

BIANCA LETÍCIA ROCHA

**VACINAS FÚNGICAS: ESTUDO DA RESPOSTA IMUNE,  
DESAFIOS PARA O DESENVOLVIMENTO E IMUNÓGENOS  
CANDIDATOS PARA PARACOCCIDIOIDOMICOSE,  
CANDIDOSE E CRIPTOCOCOSE**

BELO HORIZONTE

2010

BIANCA LETÍCIA ROCHA

**VACINAS FÚNGICAS: ESTUDO DA RESPOSTA IMUNE,  
DESAFIOS PARA O DESENVOLVIMENTO E IMUNÓGENOS  
CANDIDATOS PARA PARACOCCIDIOIDOMICOSE,  
CANDIDOSE E CRIPTOCOCOSE.**

Monografia apresentada ao programa de Pós-Graduação em Microbiologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, como pré-requisito para a obtenção do grau de Especialização em Microbiologia.

Orientador: Prof. Dr. Daniel de Assis Santos.

BELO HORIZONTE

2010

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	Papel das células dendríticas em induzir e regular a resposta imune adaptativa	29
----------	--	----

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AIDS – Síndrome da Imunodeficiência Adquirida

AMP – Adenosinamonomofosfatocíclica

DC – Célula dendrítica

DNA – Ácido Desoxirribonucléico

HIV – Vírus da Imunodeficiência Adquirida

IgG – Imunoglobulina G

IL- Interleucina

INF- $\gamma$  – Interferon Gama

MBL – Receptor para manose e lectina

MHC – Complexo principal de histocompatibilidade

NK – Célula natural killer

PAMPs – Padrões moleculares associados à patógenos

PRRs – Receptores de reconhecimento de padrões

TNF- $\alpha$  – Fator alfa de necrose tumoral

## SUMÁRIO

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

1. INTRODUÇÃO	08
2. JUSTIFICATIVA	13
3. OBJETIVO	15
4. METODOLOGIA	16
5. REFERENCIAL TEÓRICO	17
5.1 Imunidade inata	17
5.2 Imunidade adquirida	19
5.2.1 Imunidade humoral	20
5.2.2 Imunidade celular	21
5.3 Vacinas fúngicas	23
5.3.1 Vacinas contra <i>Candida albicans</i>	27
5.3.2 Vacinas contra <i>Cryptococcus sp</i>	29
5.3.3 Vacinas contra <i>Paracoccidioides brasiliensis</i>	32
6. CONCLUSÕES	35
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	36

## RESUMO

Nos últimos anos a prevalência de doenças fúngicas aumentou em pacientes imunodeficientes e também que permaneceram hospitalizados por um longo período de tempo. Este fato se deve principalmente ao uso de medicamentos imunossuppressores, antibióticos, antineoplásicos, próteses e procedimentos cirúrgicos invasivos. Atualmente, a terapia antifúngica convencional é o tratamento de escolha para a maioria das doenças fúngicas. No entanto, quando se refere a infecções sistêmicas, a terapia é considerada uma problemática, por que além da possibilidade de selecionar micro-organismos resistentes, existem poucas opções de medicamentos disponíveis no mercado, que por sua vez são caros, pouco efetivos para o tratamento de pacientes imunossuprimidos além de apresentar diversos efeitos colaterais. Por isso, há a necessidade de novas opções terapêuticas, e neste contexto as vacinas antifúngicas são alvo crescente de estudo para o tratamento destas infecções. A idéia consiste em associar a vacina antifúngica à quimioterapia habitual e conseqüentemente estimular a resposta imune celular e/ou humoral do hospedeiro. Atualmente, estudos envolvendo adesinas têm demonstrado avanços no desenvolvimento de vacinas contra *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans* e *Paracoccidioides brasiliensis*. No entanto, testes complementares ainda são necessários para que seja possível avaliar a formulação mais segura e conseqüentemente a resposta imune mais eficiente e precisa. Os dados até agora encontrados sugerem que a vacinação diminuiu a quantidade de fungos envolvidos na doença em modelos experimentais e conseqüentemente obteve-se uma redução na agressão ao hospedeiro, sendo então considerada uma opção terapêutica promissora.

Palavras chave: vacinas antifúngicas; gp43; P10; mananas; *Candida albicans*; *Paracoccidioides brasiliensis*; *Cryptococcus neoformans*.

## ABSTRACT

In recent years the increased prevalence of fungal diseases in immunocompromised patients and also to remain hospitalized for a long period of time. This fact is mainly due to the use of immunosuppressive drugs, antibiotics, anticancer drugs, prosthetics and invasive surgical procedures. Currently, conventional antifungal therapy is the treatment of choice for most fungal diseases. However, when referring to systemic infections, therapy is considered a problem, why besides the possibility of selecting resistant microorganisms, there are few options for medications available in the market, which in turn are expensive, ineffective for the treatment immunocompromised patients besides having many side effects. Therefore, there is a need for new treatment options, and in this context antifungal vaccines are increasingly the target of study for the treatment of these infections. The idea is to engage the usual antifungal chemotherapy vaccine and hence stimulate cellular immune response and / or humoral host. Currently, studies involving adhesins have demonstrated advances in vaccine development against *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans* and *Paracoccidioides brasiliensis*. However, further tests are needed to be able to evaluate the safest design and consequently the immune response more efficiently and accurately. The data found so far suggest that immunization reduced the amount of yeast involved in the disease in experimental models and consequently obtained a reduction in aggression against the host, then being considered a promising therapeutic option.

## 1. INTRODUÇÃO

Qualquer infecção de origem fúngica é chamada de micose. As micoses são em geral infecções de longa duração, porque os fungos crescem lentamente. As micoses são classificadas de acordo com o grau de envolvimento no tecido e modo de entrada no hospedeiro: sistêmica, subcutâneas, cutâneas, superficial ou oportunista (TORTORA, 2005). Estudos realizados em pacientes hospitalizados mostraram que as infecções fúngicas estão entre as primeiras cinco causas de infecções, com taxa de incidência absoluta superior a 1% (CASSONE, 2008). Dentre os agentes causadores das infecções fúngicas, *Paracoccidioides brasiliensis*, *Candida albicans* e *Cryptococcus neoformans* são freqüentes patógenos associados a infecções fúngicas de grande relevância clínica (MARQUES, 2008; SPELLBERG *et al.*, 2005).

A paracoccidioidomicose (PCM) é considerada uma micose sistêmica que têm como agente etiológico o fungo *Paracoccidioides brasiliensis*. Este fungo caracteriza-se como termicamente dimórfico, apresenta-se sob a forma de levedura quando incubado a 37°C e sob a forma de micélio quando incubado a 25°C (TABORDA *et al.*, 2004; PUCCIA & TRAVASSOS, 1991; MARQUES *et al.*, 2008; PUCCIA, 1986). O habitat natural do *P. brasiliensis* não este bem elucidado, mas acredita-se que o fungo viva saprofiticamente na natureza (SIDRIM & ROCHA, 2004). A infecção ocorre predominante no Brasil e outros países da América Latina e acomete comumente trabalhadores rurais (TABORDA *et al.*, 2004; MARQUES *et al.*, 2008). Uma estimativa sobre a incidência de PCM na América Latina mostra que cerca de 10 milhões de pessoas podem ser infectados e 2% delas podem desenvolver a doença e que a incidência pode aumentar em áreas de desmatamento recente, práticas que envolvam a agitação do solo além de indivíduos imunocomprometidos (MARQUES *et al.*, 2008; TABORDA *et al.*, 2004). As duas formas clínicas descritas consistem na forma aguda, que é caracterizada por imunidade celular comprometida, reações de hipersensibilidade tardia ausente, aumento da proliferação sistêmica do fungo e alta taxa de mortalidade e

a forma crônica, que pode variar de doença leve a crônica grave, com exacerbada resposta imune celular do hospedeiro e formação de granulomas contendo células fúngicas, podendo evoluir para desenvolvimento de sequelas, incluindo fibrose e comprometimento da função pulmonar (TABORDA *et al.*, 2004; BRAGA *et al.*, 2009).

*Candida albicans* é comensal em seres humanos e podem ser encontrada na microbiota normal da pele, boca, vagina e intestino (DEEP, 1997; CASADEVALL *et al.*, 2002). Considerado um importante patógeno porque causa desde doenças superficiais da pele (formas leves) a enfermidades graves e disseminadas (DEEPE, 1997). Este patógeno é o quarto microrganismo mais frequentemente isolado de infecções na corrente sanguínea, causando uma mortalidade de 40 a 50% durante a doença disseminada mesmo com a terapia antifúngica (SPELLBERG *et al.*, 2005; HIBRAHIM *et al.*, 2005).

As infecções por *Candida albicans* são normalmente consideradas infecções oportunistas, ou seja, é frequente infecções em pacientes com quadro de imunossupressão, seja por uso de medicamentos ou por doenças imunossupressoras. Nos últimos anos, este fungo tornou-se uma grande causa de morbidade entre os pacientes infectados com o vírus da imunodeficiência humana (HIV) e também de mortalidade entre pacientes internados em unidades de terapia intensiva ou submetidos à quimioterapia para doenças malignas ou indivíduos transplantados, sobretudo os que sofreram transplante hepático, uma vez que estes indivíduos estão mais susceptíveis devido à imunossupressão (DEEP, 1997; CASADEVALL *et al.*, 2002). As manifestações clínicas das candidíases apresentam grande diversidade de quadros: a candidíase cutâneo-mucosa; candidíase sistêmica ou visceral e candidíase alérgica (DEEPE, 1997).

O *Cryptococcus neoformans* é fungo cosmopolita e têm sido relatados casos de criptococose em todas as regiões do mundo. São encontrados habitando solos e fezes de aves domésticas como pombos, galinhas e perus. A presença de cápsula polissacarídica é uma característica distintiva em relação a outras leveduras de importância médica (BLANCO & GARCIA, 2008). Sua importância clínica tem aumentado significativamente, em virtude da incidência da AIDS (Síndrome da Imunodeficiência Adquirida). A doença é caracterizada por um primeiro estágio, onde a infecção fica delimitada ao sistema respiratório, podendo assumir as formas aguda, subaguda ou crônica. Pode, ainda, apresentar-se como uma infecção secundária, resultante da disseminação para o sistema nervoso central, sítio pelo qual a levedura apresenta tropismo, podendo acarretar quadros de meningite, encefalite ou meningoencefalite. O polissacarídeo capsular atua como um fator de virulência outros fatores são presença da enzima fenoloxidase, que sintetiza melanina e outros pigmentos a partir de uma variedade de precursores fenólicos e da enzima urease, responsável pela hidrólise da uréia, somadas à capacidade de crescimento a 37°C. Dentre as infecções oportunistas que acometem pacientes portadores de HIV, a criptococose é a quarta causa mais frequente de infecção (CASALI *et al.*, 2001).

A grande maioria dos fungos provenientes do meio externo ou mesmo aqueles que fazem parte da microbiota do hospedeiro, não produzem nenhum dano ao hospedeiro, desde que as barreiras naturais de defesa estejam íntegras, impedindo desta maneira a instalação desses fungos que causam dano tecidual e, por conseguinte, doença. Entretanto, fatores intrínsecos e extrínsecos que modificam as defesas do hospedeiro podem propiciar as infecções fúngicas (SIDRIM & ROCHA, 2004).

A resposta imune tem papel fundamental na defesa contra agentes infecciosos. Para quase todas as doenças infecciosas, o número de indivíduos expostos à infecção é bem superior ao dos que apresentam doença, indicando que a maioria das pessoas tem condições de destruir esses microorganismos e impedir a progressão da infecção.

Em contraste, as deficiências imunológicas, sejam da imunidade inata (disfunções de células fagocíticas e deficiência de complemento) ou da imunidade adaptativa (deficiência de produção de anticorpos ou deficiência da função de células T), são fortemente associadas com aumento de susceptibilidade a infecções (TORTORA *et al*, 2006).

Os indivíduos hígidos são protegidos contra os microrganismos por diferentes mecanismos. Um desses mecanismos é a imunidade inata, que se caracteriza por apresentar capacidade limitada para distinguir um microrganismo do outro, além de funcionar do mesmo modo contra a maioria dos agentes infecciosos. Os principais componentes da imunidade inata consistem em: (1) barreiras físicas e químicas como epitélios e substâncias antimicrobianas produzidas nas superfícies epiteliais; (2) proteínas sanguíneas como sistema de complemento e outros mediadores da inflamação; (3) células fagocíticas (neutrófilos, macrófagos e outros leucócitos, tais como as células *natural killers*) (TORTORA *et al*, 2006).

Em contraste com a imunidade inata, existem mecanismos de defesa mais evoluídos, que são estimulados pela exposição aos agentes infecciosos e aumentam de magnitude e de capacidade defensiva em cada sucessiva exposição a um determinado patógeno - resposta adquirida. As características desta modalidade são: uma notável especificidade para distintas moléculas; a especialização, capacitando-as a responder de modo particular aos vários tipos de microrganismos; e sua capacidade para lembrar e responder mais vigorosamente às repetidas exposições ao mesmo patógeno. Os componentes da imunidade específica são os linfócitos e seus produtos, os anticorpos (TORTORA *et al*, 2006).

Atualmente, a quimioterapia é a base do tratamento das micoses descritas acima. Dependendo da virulência do fungo, o estado imunológico do hospedeiro, a manifestação clínica da doença, o grau de comprometimento tecidual, o tratamento

pode ser prorrogado por longos períodos com alta possibilidade de falhas terapêuticas (TRAVASSOS *et al*, 2008).

O desenvolvimento de vacinas profiláticas ou terapêuticas tem se tornado foco de interesse para os pesquisadores nos dias atuais sendo considerado relevante não só para reduzir o tempo de tratamento bem como, para prevenir recaídas e oferecer novas opções terapêuticas para doenças fúngicas (TRAVASSOS, 2008). Neste contexto destacam-se as vacinas terapêuticas, que utilizadas em associação à quimioterapia habitual, podem eliminar o fungo por meio do mecanismo imune celular (CASADEVALL *et al*, 2002).

## 2. JUSTIFICATIVA

Nos últimos anos, as micoses têm recebido grande atenção por várias razões: são produzidas por fungos que são amplamente distribuídos no ambiente e, portanto são difíceis de erradicar; as manifestações clínicas das doenças são variáveis; de difícil diagnóstico, uma vez que há dificuldade de interpretar se a presença do fungo é colonização, infecção ou doença; além de um tratamento problemático (BLANCO & GARCIA, 2008).

Atualmente, a terapia antifúngica convencional é o tratamento de escolha para a maioria das infecções. No entanto, o tratamento atual de micoses invasivas são uma problemática: em comparação com a terapia antibacteriana, o número de antifúngicos disponíveis neste momento é pequeno, pouco efetivo para tratar pacientes imunossuprimidos, com efeitos colaterais consideráveis além da possibilidade de seleção de micro-organismos resistentes (BLANCO & GARCIA, 2008). Por isso, torna-se importante o desenvolvimento de vacinas para uso terapêutico em doenças fúngicas.

A prevalência de doenças fúngicas tem aumentado significativamente em pacientes hospitalizados e outros indivíduos com imunidade comprometida. Os principais fatores associados a esta prevalência são: aumento no uso de medicações imunossupressoras sobretudo para pacientes transplantados ou com doença autoimune, uso de antibióticos, antineoplásicos, próteses, procedimentos cirúrgicos invasivos, queimaduras, neutropenia, infecção pelo HIV e diabetes, fatores que causam rompimento nas barreiras protetoras do organismo tornando os indivíduos mais susceptíveis a infecção (BLANCO & GARCIA, 2008; CASSONE, 2008; DEEPE, 1997).

Desta forma, os pesquisadores têm demonstrado grande interesse no desenvolvimento de novas opções terapêuticas como o desenvolvimento de vacinas

contra fungos (DEEP, 1997; CASSONE, 2008) com a finalidade de investir em ferramentas imunológicas capazes de se integrar a quimioterapia habitual e consequentemente estimular a resposta imune celular e/ou humoral do hospedeiro (CASADEVALL *et al*, 2002).

### **3. OBJETIVO**

O presente estudo tem por fim fornecer uma visão geral acerca dos principais mecanismos de resposta imune a fungos, discutir os desafios para a produção de vacinas fúngicas e realizar uma revisão dos imunógenos candidatos a vacinas fúngicas para paracoccidiodomicose, candidose e criptococose.

#### 4. METODOLOGIA

Buscando atender aos objetivos, foi utilizada abordagem qualitativa de pesquisa e como método, a revisão integrativa da literatura. O levantamento bibliográfico foi realizado com base na necessidade de construirmos um conhecimento acerca dos mecanismos de resposta imune a fungos, vacinas antifúngicas e imunógenos fúngicos. Foram selecionados periódicos internacionais publicados entre 1990 até o ano de 2010 e indexados nas bases de dados *Pubmed*, *Scopus*, *scielo* e *banco capes de teses* com disponibilidade “*on-line*” e no formato “*full text*”.

## 5. RESULTADOS

O Sistema imune é o conjunto de células, tecidos, órgãos e moléculas que os humanos e outros seres vivos usam para a eliminação de agentes ou moléculas estranhas, com a finalidade de se manter a homeostasia do organismo. Os mecanismos fisiológicos do sistema imune consistem numa resposta coordenada dessas células e moléculas diante dos organismos infecciosos e dos demais ativadores, o que leva ao aparecimento de respostas específicas e seletivas, inclusive com memória imunitária, que também pode ser criada artificialmente, através das vacinas (HAMAD, 2008). Neste tópico, serão abordados conceitos básicos dos principais componentes do sistema imune, os mecanismos de resposta específica contra os micro-organismos aqui abordados, como também uma abordagem acerca das promissoras Vacinas fúngicas como opção de tratamento para as enfermidades causadas por fungos.

### 5.1 Imunidade inata

Imunidade inata ou natural é definida como o componente do sistema imunológico, que utiliza moléculas da linha germinal, ou seja, nasce com o indivíduo sem a necessidade de introdução de substâncias ou estruturas exteriores ao organismo, que visam à eliminação de substâncias estranhas e nocivas ao hospedeiro (BLANCO & GARCIA, 2008; DEEPE, 1997). Os componentes celulares da imunidade inata são considerados a “primeira linha” de defesa do hospedeiro contra fungos e consiste em uma resposta pouco específica, no entanto, há evidencia crescente que elas têm importante papel na ativação e amplificação da imunidade celular e humoral por fornecer sinais específicos (BLANCO & GARCIA, 2008; DEEPE, 1997).

Este sistema é composto por: barreiras físicas como pele e membrana mucosas íntegras; peptídeos antimicrobianos cíclicos (AMPc) presentes na superfície celular

(BLANCO, 2008); defensinas que penetram na membrana celular e levam a formação de poros na membrana do microrganismo; antagonismo microbiano (bactérias da microbiota que impedem o crescimento de microrganismos nocivos); colectinas que auxiliam na depuração dos microrganismos (HAMAD, 2008).

As células fagocíticas profissionais (células dendríticas, macrófagos, monócitos, neutrófilos) reduzem a carga fúngica (BLANCO & GARCIA, 2008; HAMAD, 2008), matando o fungo por estresse oxidativo (produção de peróxidos e radicais livres que causam dano aos componentes celulares como proteínas, lipídeos e DNA) e não oxidativo (envolve a lise celular por defensinas e neutrófilos por opsonização). Além disso, mediadores liberados pelos fagócitos restringem o crescimento de fungos por meio do sequestro de ferro e inibição do dimorfismo no caso específico do *P. Brasiliensis* (HAMAD, 2008).

As CDs e os macrófagos ganham grande destaque na imunidade inata entre as células fagocíticas, uma vez que, elas contribuem no estímulo de respostas mais específicas (Imunidade adquirida) e funcionam como links entre a imunidade inata e a adquirida (CASSONE, 2008; HAMAD, 2008).

No entanto, o papel central das células dendríticas decorre da sua capacidade de expressar um diversificado repertório de receptores de reconhecimento de padrões (PRR), que reconhecem e se ligam a uma grande variedade de padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs) presentes em diferentes fungos e outros microrganismos (BLANCO & GARCIA, 2008; CASSONE, 2008; DEEPE, 1997; HAMAD, 2008). Os PRRs mais intensamente estudados incluem os receptores Toll-like (TLRs), receptor 3 de complemento (CD11b e CD18), receptor para manose e lectina (MBL), receptores Fcγ e Dectin-1 que mediam cascatas de sinalização que resultam na produção de citocinas, AMP e sinalização para outras moléculas efetoras (CASSONE, 2008; HAMAD, 2008). A ativação simultânea de múltiplos PRRs por um patógeno

fúngico proporciona ao sistema imune uma ampla série de possibilidades para uma resposta imune efetiva e específica (BLANCO & GARCIA, 2008; HAMAD, 2008).

As células dendríticas, como a célula fagocítica, pode internalizar e processar um diversificado conjunto de peptídeos presentes em fungos. Além disso, são eficazes como células apresentadoras de peptídeos antigênicos às células T, devido a sua capacidade de expressar ligantes para tais células (BLANCO & GARCIA, 2008; CASSONE, 2008; HAMAD, 2008), que leva à produção de citocinas como IL12 e IL23, ativação e diferenciação de células T nativas em CD4+ e CD8+, e a expressão da atividade antifúngica pela imunidade adaptativa (CASSONE, 2008).

## **5.2 Imunidade Adquirida**

Em contraste com a imunidade inata, a imunidade adquirida requer reconhecimento de moléculas específicas. A magnitude da resposta é muitas vezes amplificada a cada exposição a essas moléculas. As células T e B são os dois principais constituintes da imunidade adquirida, e uma das características distinguíveis, é que eles possuem memória para a molécula que inicialmente os ativou (DEEPE, 1997).

Embora a estimulação de imunidade inata por componentes da vacina pode ser alcançada, é o sistema imune humoral e celular que deve ser ativado para fornecer a imunidade de longa duração contra fungos (DEEPE, 1997).

### 5.2.1 Imunidade humoral (HI)

A imunidade mediada por células têm sido reconhecida como o principal mediador de resistência do hospedeiro aos fungos (DEEPE, 1997), mas há um crescente número de evidências que reconhecem os anticorpos como elementos capazes de contribuir para uma resposta imune protetora contra alguns fungos (DEEPE, 1997; HAMAD, 2008).

As principais funções reconhecidas de anticorpos em infecções fúngicas incluem: prevenção de aderência ao bloquear a ligação dos fungos às células do hospedeiro; neutralização de toxinas que aumentam a fagocitose de fungos e, conseqüentemente, direcionando o organismo para compartimentos celulares (p.ex. fagolisossomas) que são hostis, além de, citotoxicidade celular dependente de anticorpos (BLANCO & GARCIA, 2008; DEEPE, 1997).

Na última década, estudos realizados demonstram que a HI pode proteger contra infecções por fungos caso certos tipos de anticorpos protetores estejam disponíveis em quantidade suficiente. Além disso, especificidade e isotipo de anticorpos têm acentuados efeitos em eficácia protetora (BLANCO & GARCIA, 2008).

Estudos realizados com *C. albicans* e *C. neoformans* demonstraram que os anticorpos podem ligar-se a moléculas fúngicas como a mananas para *Candida albicans* ou polissacarídeo da cápsula de *C. neoformans*, que modulam a expressão da imunidade celular, prolongando a sobrevivência e diminuindo a carga fúngica em camundongos (BLANCO & GARCIA, 2008; DEEPE, 1997; HAMAD, 2008). Desta forma, os anticorpos podem contribuir para aumentar a intensidade da imunidade celular (BLANCO, 2008). No entanto, para ambos os microrganismos, foi possível observar que a administração do anti-soro monoclonal em animal produziu resultados mistos, ou seja, em alguns, o soro foi protetor enquanto em outros não (DEEPE, 1997).

Neste contexto, um dos desafios para o desenvolvimento de vacinas, consiste inicialmente em identificar os antígenos presentes nos fungos (DEEPE, 1997) e posteriormente limitar o repertório de anticorpos que são gerados em resposta a um epitopo, visando obter anticorpos específicos que resultem em ação protetora ao hospedeiro (DEEPE, 1997; HAMAD, 2008).

O advento da tecnologia de anticorpos monoclonais tem facilitado a identificação dos anticorpos que evocam uma resposta imune protetora. Definindo o epitopo que pode estimular a produção de anticorpos protetores, há a vantagem de eliminar os anticorpos desnecessários (DEEP, 1997).

### **5.2.2 Imunidade celular**

A imunidade mediada por células é considerada a principal forma de defesa contra doenças fúngicas, e este fato tem por base observações clínicas em pacientes com imunidade celular inata ou adquirida deficiente, inclusive infecções por HIV, onde há depleção de células T CD4+ (CASSONE, 2008). Além disso, esta teoria tem sido apoiada por estudos imunológicos em camundongos com deleção genética de células T e citocinas, que mostraram aumento na susceptibilidade a infecções fúngicas (incluindo candidíase e histoplasmose), dependendo do tipo de célula T deficiente (CASSONE, 2008; DEEPE, 1997).

Neste contexto, as células dendríticas, como células apresentadoras de antígeno, fagocitam o fungo, processam o antígeno e apresentam seus epítomos às moléculas do complexo principal de histocompatibilidade (MHC) de classe I ou II, presentes nas células T. Os PRRs presentes nas células dendríticas interagem com os PAMPs, como manoproteínas e  $\beta$ -glucanas em fungos, e sinais para o início de respostas inflamatórias específicas e não específicas são gerados. Esta interação PAMPs-PRRs

desencadeia uma complexa cascata de sinalização intracelular que, leva a ativação e diferenciação de células T nativas em CD4+ e CD8+, e a expressão da atividade antifúngica pela imunidade adaptativa (CASSONE, 2008).

A FIGURA 1 resume os principais aspectos da imunidade mediada por células antifúngicas.

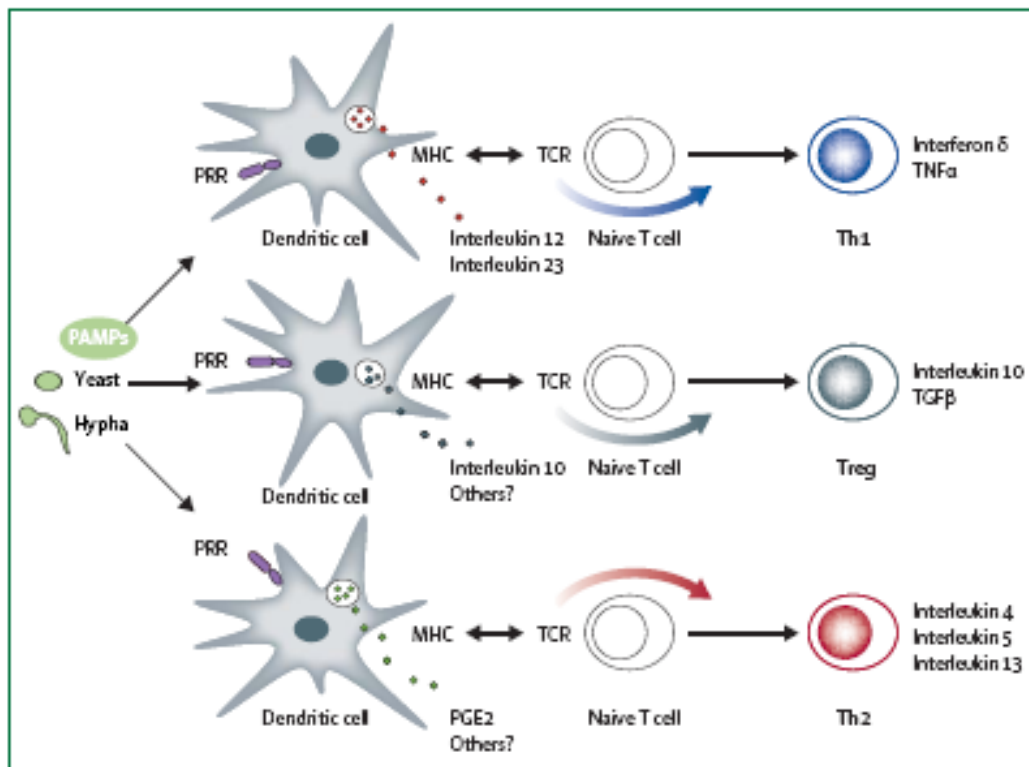


Figura 1: Papel das células dendríticas em induzir e regular a imunidade adaptativa. Fonte: CASSONE, 2008.

Nos seres humanos, células T CD4+ são essenciais para a defesa do organismo. Estas células reconhecem peptídeos ligados ao MHC de classe II, enquanto que as células T CD8+ se ligam ao MHC de classe I. O principal mecanismo de resistência do hospedeiro a infecções fúngicas quando células T CD4+ são ativadas consiste na produção de citocinas. As células T CD4+ podem ser divididas em células T helper (Th1) e T helper 2 (Th2) (DEEPE, 1997).

A diferenciação de Th para Th1 representa o fator determinante de resistência a infecções por fungos (HAMAD, 2008). Uma célula que se diferenciar em perfil Th1, resultara na produção de citocinas como INF- $\gamma$  e TNF- $\alpha$  os quais são forte ativadores de células fagocíticas, capazes de matar ou inibir o crescimento de fungos (CASSONE, 2008; DEEPE, 1997). Além disso, os linfócitos natural Killer, células T CD4+ e CD8+ podem exercer toxicidade direta contra alguns fungos após a ativação de IL 2 *in vitro*, embora a relevância *in vivo*, desse fenômeno é ainda desconhecida (CASSONE, 2008). Portanto, a indução de respostas Th1 confere significativa proteção contra diferentes formas de micoses, enquanto Th2 resulta na susceptibilidade às infecções, uma vez que ambas as respostas, Th1 e Th2, exercem efeitos antagônicos, sendo a resposta Th2 supressora do sistema imune enquanto a Th1 resulta em um efeito ativador. Por isso, a resposta Th1 é o perfil que os pesquisadores visam obter no desenvolvimento de vacinas (BLANCO & GARCIA, 2008).

### **5.3 Vacinas fúngicas: perspectivas e desafios**

O conceito de que as vacinas fúngicas podem ser úteis não é mais apenas uma ilusão. Há uma necessidade crescente de qualquer vacina seja ela preventiva ou terapêutica para combater a crescente incidência de infecções fúngicas. Embora a base de conhecimento ainda não esteja completamente elucidada, um grande progresso tem sido feito para compreender os mecanismos básicos de defesa do hospedeiro (DEEPE, 1997).

Compreender os mecanismos que conferem imunidade protetora no hospedeiro contra um determinado patógeno é considerado essencial para elaboração de vacinas (DEEPE, 1997; HAMAD, 2008). Quando esta informação estiver disponível, a busca de componentes do fungo que provocam o tipo específico de resposta imune pode ser realizado (BLANCO & GARCIA, 2008; DEEPE, 1997). Segundo HAMAD 2008, apesar

de semelhanças entre células humanas e fúngicas, a lista de potenciais antígenos oriundos dos fungos que podem ser imunogênicos aos homens está crescendo (HAMAD, 2008).

Neste contexto, uma importante etapa na produção de uma vacina, é a identificação de um antígeno a partir do fungo capaz de gerar resposta imunogênica no hospedeiro. Dentro de um organismo eucariótico, como mencionado anteriormente há potencialmente milhares de moléculas candidatas que podem estimular uma resposta imune. Porém, distinguir as substâncias capazes de estimular respostas protetoras das que não são torna-se um grande desafio (BLANCO & GARCIA, 2008; DEEPE, 1997; HAMAD, 2008).

As proteínas recombinantes, que podem ser purificadas para fins de vacinação ainda são um grande complexo nas quais há mistura de moléculas que induzem respostas imunes opostas, ou seja, podem tanto levar a um estímulo protetor quanto não protetor. A idéia de reduzir o tamanho do imunógeno, de modo a ter unidades de peptídeo único capaz de direcionar especificamente a resposta imune direta envolvendo células T CD4+, T CD8+ é uma idéia aceita e tem despertado grande interesse, embora não haja até os dias atuais vacinas baseados em peptídeos e aprovadas para uso humano (TRAVASSOS *et al.*, 2008).

Vários carboidratos e peptídeos estão sendo estudados com o potencial imunogênico, no entanto, tais substâncias apresentam limitações para a produção de vacinas como: dificuldade na purificação; baixo rendimento; moléculas facilmente degradáveis, além de carboidratos serem fracos imunógenos e necessitando desta forma de um forte adjuvante (DEEPE, 1997; TRAVASSOS *et al.*, 2008).

A escolha do adjuvante é fundamental para a composição de vacinas antifúngicas. Nos últimos anos, vários adjuvantes testados em conjunto com diferentes porções imunogênicas dos fungos provaram ser úteis. Exemplos são: imunização ativa com um

toxóide tetânico associado ao glucuronoxilomanana resultou na produção de anticorpos protetores contra criptococose; toxóide diftérico conjugado com a  $\beta$ -glucana a partir de *Laminaria digitata* foi protetora contra várias formas sistêmicas de *C. Albicans*, em camundongos; Timosina  $\alpha$ 1 mostrou promover a ativação de células dendríticas para produzir IL12 e IFN- $\gamma$  contra aspergilose, sugerindo que TLR são coadjuvantes eficazes; produção de anticorpos contra a molécula chaperona – proteína de choque térmico (HSP90) em infecção por *C. Albicans*, além de vacinação utilizando um recombinante A1s1p (rA1s1p-N) demonstrou proteção contra candidíase disseminada em camundongos BALB/c e também em outras linhagens de camundongos (HAMAD, 2008).

No que se refere às metodologias de vacinação, atualmente pesquisadores tem dado bastante atenção no desenvolvimento de vacinas de DNA. A idéia inicial consiste em usar DNA do plasmídeo codificado e injetá-lo no músculo de animais. Estudos realizados com *M. tuberculosis* resultaram em uma resposta imune protetora, sobretudo uma resposta de células T CD8+ (DEEPE, 1997).

O maior interesse relacionado a vacinas fúngicas de DNA seria de um imunógeno funcionar melhor e de forma mais eficaz como uma vacina genética, uma vez que os genes frequentemente expressos levam a ativação de células T citolíticas (CD8+), o que é interessante para infecções fúngicas, uma vez que esta resposta é desejada nestes casos. Assim, a vacinação genética é superior ao uso de proteínas convencionais, que levam a ativação de células T CD4+ (DEEPE, 1997).

Diversas abordagens de vacinação baseada em DNA foram introduzidas como alternativas a vacinação convencional. Exemplos são: vacina de DNA expressando Hsp90 preparado por clonagem a partir de mRNA de *C. albicans* que demonstrou efeito protetor - resposta IgG contra candidíase sistêmica em camundongos BALB/c; um recombinante de *Blastomyces dermatidis* faltando o gene protetor contra a adesina WI-

1 demonstrou ser patogênico a linhagens de fungos por meio de respostas Th1 (HAMAD, 2008).

Nos dias atuais, a imunização ativa é o método preferido de proteção, uma vez que sensibiliza o sistema imunológico e melhora a esterilização dos órgãos infectados impedindo infecções latentes, porém, grupos de risco como pacientes com AIDS, diabéticos, pacientes com câncer e transplantados, o benefício deste método de vacinação é pouco ou quase inexistente (HAMAD, 2008). No entanto, isolados de antígenos protéicos, principalmente na forma de vacinas recombinantes foi usado alternativamente como imunógenos confiáveis e seguros (TRAVASSOS *et al.*, 2008).

Uma das maiores controvérsias e desafios para a vacinação consiste nos indivíduos imunocomprometidos. Conforme mencionado na introdução pacientes cujo sistema imune foi alterado seja pelo uso de medicamentos ou doenças supressoras como o HIV, por exemplo, estão mais susceptíveis a desenvolver a doença. E é de conhecimento a necessidade de um sistema imune competente para que, estas vacinas sejam eficazes para estes pacientes. Nestes casos, os autores sugerem vacinas que provocam anticorpos protetores devido à longevidade dos anticorpos circulantes. Porém, o desafio será aumentar o efeito da vacina quando o sistema imune for disfuncional, uma opção seria a combinação com citocinas, outra seria vincular a administração da vacina com infusão de células T imunocompetentes ou B para promover imunogenicidade (DEEPE, 1997).

A seguir, serão discutidos estudos até agora realizados no desenvolvimento de vacinas para *Candida albicans*, *Cryptococcus sp* e *Paracoccidioides brasiliensis*.

### 5.3.1. Vacinas contra *Candida albicans*

*Candida albicans* é um comensal em seres humanos e podem ser encontrada na microbiota normal da pele, boca, vagina e intestino (DEEPE, 1997; CASADEVALL *et al*, 2002). Considerado um importante patógeno porque causa desde doenças superficiais da pele (formas leves) a doenças graves e disseminadas (DEEPE, 1997).

As infecções por *Candida albicans* são, em geral, pouco frequentes em indivíduos saudáveis. Normalmente, são consideradas infecções oportunistas, ou seja, é frequentemente associada a pacientes com quadro de imunossupressão, seja por uso de medicamentos ou por doenças imunossupressoras. Nos últimos anos, este fungo tornou-se uma grande causa de morbidade entre os pacientes infectados com o vírus da imunodeficiência humana (HIV) e também de mortalidade entre pacientes internados em unidades de terapia intensiva, submetidos à quimioterapia para doenças malignas ou indivíduos transplantados, sobretudo os que sofreram transplante hepático, uma vez que estes indivíduos estão mais susceptíveis devido à imunossupressão (DEEPE, 1997; CASADEVALL *et al*, 2002).

Os fatores de virulência relacionados a *C. Albicans* consistem em manoproteínas, que são os principais componentes da parede celular e incluem várias adesinas, envolvidas no reconhecimento (carboidratos, proteínas, dentre outros) e adesão às células do hospedeiro. Além disso, a produção de enzimas (proteínases, fosfolipases), pleomorfismo, expressão de antígenos e crescimento a 37°C são extremamente importantes para o fungo causar doenças (SIDRIM & ROCHA, 2004).

Em relação à *Candida albicans*, alguns componentes imunogênicos já foram isolados, como as mananas, enolase e manoproteínas. A partir destes imunógenos

vários estudos estão sendo realizados visando uma formulação de vacina eficaz contra este fungo (CASSONE, 2008).

A enolase é uma proteína que é reconhecida pelos linfócitos. Uma vez reconhecida esta proteína é capaz de estimular uma resposta imune humoral. No entanto, sua eficácia não foi determinada (DEEPE, 1997).

No que se referem às mananas (oriundas da superfície de *C. albicans*), estudos indicam que elas funcionam como adesinas durante o ataque de células de levedura em modelos murinos de macrófagos esplênicos (DEEPE, 1997). As mananas são alvo de grande interesse para obter substâncias úteis para o desenvolvimento de vacinas (CASADEVALL *et al*, 2002).

Um dos primeiros estudos realizados consistiu em empacotar fração de mananas em lipossomas e estes foram usadas para vacinar camundongos BALB/c. Estas frações induziram uma resposta imune protetora em modelos com candidíase disseminada e a habilidade de induzir resistência foi associada com a presença de aglutininas circulantes da fração de mananas. De acordo com este estudo, anti-soros a partir de camundongos vacinados podem possivelmente transferir proteção tão bem quanto um anticorpo monoclonal de fração de mananas (DEEPE, 1997).

Uma fração de mananas foi elaborada, denominada (MP-F2), e esta manoproteína foi administrada em camundongos. Verificou-se que esta proteína estimulou células T CD4+ a produzir IFN- $\gamma$ . Além disso, foi possível observar uma modesta redução no número de unidades formadoras de colônia de *C. albicans*. A molécula dentro deste extrato responsável pela eficácia ainda não foi identificada (DEEPE, 1997).

Estudos realizados utilizando anticorpos séricos para um antígeno de 47 kDa (Hsp90) demonstrou aumento na sobrevivência de pacientes com candidíase disseminada

e foi possível observar opsonização complementar de células de leveduras *in vitro* devido a produção de IgG (CASADEVALL *et al*, 2002; HAMAD, 2008). Desta forma, a imunidade mediada por anticorpos para proteção contra candidíase sistêmica é protetora contra infecção experimental (CASADEVALL; FELDMESSER; PIROFSKI, 2002; DEEPE, 1997).

Uma vacina baseada no *agglutination-like* (ALS1), que é uma adesina que medeia a ligação da *C. albicans* às células humanas esta sendo desenvolvida. O recombinante N-terminal de Als1p (rAls1p-N) resultou em uma alta taxa de sobrevivência e redução significativa de carga fúngica tanto em animais imunocompetentes, quanto imunocomprometidos que apresentavam candidíase disseminada. O mecanismo de proteção foi a indução de imunidade do tipo 1 e também hipersensibilidade tardia para o antígeno. Neste trabalho, foi possível concluir que a vacina rAls1p-N é uma candidata promissora para prevenir a doença invasiva (SPELLBERG, 2005)

### **5.3.2 Vacinas contra *Cryptococcus neoformans***

*Cryptococcus neoformans* é um fungo cosmopolita, sendo encontrado nos focos urbanos como provável poluente aéreo encontrado em poeira domiciliar. Também este associado a aves como pombos e aves em cativeiros (parques e gaiolas domiciliares). No Brasil há um predomínio na região Sul e Sudeste. A transmissão ocorre por meio da inalação das leveduras ou basidiósporos ou através de lesões cutâneas, por exemplo, inoculação traumática (SIDRIM & ROCHA, 2004).

O *Cryptococcus neoformans* é uma levedura com uma característica peculiar que a distingue entre os fungos patogênicos, a presença de uma cápsula de polissacarídeo composto predominantemente por glicuronoxylomanam (GXM), que é essencial para a virulência deste patógeno. O fungo produz melanina que tem ação antifagocítica e

diminui a susceptibilidade a anfotericina B, que é a principal opção terapêutica. Além disso, o fungo é termotolerante, produtor de enzimas e manitol (CASADEVALL *et al*, 2002).

As manifestações clínicas consistem em: infecção assintomática, que se caracteriza como pneumonia auto-limitada (febre, dor no peito e tosse); pulmonar invasiva (como uma pneumonia crônica podendo evoluir para o sistema nervoso central; metastização podendo ocorrer meningite, meningoencefalite e criptococoma (CASALI *et al.*, 2001).

As infecções por *C. neoformans* são relativamente comuns em indivíduos com deficiência de células CD4+ como pacientes com AIDS (CASADEVALL *et al*, 2002). Nos últimos anos, progressos têm sido obtidos no desenvolvimento de uma vacina contra a infecção por *C. neoformans*. A descoberta de um anticorpo monoclonal contra o polissacarídeo capsular, que habitualmente é imunogenico, conjugado com toxóide tetânico, tem recebido grande atenção e tem levado a rápidos avanços no campo (CASADEVALL *et al*, 2002).

Camundongos receberam injeção de GXM conjugado com toxóide tetânico e foi observado que o conjugado estimulou a produção de anticorpos com a mesma especificidade que os anticorpos gerados durante a infecção ativa. Este achado sugere que o conjugado pode ser útil para a vacinação (DEEPE, 1997). Inicialmente, a vacina baseada no polissacarídeo capsular não apresentou fator de proteção, somente quando a mesma foi conjugada com forte adjuvante, um toxóide tetânico (GXM-TT), foi observado efeito protetor em ratos após infecção intranasal e intratraqueal (CASADEVALL *et al*, 2002; DEEPE, 1997).

DEVI *et al.*, 1991, sintetizaram uma vacina conjugada de GXM a partir de *C. neoformans* sorotipo A em condições adequadas de uso humano para impedir criptococose disseminada. A GXM purificada foi ligada covalentemente ao toxóide tetânico (TT) e exoproteína de *Pseudomonas aeruginosa* (Repa). A imunogenicidade foi

avaliada em camundongos BALB/C sendo que o conjugado foi introduzido por via subcutânea em solução salina. Ambos os conjugados resultaram em maiores respostas de anticorpos do que GXM isoladamente. No entanto, os conjugados preparados com toxoide tetânico foram mais imunogênicos do que o conjugado Repa. As vacinas conjugadas são suficientemente imunogênicas e pareceram ser adequadas para avaliação clínica.

Estudos com anticorpos monoclonais para GXM revelou que este antígeno poderia provocar tanto respostas protetoras quanto não protetoras que diferiam em isotipo e especificidade. Assim, novamente ressalta-se a importância de se obter antígenos que provocam anticorpos protetores. Uma forma de encontrar esses antígenos é identificar epitopos que são reconhecidas pelo mAbs conhecidos por ser protetor (CASADEVALL *et al*, 2002; HAMAD, 2008).

Um peptídeo mimético do GXM (P13) foi proposto como antígeno para vacinas contra patógenos encapsulados. O peptídeo P13 foi conjugado ao toxóide tetânico (TT) e toxóide diftérico (DT) e administrado por via subcutânea em camundongos transgênicos que produzem anticorpos humanos. Os resultados mostraram que tanto P13-TT quanto P13-DT foram antigênicos. Além disso, o peptídeo suscitou uma resposta de anticorpos humanos com expressão de imunoglobulina humana nos ratos transgênicos portanto, o peptídeo mimético pode ser promissor para o tratamento de infecções por *C. neoformans* (MAITTA *et al.*, 2004).

Esses anticorpos mAbs para GXM não são diretamente tóxico para as células fúngicas. Em vez disso, eles podem mediar proteção, aumentando a eficácia das células efectoras do hospedeiro contra *C. neoformans*. Ao promover anticorpos específicos, a resposta inflamatória pode ser melhorada pela promoção da fagocitose e, conseqüentemente, a apresentação de antígenos, a expressão de moléculas co-estimulatórias e modulação a produção de citocinas também torna-se mais eficaz (CASADEVALL *et al*, 2002; DEEPE, 1997).

Um heptassacarídeo correspondente a um imunodominante do GXM foi produzido e uma forte reação com dois diferentes anticorpos monoclonais IgM para GXM foi obtido. O heptassacarídeo foi conjugado com albumina de soro humano resultando num complexo que provocou reações de IgG de altos títulos em camundongos administrado com adjuvante de Freund. Além disso, um peptídeo mimético de um epítipo GXM, foi isolada de mAb humana. Este peptídeo associado a toxóide tetânico suscitou resposta de anticorpos protetores (TRAVASSOS *et al.*, 2008).

### **5.3.3 Vacinas contra *Paracoccidioides brasiliensis***

O *Paracoccidioides brasiliensis* é o agente etiológico da paracoccidioidomicose, também conhecida como blastomicose sul americana. Considerada uma infecção fúngica granulomatosa crônica e sistêmica que se inicia com infecção pulmonar. Comumente ocorrem disseminações, resultando em lesões granulomatosas nas mucosas nasal, oral e ocasionalmente intestinal, podendo envolver os linfonodos (SIDRIM & ROCHA, 2004).

A enfermidade ocorre em toda a América Latina, desde o México até a Argentina, sendo que no Brasil, Venezuela, Colômbia a incidência é maior. No Brasil as áreas com maior incidência são: Mato Grosso, Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo e Rio Grande do Sul (SIDRIM & ROCHA, 2004).

O habitat natural do fungo na forma micelial ainda não esta completamente elucidada, mas parece que o fungo viva saprofiticamente em solo úmido e ácido, com vegetação abundante, temperaturas moderadas e umidade elevada (TONELLI & FREIRE, 2000). Neste contexto, trabalhadores rurais, com mais de 30 anos, agricultores, pecuaristas, tratoristas ou da construção civil estão mais predispostos ao

desenvolvimento da doença (SIDRIM & ROCHA, 2004). A 37°C parasita o hospedeiro sob a forma de levedura (PUCCIA & TRAVASSOS, 1991).

A infecção é adquirida pela inalação dos propágulos presentes no ambiente. Estes conídios atingem os alvéolos pulmonares e convertem-se em leveduras, caracterizando assim o complexo primário da infecção. O foco primário em geral é assintomático, podendo regredir de forma espontânea com destruição do fungo e formando cicatrizes ou eventualmente pode desenvolver a doença ativa e causar lesões pulmonares localizadas com consequente disseminação para outros órgãos. A manifestação ou não da doença depende das condições genéticas, imunológicas, ocupacionais e sócio-econômicas do hospedeiro e virulência do fungo (TONELLI & FREIRE, 2000).

O estabelecimento da infecção ou doença causada pelo *P. brasiliensis* depende de muitos fatores associados tanto ao agente quanto ao hospedeiro. Entre os principais, pode-se destacar: efeitos hormonais ( $\beta$ -estradiol), constituintes da parede celular  $\alpha$  e  $\beta$  – (1,3)-glucana e as glicoproteínas gp 43, além da melanina. O *P. brasiliensis* sintetiza um complexo de substâncias antigênicas (polissacarídeos, peptídeos e lipídeos) que interagem com sistema imune do hospedeiro (SIDRIM & ROCHA, 2004).

Atualmente, não há vacina para PCM. Vários estudos utilizando animais de laboratórios imunizados com patógenos atenuados, como protozoários, helmintos, dentre outros, tem sido realizados com a tentativa de se pesquisar novas alternativas profiláticas e terapêuticas. No que se refere à PCM, atualmente, o foco têm sido no desenvolvimento de vacinas terapêuticas usadas em associação ao tratamento habitual (DEEPE, 1997).

O principal componente antigênico de *P. brasiliensis*, consiste na glicoproteína de 43 kDa (gp 43), que demonstrou eficácia como antígeno protetor (TABORDA, 1998). Indivíduos hígidos imunizados com a gp 43 produziram níveis substanciais de IFN- $\gamma$ , IL-2 e IL-10, demonstrando bom equilíbrio na secreção de citocinas com resposta imune

efetiva. Já pacientes com PCM produziram baixos níveis de IFN- $\gamma$ , IL-2 e TNF- $\alpha$ , porém, quantidades substanciais de IL-10. Este desequilíbrio pode comprometer a resposta imune do hospedeiro com diminuição na atividade microbicida e capacidade de apresentação de antígeno (DEEP, 2004).

Estudo realizado por TABORDA *et al.*, 1998 & TABORDA *et al.*, 2004, consistiu em infectar camundongos por via intratraqueal com leveduras virulentas de *P. brasiliensis*. Estes camundongos foram posteriormente imunizados com um peptídeo de 15 aminoácidos identificado na molécula gp43 (P10). Este peptídeo induziu proteção vigorosa contra estas leveduras virulentas, com grande diminuição da carga fúngica do pulmão e menor ou nenhuma disseminação para o baço e fígado, quando comparado com os animais do grupo controle.

Formulações de vacina anti-PCM baseadas na GP-43 e peptídeo P10 associada a uma proteína imunorreguladora ligante de TLR-5, *Salmonella entérica* FliC Flagellin têm demonstrado efeitos positivos. Camundongos BALB/c infectados com *P. brasiliensis* foram imunizados com a gp-43 associada à FliC e P10 e concluiu-se que houve indução de resposta Th1 com consequente diminuição na carga fúngica e danos pulmonares (BRAGA *et al.*, 2009; MARQUES, 2008).

Como mencionado anteriormente, ainda é controverso o papel dos anticorpos na resposta imune a fungos, no entanto estudos realizados por BUISSA-FILHO *et al.*, 2008, utilizando anticorpos monoclonais contra a gp43, utilizando abordagens profiláticas e terapêuticas em PCM experimental tem se mostrado protetores.

## 6. CONCLUSÕES

Os estudos realizados até os dias atuais confirmam as vacinas fúngicas como uma promissora opção terapêutica. Grandes progressos já foram feitos para compreender os mecanismos imunes, informação que é essencial para a criação de vacinas fúngicas.

Além disso, evidências conclusivas demonstram que a imunidade mediada por anticorpos pode influenciar de forma benéfica o hospedeiro contra a infecção por *Candida albicans* e *Cryptococcus neoformans*, tanto na prevenção quanto no tratamento de infecções fúngicas. No que se refere ao fungo *Paracoccidioides brasiliensis*, a resposta imune do tipo TH1 evocada durante o processo infeccioso é essencial para a redução da carga fúngica e consequente diminuição nos danos teciduais do hospedeiro.

Bons resultados também estão sendo obtidos na descoberta das moléculas imunogênicas, no entanto, estudos ainda são necessários para o isolamento destas moléculas com a finalidade de se obter uma resposta mais específica e também no desenvolvimento de uma formulação de vacina mais adequada com estudos que demonstrem a efetividade da mesma como vacina profilática e terapêutica.

## 7. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

BLANCO, J. L. & GARCIA M. E. Immune response to fungal infections. **VETERINARY Immuunology and Immunopathology**, v. 125, p. 47-70, 2008.

BRAGA, C. J. M. *et al.* *Paracoccidioides brasiliensis* vaccine formulations based on the gp43-derived P10 sequence and the *Salmonella enterica* FliC flagellin. **Infection and Immunity**, v. 77, p. 1700-1707, 2009.

BUISSA-FILHO, E. *et al.* The Monoclonal Antibody against the Major diagnostic antigen of *Paracoccidioides brasiliensis* mediates immune protection in infected BALB/c mice challenged intratracheally with the fungus. **Infection and Immunity**, v. 76, p. 3321-3328, 2008.

CASADEVALL, A.; FELDMESSER, M.; PIROFSKI, L. Induced humoral immunity and vaccination against major human fungal pathogens. **Current Opinion in Microbiology**, v. 5, p.386-391, 2002.

CASALI, A. K. *et al.* Cryptococcus neoformans. **Biotecnologia Ciencia e desenvolvimento**, p. 34-37, 2001.

CASSONE, A. Fungal vaccines: real progress from real challenges. **Lancet Infect Dis**, v. 8, p. 114-124, 2008.

DEEP, Jr., G. S. Prospects for the development of fungal vaccines. **Clinical microbiology reviews**, v. 10, p. 585-596, 1997.

DEEP, Jr., G. S. Preventive and therapeutic vaccine for fungal infections: from concept to implementation: review. **Expert Rev. Vaccine**, v. 3, p. 1-9, 2004.

DEVI, S. J. *et al.* Cryptococcus neoformans serotype A glucuronoxylomannan-protein conjugate vaccines: synthesis, characterization, and immunogenicity. **Infect Immun**, v. 59, p. 3700-3707, 1991.

HAMAD, M. Antifungal Immunotherapy and Immunomodulation: A Double-hitter Approach to Deal with Invasive Fungal Infections. **Scandinavian Journal of Immunology**, v. 67, p. 533-543, 2008.

IBRAHIM, A. S. *et al.* Vaccination with Recombinant N-Terminal Domain of Als1p Improves Survival during Murine Disseminated Candidiasis by Enhancing Cell-Mediated, Not Humoral, Immunity. **Infection and immunity**, v. 73, p. 999-1005, 2005.

MAITTA R. W., *et al.* Immunogenicity and efficacy of Cryptococcus neoformans capsular polysaccharide glucuronoxylomannan peptide mimotope-protein conjugates in human immunoglobulin transgenic mice. **Infect Immun**, v. 72, p. 196-208, 2004.

MARQUES, F. A. *et al.* Peptide immunization as an adjuvant to chemotherapy in mice challenged intratracheally with virulent yeast cells of *Paracoccidioides brasiliensis*. **Antimicrob Agents Chemother**, v. 50, p. 2814-2819, 2006.

MARQUES, F. A. *et al.* Additive effect of P10 immunization and chemotherapy in anergic mice challenged intratracheally with virulent yeasts of *Paracoccidioides brasiliensis*. **Microbes and infection**, v. 10, p. 1251-1258, 2008.

PUCCIA, R. *et al.* Exocellular Components of *Paracoccidioides brasiliensis*: Identification of a Specific Antigen. **Infeccion and Immunity**, v. 53, p. 199-206, 1986.

PUCCIA, R. & TRAVASSOS, L. R. 43-Kilodalton glycoprotein from *Paracoccidioides brasiliensis*: immunochemical reactions with from patients with paracoccidioidomycosis, histoplasmosis, or Jorge Lobo's disease. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 29, p. 1610-1615, 1991.

SIDRIM, J. J. C. & ROCHA, M. F. G. Micologia médica a luz de autores contemporâneos. **Guanabara Koogan**, 2004.

SPELLBERG, B. J. *et al.* The Anti-*Candida albicans* Vaccine Composed of the Recombinant N Terminus of Als1p Reduces Fungal Burden and Improves Survival in Both Immunocompetent and Immunocompromised Mice. **Infection and immunity**, v. 73, p. 6191-6193, 2005.

TABORDA, C. P. *et al.* Mapping of the T-Cell Epitope in the Major 43-Kilodalton glycoprotein of *Paracoccidioides brasiliensis* which Induces a Th-1 Response protective against fungal infection in BALB/c mice. **Infect. Immun.**, v. 66, p. 786-793, 1998.

TABORDA, C. P. *et al.* Synthesis and Immunological Activity of a Branched Peptide Carrying the T-cell Epitope of gp43, the Major Exocellular Antigen of *Paracoccidioides brasiliensis*. **Scandinavian Journal of Immunology**, v. 59, p. 58, 2004.

TONELLI, E. & FREIRE, L. M. S. Doenças infecciosas na infância e adolescência. IN: ANDRADE, G. M. Q. & NOGUEIRA, M. G. S. Micoses profundas ii – paracoccidioidomicose, Rio de Janeiro: **Medsa**, p.1490-1510, 2000.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. Microbiologia. **Artmed**, p.342-344, 2005.

TRAVASSOS, *et al.* Attempts at a peptide vaccine against paracoccidioidomycosis, adjuvant to chemotherapy. **Mycopathologia**. v. 0165, p. 341-352, 2008.