por  $\gamma$ -INF, foi induzida pela imunização com DNA neste modelo murino. A imunidade induzida foi duradoura e capaz de proteger camundongos BALB/c infectados com leveduras virulentas de *P. brasiliensis*, levando à significativa diminuição do número de leveduras nos pulmões e redução ou não disseminação para baço e fígado dos camundongos, quando comparado com os animais controles.

Estes resultados indicam que a imunização de camundongos BALB/c com um vetor de expressão que carrega o gene da gp43 do *P. brasiliensis* sob o controle do promotor do citomegalovírus induz imunidade humoral e celular específicas contra o produto traduzido deste gene, e que esta imunidade é protetora contra o desafio intratraqueal de leveduras virulentas do fungo. Este trabalho mostra ainda que a imunização gênica é uma alternativa viável para induzir imunidade protetora também contra infecções fúngicas, sendo um dos primeiros relatos feitos nessa área.