



Isolamento e Caracterização de linfócitos T residentes de memória em infecções pulmonares virais

Hilario, Gabriel¹; Haubert, Alisson² Vogt, Eduardo², Fazolo, Tiago¹; Rodrigues Jr, Luiz^{1,*}

¹ Programa de Pós-Graduação em biociências, UFCSPA, Porto Alegre, RS.

² UFCSPA, Porto Alegre, RS

* Autor correspondente: gabriel_tmhilario@hotmail.com

Introdução: Uma nova pandemia viral pode emergir a qualquer momento, sobretudo quando falamos de vírus de RNA respiratório, como nas pandemias provocadas pelos vírus Influenza e Coronavírus, frente a esse tipo de ameaça a melhor medida de proteção pública é a vacinação. Contudo, como os vírus respiratórios estão em constante mutação, os anticorpos gerados pela vacina sofrem uma diminuição de sua eficiência neutralizante. Entretanto, na resposta imune antiviral não somente anticorpos, mas células também são importantes. O sistema imune possui a habilidade de memória contra antígenos que já entrou em contato, essa capacidade é a base para proteção contra infecções recorrentes e imunização por vacina. As células de memória já foram descritas em diferentes tecidos como órgãos linfóides secundários, mucosas e tecidos de barreira. Recentemente, foi identificada uma subpopulação de linfócitos T de memória que permanece residente no tecido, como na pele, pulmão, mucosa genital. Esses linfócitos são nomeados Linfócitos T residente de memória (Trm), por residirem no local da infecção inicial. Os Trm possuem um perfil de fatores de transcrição diferente das outras células de memória circulante, diferente no tipo de imunidade gerada, quebrando o paradigma estabelecido sobre células de memória. No entanto, a obtenção de amostras de tecidos de indivíduos vivos é limitada a biópsias ou ressecções cirúrgicas ao longo das margens saudáveis de órgãos doentes, então uma maneira alternativa de estudar

essa população celular surgiu no lavado broncoalveolar (LBA) . Novos estudos em humanos, sobre SARS-CoV-2, relataram a presença de Células T específicas de pico apenas no LBA de convalescentes infectados com SARS-CoV-2 e não no LBA de indivíduos apenas vacinados. Assim, células Trm específicas foram identificadas no LBA em humanos, mas pouco ainda se sabe sobre sua dinâmica e comportamento em infecção por diferentes vírus e seu impacto na resolução da infecção. O que torna de extrema relevância científica e para a otimização de protocolos e manejos clínicos, produção de vacinas, o entendimento da dinâmica das células TRMs em diferentes infecções pulmonares associadas a vírus. **Objetivo:** Este estudo busca otimizar o isolamento de células Trm em LBA e correlacionar desfecho clínico com população de Trm em diferentes infecções virais. **Método:** O LBA foi coletado e pacientes internados em unidade intensiva de tratamento. As amostras foram isoladas por dois protocolos: O protocolo 1º O LBA foi diluído na proporção de 1:1 de amostra : PBS (15 mM EDTA), centrifugado a 2000 rpm por 10 minutos, sobrenadante descartado e o pellet ressuspensionado em PBS, então a amostra é filtrada em filtro 0,70µm; O protocolo 2º segue todas as etapas do 1º com o acréscimo de após a amostras ser filtrada é realizado o isolamento dos linfócitos através do gradiente de densidade (ficoll). Após isoladas, as amostras foram marcadas por anticorpos monoclonais conjugados com fluorocromo e analisados por citometria de fluxo. **Resultados:** Nos resultados preliminares, nós conseguimos isolar linfócitos das amostras de LAB, contudo o protocolo de isolamento apenas por centrifugação e lavagem apresentou uma população celular com muitos eventos fora da população de interesse, já o protocolo de isolamento por ficoll degradou a população de interesse. **Conclusão:** O projeto encontra-se em fase piloto, os ensaios até agora demonstram possível o isolamento de células precursoras de linfócitos Trm, mas ainda se faz necessário otimizar o protocolo para enriquecimento da população celular.

Palavras-chave: Trm; infecções pulmonares; Isolamento de células T.