

**Inscrição para o concurso Cultural Apaixonados por Imunologia 2ª Edição**

**Categoria: Imagem de citometria**

**Título da imagem:** Coração em chamas - expressão de CD39 em Linfócitos T CD4+, provenientes do pulmão de camundongos C57BL/6 infectados por *Mycobacterium tuberculosis*

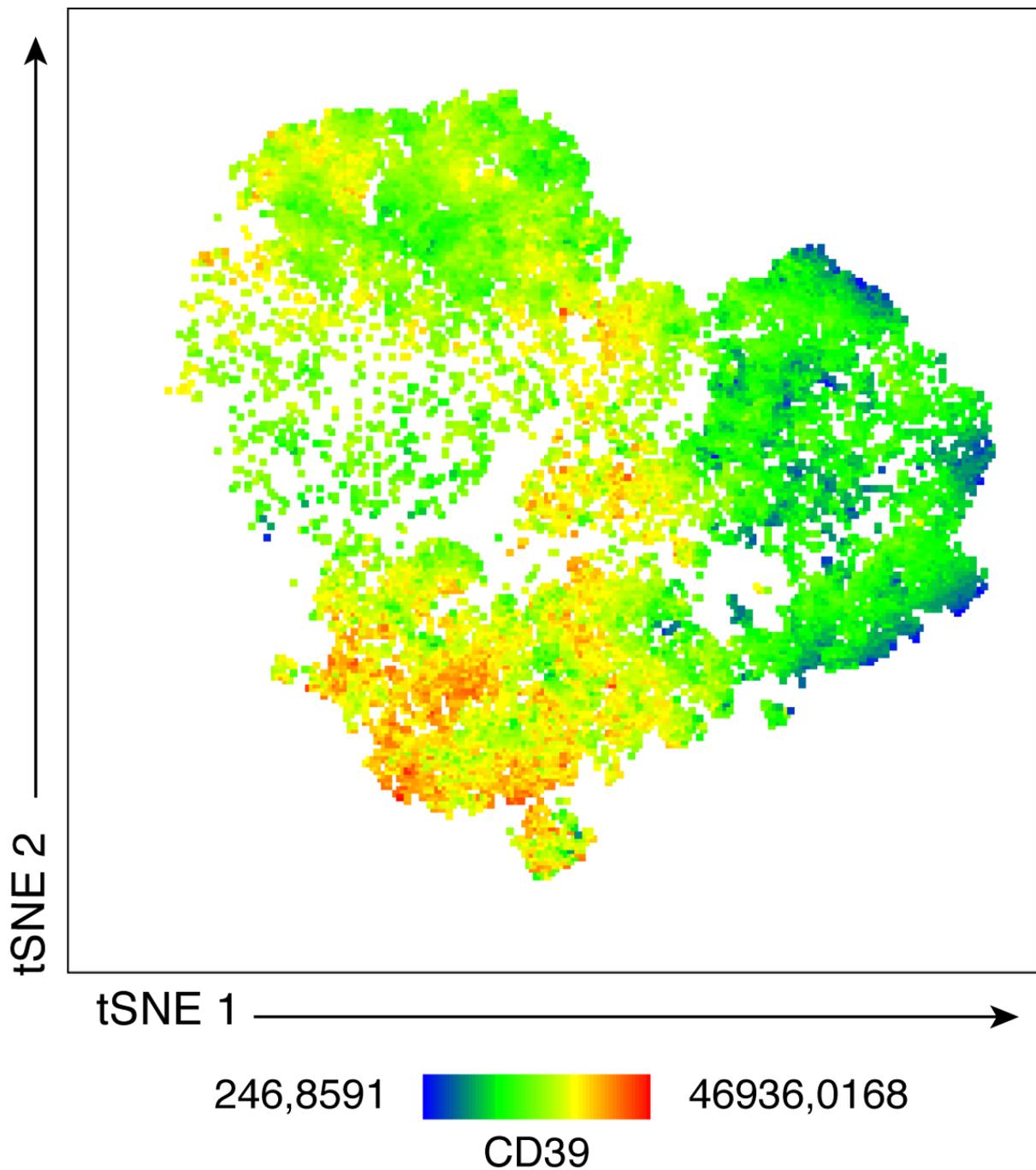
**Autora:** Gislane de Almeida Santos

**Orientação:** Maria Regina D'Império Lima

**Coorientação:** Elena Lassounskaia

São Paulo, 20 de Maio de 2020

# tSNE de células T CD4<sup>+</sup> concatenadas



Coração em chamas: expressão de CD39 em Linfócitos T CD4<sup>+</sup>, provenientes do pulmão de camundongos C57BL/6 infectados por *Mycobacterium tuberculosis*

A imagem enviada para este concurso, consiste em uma análise de redução dimensional de células T CD4+ concatenadas, realizada utilizando os Plugins Downsample v.3.3 and tSNE v.2.0, ambos vinculados ao software FlowJo. Para obtenção da imagem, a suspensão celular obtida do pulmão de camundongos C57BL/6 após 28 dias de infecção por *Mycobacterium tuberculosis* foi marcada com anticorpos contra as moléculas CD45, CD4, CD44, CD39, CD69, KLRG1, CD73 e P2X7. A amostra foi adquirida no citômetro de fluxo Fortessa X20 BD e analisada utilizando o software FlowJo v10.6.1. A população de células TCD4+ foi selecionada dentro da população células viáveis e normalizada/reduzida a 3.000 eventos usando a plataforma Downsample, gerando uma subpopulação de células T CD4+ que foram distribuídas regularmente ou aleatoriamente em toda a população-mãe selecionada em cada uma das amostras. As subpopulações de CD4+ normalizada de cada uma das amostras foram concatenadas e reduzidas dimensionalmente utilizando o algoritmo tSNE executando o número máximo de 1000 interações com a perplexidade proximal de 40. A redução dimensional das células T CD4+ formou um mapa de tSNE em formato de coração e a expressão de CD39 nesta população pode ser observada através do heatmap, onde as cores mais quentes indicam alta expressão e as cores mais frias indicam baixa expressão.

Estes dados foram obtidos em dezembro de 2019 em um experimento para avaliação da expressão de CD39 em linfócitos TCD4+ durante a fase aguda da tuberculose pulmonar e fazem parte do projeto de tese de doutorado intitulado “Papel da CD39 na modulação purinérgica da resposta inflamatória durante a tuberculose pulmonar experimental”. Este projeto está sendo desenvolvido no Departamento de Imunologia do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, por Gislane de Almeida Santos, sob orientação da Dr. Maria Regina D'Império Lima e coorientação da Dr. Elena Lassounskaia.

O objetivo deste projeto é entender como a ectoenzima CD39 atua no controle da resposta inflamatória durante a tuberculose pulmonar experimental, através da clivagem de ATP extracelular e contribuição para a geração de adenosina. Uma vez que linfócitos TCD4 são um importante componente da resposta imune contra o

*Mycobacterium tuberculosis*, também visamos entender especificamente o papel da CD39 na manutenção e geração de células efetoras e de memória no tecido pulmonar. Nos últimos meses, temos realizado uma caracterização completa das subpopulações de linfócitos T efetores e de memória no pulmão de animais infectados, avaliando a expressão das moléculas CD39, CD73 e P2X7, envolvidas na sinalização purinérgica. Além disso, através do uso de inibidores da molécula CD39, estamos avaliando como a ausência desta molécula pode direcionar o curso da resposta inflamatória durante a fase aguda da doença em camundongos.