

FILIFE VIEIRA BARBALHO

**Desenvolvimento de formulações vacinais profiláticas e terapêuticas
contra histoplasmose a partir de peptídeos derivados do antígeno M
complexadas em nanopartículas de quitosana em modelo murino.**

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

São Paulo
2023

FILIFE VIEIRA BARBALHO

**Desenvolvimento de formulações vacinais profiláticas e terapêuticas
contra histoplasmose a partir de peptídeos derivados do antígeno M
complexadas em nanopartículas de quitosana em modelo murino**

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

Área de concentração: Microbiologia

Orientador: Prof. Dr. Carlos Pelleschi Taborda

Versão corrigida.

São Paulo
2023

RESUMO

BARBALHO, Filipe Vieira. **Desenvolvimento de formulações vacinais profiláticas e terapêuticas contra histoplasmose a partir de peptídeos derivados do antígeno M complexadas em nanopartículas de quitosana em modelo murino.** 2023. 214 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biomédicas: Microbiologia) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2023.

Histoplasma capsulatum é um fungo de distribuição mundial e o agente causador da histoplasmose. A infecção geralmente causa manifestações autolimitadas em pacientes imunocompetentes, mas pode assumir uma forma progressiva e disseminada em pacientes imunocomprometidos, colocando estes sob alto risco de mortalidade, em especial para pessoas vivendo com HIV/AIDS. O tratamento com antifúngicos utilizado pode se prolongar durante anos e causar efeitos adversos, o que dificulta a adesão dos pacientes. As vacinas apresentam potencial para um combate mais eficiente dessa doença, modelando o próprio sistema imune dos pacientes para impedir seu estabelecimento ou para combater a infecção em curso, permitindo a sinergia com tratamentos já utilizados, ou sua completa substituição. Recentemente, peptídeos derivados do antígeno M de *H. capsulatum* foram desenvolvidos e testados como candidatos a antígenos vacinais contra a histoplasmose. Apesar de alguns destes já serem provados como eficientes na profilaxia contra a infecção, a combinação destes com sistemas nanoparticulados tem potencial para reduzir efeitos adversos e aumentar a eficiência de formulações vacinais. Nanopartículas de quitosana ganham destaque, um biomaterial biocompatível e com propriedades de adjuvante. Neste trabalho, de três peptídeos testados, o peptídeo P6 foi capaz de ser incorporado à quitosana para formar nanopartículas de produção reprodutível e de características físicas estáveis. Testes *in vitro* e *in vivo* para atestar se há toxicidade destas nanopartículas mostraram relativa segurança no uso destas. Apesar da administração intranasal

destas nanopartículas com P6 incorporado em camundongos não ter apresentado benefícios no seu uso profilático quando desafiado com a infecção, foi observado que este peptídeo, em conjunto com nanopartículas de quitosana de forma não incorporada, demonstrou capacidade de reduzir a carga fúngica dos animais infectados. Testes em modelo terapêutico de vacinação mostram um potencial uso do peptídeo P6 para tratar a histoplasmose. Concluimos que o uso de nanopartículas de quitosana como adjuvantes para o peptídeo P6 aumentam sua potência como antígeno e tem potencial para o desenvolvimento de formulações vacinais visando a pesquisa clínica.

Palavras-chave: Histoplasmose. Vacinação. Antígeno M. Nanotecnologia. Quitosana.

ABSTRACT

BARBALHO, Filipe Vieira. **Development of prophylactic and therapeutic vaccines against histoplasmosis using M antigen-derived peptides associated to chitosan nanoparticles in a murine model.** 2023. 214 p. Dissertation (Master 's Thesis in Biological Sciences: Microbiology) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2023.

Histoplasma capsulatum is a fungus with worldwide distribution and the pathogen that causes histoplasmosis. The infection is generally self-limited in immunocompetent patients, however, it can turn into a life-threatening, progressive disseminated disease in immunocompromised individuals, especially in people living with HIV/AIDS. The antifungal treatment employed against the infection may take years to complete and may cause toxicity, which discourages treatment adherence by the patients. Vaccines are presented as effective alternatives to efficiently defeat the disease, modeling the patient's own immune system to prevent or fend off the infection, and that could be used in synergy with the already established antifungal treatment. Recently, peptides generated with the sequence of the M antigen of *H. capsulatum* were developed and tested as potential vaccine antigens against histoplasmosis. Though some of these peptides were already proven as efficient tools of prophylaxis, combination with nanotechnology could reduce adverse effects and generate more robust vaccine protocols. Chitosan nanoparticles show great advantages to vaccine development, such as biocompatibility and adjuvant properties. In this study, out of three peptides tested, the peptide P6 showed good interaction with chitosan and great encapsulation in chitosan nanoparticles, with reproducibility and stable physicochemical properties. *In vitro* and *in vivo* tests were performed to answer whether these charged nanoparticles are toxic, which revealed a relative safety of the formulation. Although these charged nanoparticles, when administered intranasally in mice, showed no observable benefit to immunized animals challenged with the infection, it was shown that a non-complexed formulation of chitosan nanoparticles and the P6 peptide caused reduction in the pulmonary fungal load of immunized animals. Tests in a

therapeutic model indicate that there is potential for P6 to be utilized as a treatment against histoplasmosis. Concluding, the use of chitosan nanoparticles as adjuvants to the P6 peptide enhanced its capabilities as a vaccine antigen and could be further developed into clinical research.

Keywords: Histoplasmosis. Vaccination. M antigen. Nanotechnology. Chitosan.