

ANNA JULIA PIETROBON

Avaliação do eixo ATP-adenosina na infecção por SARS-CoV-2

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Imunologia do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências.

Área de concentração: Imunologia.

Orientadora: Prof^aDr^a Maria Notomi Sato

Versão original.

São Paulo

2023

RESUMO

PIETROBON, A.J. **Avaliação do eixo ATP-adenosina na infecção por SARS-CoV-2**. 2023. 119 p. Tese (Doutorado em Imunologia) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, 2023.

Adenosina trifosfato (ATP) é uma molécula predominantemente intracelular que pode ser liberada para o meio extracelular durante ativação, estresse tecidual ou dano celular. O ATP extracelular pode ser rapidamente convertido em adenosina pela ação de ectonucleotidases, como CD39 e CD73 que são expressas na membrana de algumas células. A adenosina, por sua vez, pode induzir respostas anti-inflamatórias, participando ativamente da regulação de respostas imunes. O objetivo desse trabalho foi avaliar a participação do eixo ATP-adenosina na patologia da infecção pelo SARS-CoV-2, causador da COVID-19. Essa infecção pode induzir uma série de alterações imunológicas, incluindo o aumento da produção de citocinas pró-inflamatórias, fenômeno conhecido como *cytokine storm*. Foram analisadas amostras de 88 pacientes com COVID-19 não vacinados e hospitalizados no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HC-FMUSP), sendo 44 com sintomas moderados e 44 com doença grave. O grupo controle, composto por indivíduos saudáveis, não vacinados e sem sintomatologia da infecção pulmonar, foi utilizado para comparação. A análise dos achados laboratoriais indicou que marcadores inflamatórios sanguíneos como, proteína C reativa e D-dímero, bem como, a razão N/L estão elevados em pacientes com COVID-19 grave. Também foi verificado que a expressão gênica das nucleotidases ENPP1, ENPP2, ENPP3 e NT5E (CD73), que participam da conversão de ATP em adenosina, está diminuída no sangue periférico de pacientes com COVID-19 grave. Interessantemente a menor expressão dessas enzimas está negativamente correlacionada aos marcadores inflamatórios da doença. Sustentando esses achados, pacientes com COVID-19 mostram maiores concentrações plasmáticas de ATP e menores de adenosina comparados com controles saudáveis. Análises de populações celulares específicas revelaram maior frequência de células T CD39+ em pacientes graves, e redução de células T CD4+ e CD8+ que expressam CD73. A frequência de células B CD39+CD73+ também está diminuída na infecção aguda. Interessantemente, células B de pacientes com COVID-19 foram menos eficazes em hidrolisar ATP em adenosina. Adicionalmente,

há uma menor expressão de receptores de adenosina e um comprometimento da ativação da via de sinalização em pacientes infectados. A adição de adenosina *in vitro*, porém, suprimiu respostas inflamatórias em células de pacientes. Em resumo, esses achados sustentam a hipótese de que alterações no metabolismo de purinas extracelulares contribui com a desregulação imune durante a COVID-19, possivelmente favorecendo a gravidade da doença. A modulação de vias envolvendo a sinalização de adenosina pode representar uma estratégia terapêutica para a infecção aguda por SARS-CoV-2.

Palavras chave: SARS-CoV-2. COVID-19. CD39/CD73. Adenosina. ATP.

ABSTRACT

PIETROBON, A.J. **Evaluation of the ATP-adenosine axis in SARS-CoV-2 infection.** 2023. 119 p. Thesis (Ph.D. thesis in Immunology) – Institute of Biomedical Sciences, University of São Paulo, 2023.

Adenosine triphosphate (ATP) is a mostly intracellular molecule that can be released to the extracellular medium upon cellular activation, tissue stress, and cellular damage. Extracellular ATP can be converted into adenosine by ectonucleotidases, such as CD39 and CD73 expressed in the cellular membrane. Adenosine, on the other side, can drive anti-inflammatory responses, actively participating in immunoregulation processes. The aim of this study was to evaluate the contribution of the ATP-adenosine axis in the pathogenesis of SARS-CoV-2 infection that causes COVID-19. This infection can trigger alterations in the immune response, including excessive production of pro-inflammatory cytokines, known as “cytokine storm”. We analyzed samples from 88 COVID-19 patients unvaccinated and hospitalized at the Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HC-FMUSP), of which 44 had moderate symptoms and 44 had the severe form of the disease. The control group consisted of healthy, unvaccinated donors with no lung infection-associated symptoms. Analysis of laboratory findings indicates that inflammatory markers in the blood, such as C-reactive protein and D-dimer, as well as the N/L ratio are increased in patients with severe COVID-19. It was also verified that the gene expression of the nucleotidases ENPP1, ENPP2, ENPP3 and NT5E (CD73), involved in the hydrolysis of ATP into adenosine is reduced in the whole blood of patients with severe COVID-19. Interestingly, the lower expression of these enzymes is negatively correlated to inflammatory markers of the disease. In line with these findings, COVID-19 patients present higher ATP levels in plasma and reduced levels of adenosine when compared to healthy controls. Cell type-specific analysis revealed higher frequencies of CD39⁺ T cells in severely ill patients, while CD4⁺ and CD8⁺ expressing CD73 are reduced in this same group. The frequency of B cells CD39⁺CD73⁺ is also decreased during acute COVID-19. Interestingly, B cells from COVID-19 patients showed a reduced capacity to hydrolyze ATP into adenosine. Furthermore, impaired expression of adenosine receptors and a compromised activation of its signaling pathway is observed in COVID-19 patients. The presence

of adenosine *in vitro*, suppressed inflammatory responses triggered in patients' cells. In summary, our findings support the hypothesis that alterations in the metabolism of extracellular purines contribute to immune dysregulation during COVID-19, possibly favoring disease severity. The modulation of adenosine-related signaling pathways might be a therapeutic approach for acute infection with SARS-CoV-2.

Keywords: SARS-CoV-2. COVID-19. CD39/CD73. Adenosine. ATP.

INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

1.1 Epidemiologia e imunopatologia da infecção por SARS-CoV-2

Identificado em dezembro de 2019, o vírus SARS-CoV-2 é um membro da família dos coronavírus e o agente etiológico da COVID-19. Declarada uma pandemia pela Organização Mundial da Saúde, a COVID-19 provocou mais de 6,8 milhões de mortes com mais de 760 milhões de infectados em todo o mundo até março de 2023 (Who, 2023). No Brasil, mais de 37 milhões de pessoas já foram infectadas com quase 700.000 vítimas fatais (Coronavírus, 2023).

A principal via de transmissão do SARS-CoV-2 é através de aerossóis e gotículas contendo partículas virais, que atingem vias aéreas superiores (Guan *et al.*, 2020; Prather *et al.*, 2020). As primeiras células a serem infectadas são as células multiciliadas da nasofaringe e da traqueia, com alta expressão da enzima conversora de angiotensina tipo 2 (ACE2) que se liga à glicoproteína *spike* (S) presente na superfície do vírus (Ahn *et al.*, 2021). A entrada do vírus nas células alvo é facilitada pela serina protease transmembranar 2 (TMPRSS2), que cliva a proteína S e permite a fusão do vírus com a membrana celular (Hoffmann *et al.*, 2020). O RNA viral é então liberado no citoplasma, onde ocorre a replicação e montagem de novas partículas virais (Du *et al.*, 2009). Apesar do tropismo para os pulmões, células do intestino delgado, testículos e rins também expressam o receptor ACE2 (Qi *et al.*, 2020), sugerindo que o vírus também possa infectar outros tecidos, o que ajuda a explicar manifestações intestinais em diversos pacientes com COVID-19 (Lamers *et al.*, 2020; Wang, W. *et al.*, 2020).

Embora alguns casos de infecção sejam assintomáticos, a maior parte dos pacientes apresentam um quadro leve a moderado da doença com tosse, dor de cabeça e febre, que se manifestam cerca de 5 dias após a infecção (Guan *et al.*, 2020; Huang, C. *et al.*, 2020; Lauer *et al.*, 2020). No entanto, aproximadamente 15% dos pacientes não vacinados desenvolve pneumonia grave e cerca de 5% progride para um quadro de síndrome do desconforto respiratório agudo (ARDS), caracterizado pela alta inflamação local, extravasamento vascular e perda da estrutura tecidual, podendo levar a choque séptico, falência de órgãos e óbito (Cao, 2020; Wang, D. *et al.*, 2020; Zhou, Y., Fu, B., *et al.*, 2020). A maior incidência de casos graves, porém, ocorre principalmente em pacientes acometidos por comorbidades como doenças pulmonares, obesidade, diabetes e distúrbios

cardiovasculares (Alberca, 2020; Alberca, Lima, *et al.*, 2020; Alberca, Oliveira, *et al.*, 2020; Branco *et al.*, 2020; Guan *et al.*, 2020; Jain and Yuan, 2020). O pior prognóstico da COVID-19 também parece ter relação com sexo e idade. Homens acima de 60 anos são mais propensos a doença grave e hospitalização, enquanto a maioria dos jovens e crianças têm apenas a doença leve ou são assintomáticos (Pietrobon *et al.*, 2020; Wu and Mcgoogan, 2020; O'driscoll *et al.*, 2021).

Em alguns casos, mesmo após a infecção aguda e eliminação do vírus, pacientes reportam a persistência de sintomas associados à infecção, chamado de síndrome pós-COVID, que incluem fadiga crônica, disautonomia, taquicardia, disfunções cardiovasculares e outros acometimentos (Kedor *et al.*, 2022; Larsen *et al.*, 2022; Xie *et al.*, 2022). Estima-se que a incidência de síndrome pós-COVID seja de 10–30% em pacientes não hospitalizados e de 50–70% em pacientes hospitalizados, independentemente da idade (Bull-Otterson *et al.*, 2022; Ceban *et al.*, 2022). Sintomas de síndrome pós-COVID também são reportados em cerca de 10–12% dos pacientes vacinados que adquiriram COVID-19 (Al-Aly *et al.*, 2022; Ayoubkhani *et al.*, 2022), ressaltando que além das vacinas, outras estratégias voltadas à contenção da doença ainda precisam ser exploradas.

Pacientes infectados pelo SARS-CoV-2, especialmente os casos graves, frequentemente apresentam alterações em parâmetros sanguíneos sugestivas de um quadro de hiperinflamação sistêmica. Marcadores inflamatórios clássicos, como proteína C reativa (PCR), ferritina sérica e D-dímero, estão elevados na COVID-19 grave e têm sido reportados como marcadores de gravidade e progressão da doença (Fu *et al.*, 2020; Huang, I. *et al.*, 2020; Zhou, Y., Fu, B., *et al.*, 2020; Kaftan *et al.*, 2021). Além de contribuir com a lesão pulmonar, essas alterações sistêmicas podem favorecer a resposta imune exacerbada e o desenvolvimento de doenças extrapulmonares em pacientes com COVID-19 grave, como doenças renais, coagulopatias e arritmias (Berlin *et al.*, 2020). Assim como outros marcadores inflamatórios, citocinas pró-inflamatórias como TNF- α , IL-6, IL-1 β e IFN- γ estão elevadas no plasma de pacientes com doença grave (Huang, C. *et al.*, 2020; Li *et al.*, 2020). Quimiocinas e moléculas que promovem a ativação celular como CXCL10, CCL2, CCL3, G-CSF, IL-2, IL-7 e IL-10, também estão elevadas.

Essa resposta imune exacerbada envolvendo alta liberação de citocinas é conhecida como “*cytokine storm syndrom*” e está associada a falência múltipla de órgão em pacientes com COVID-19 (Zhang, W. *et al.*, 2020). Em infecções virais

que atingem os pulmões, a *cytokine storm* contribui com a apoptose de células epiteliais e endoteliais, levando ao extravasamento de líquido nos pulmões além do acúmulo de leucócitos e fibrose tecidual (Channappanavar and Perlman, 2017).

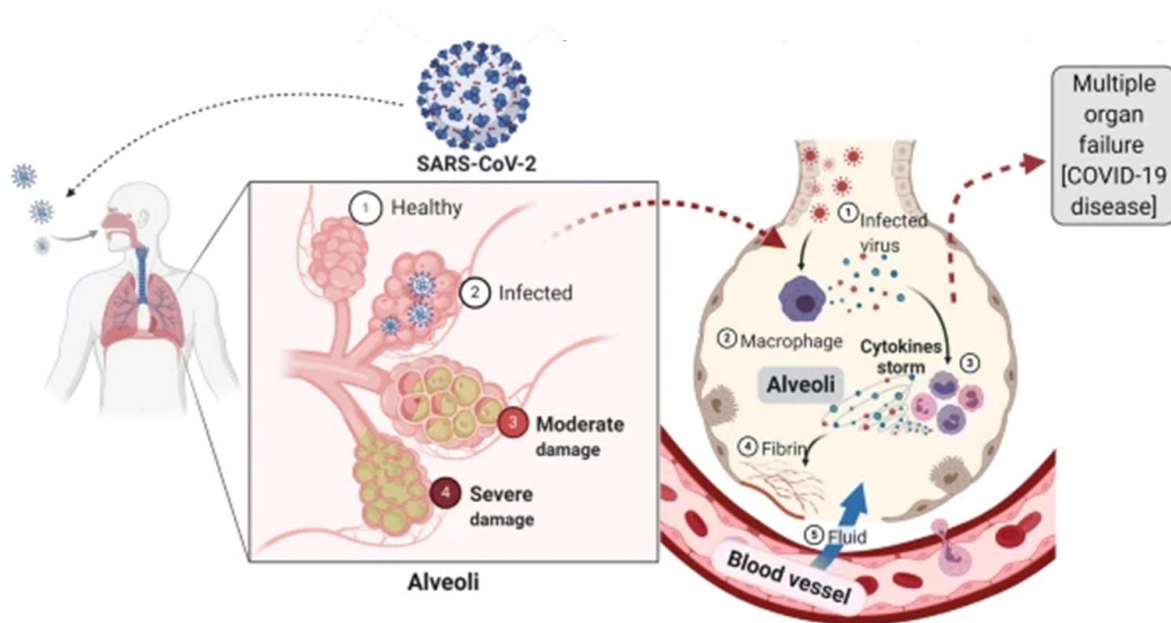


Figura 1. Representação esquemática da progressão da infecção por SARS-CoV-2. O reconhecimento viral por células imunes presentes no pulmão leva a exacerbada produção de células inflamatórias, fenômeno conhecido como *cytokine storm*. O quadro inflamatório promove o recrutamento de células imunes, extravasamento do endotélio pulmonar e fibrose, com subsequente progressão para síndrome do desconforto respiratório agudo (ARDS) e falência de órgãos. Adaptado de: (Verma *et al.*, 2021).

Outra característica relevante da infecção é a alteração das proporções leucocitárias no sangue periférico. Em indivíduos com COVID-19 há um aumento do número de neutrófilos circulantes, assim como, da razão neutrófilo-linfócito (RNL), associada a gravidade e pior prognóstico (Guan *et al.*, 2020; Liu, L. *et al.*, 2020). A RNL é calculada a partir do hemograma, dividindo a contagem absoluta de neutrófilos pela contagem absoluta de linfócitos e indica o estado inflamatório geral do paciente. Por outro lado, o número de eosinófilos, basófilos e monócitos está reduzido (Qin *et al.*, 2020).

Pacientes com COVID-19 também apresentam significativa linfopenia, a qual está associada a gravidade da doença (Huang *et al.*, 2020 Guan *et al.*, 2020). Em quadros mais graves da infecção, o percentual de linfócitos pode ser inferior a 20% (Tan *et al.*, 2020). Nesses pacientes há também a redução de células *Natural*

Killer (NK) (Zhou, Y., Fu, B., *et al.*, 2020). Essa diminuição de células NK e linfócitos T CD8+ citotóxicos pode comprometer diretamente a resposta antiviral e, conseqüentemente, favorecer a infecção.

Além de estarem presentes em menor número, os linfócitos T CD4+ e T CD8+ de pacientes com COVID-19 possuem fenótipo de células exaustas, com expressão de PD-1 e Tim3 (Diao, Wang, Tan, Chen, Liu, Ning, Chen, Li, Liu, *et al.*, 2020; Zhou, Y., Fu, B., *et al.*, 2020; Gozzi-Silva *et al.*, 2022). Células exaustas possuem baixa capacidade funcional, o que poderia favorecer o escape viral e intensificar a patologia da COVID-19. Tal fenótipo também é observado em infecções crônicas pelo vírus da coriomeningite linfocitária (LCMV), da imunodeficiência humana (HIV) e vírus da hepatite C (HCV) (Lee *et al.*, 2016). Também foi verificada uma alta expressão de marcadores de ativação como CD69, CD38 e CD44 em células T de pacientes (Zhou, Y., Fu, B., *et al.*, 2020). Pacientes com quadro mais grave de COVID-19 mostram ainda diminuição de células T reguladoras (Tregs), que poderia contribuir para o *status* inflamatório da doença (Qin *et al.*, 2020).

A frequência de linfócitos B também está reduzida em pacientes com COVID-19, especialmente das células B de memória (Mathew *et al.*, 2020). No entanto, há a aumento significativo de células de memória atípica (Oliviero *et al.*, 2020; Wildner *et al.*, 2021) e da população de plasmablastos (CD27+CD38+), podendo representar mais de 30% das células B circulantes (Mathew *et al.*, 2020; Shuwa *et al.*, 2021; Wildner *et al.*, 2021). Ademais, plasmablastos de pacientes com COVID-19 possuem maior expressão do marcador de ativação CD86 e do marcador de *homing* CXCR3 (Wildner *et al.*, 2021).

Apesar das altas taxas de vacinação contra a COVID-19 em diversos países, o surgimento de novas variantes e a infecção grave, principalmente em pessoas não vacinadas, continua a acontecer. Portanto, compreender os mecanismos envolvidos na resposta imune exacerbada na COVID-19 é fundamental na busca por abordagens terapêuticas para novos casos de infecção, para acelerar a recuperação de pacientes acometidos e para reduzir os sintomas persistentes em pacientes com síndrome pós-COVID.

1.2 Sinalização purinérgica e a resposta imune induzida por ATP

Adenosina trifosfato (ATP) é um nucleotídeo que está presente no citosol, sendo constantemente produzido através da respiração celular e da glicólise (Lazarowski *et al.*, 2000). No entanto, em situações de injúria e morte celular, o ATP pode ser liberado no espaço extracelular em altas concentrações via canais permeáveis a nucleotídeos ou por estresse de membrana como lise celular (Darby *et al.*, 2003; Corriden and Insel, 2010; Taruno, 2018).

Enquanto baixas concentrações de ATP extracelular (eATP) exercem importantes funções fisiológicas, altos níveis de eATP atuam como um sinal de “perigo”, promovendo respostas inflamatórias. Essa sinalização é mediada através da ligação a dois grupos de receptores purinérgicos, P2X e P2Y, presentes na membrana plasmática (Ralevic and Burnstock, 1998; Corriden and Insel, 2010). Os receptores P2X (ionotrópicos) são canais catiônicos dependentes de ligantes que permitem o influxo de Ca^{2+} e efluxo de K^{+} (Surprenant *et al.*, 1996; Ralevic and Burnstock, 1998). Essa família abrange 7 membros (P2X1, 2, 3, 4, 5, 6, e 7), sendo o receptor P2X7 de alta relevância em células imunes (Figura 2). Já a família P2Y inclui 8 membros (P2Y1, 2, 4, 6, 11, 12, 13 e 14) de receptores metabotrópicos que são acoplados a proteínas G (Abbracchio *et al.*, 2006).

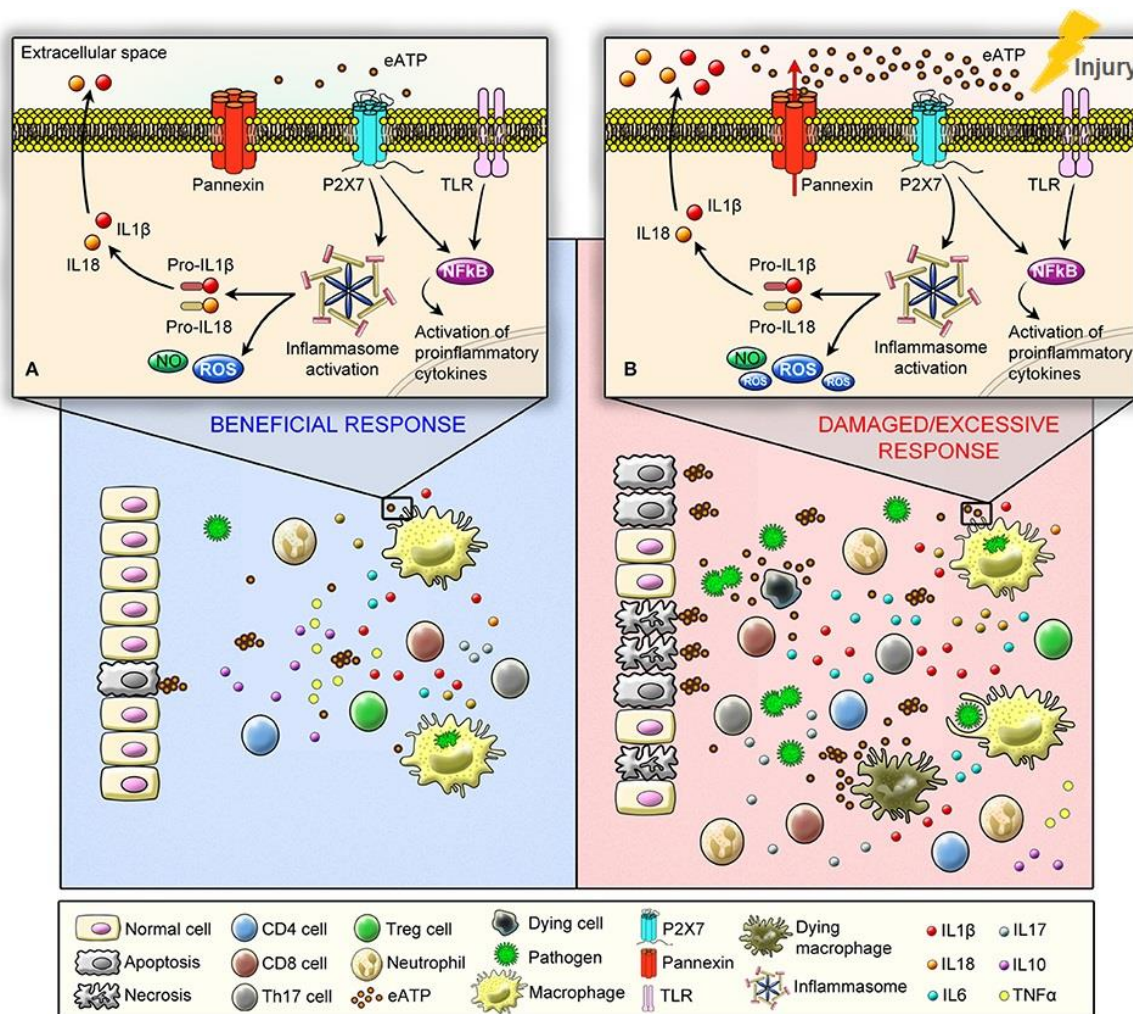


Figura 2. Representação esquemática da ativação celular e modulação imune induzida por eATP. (A) Em condições fisiológicas, baixas concentrações de eATP ajudam na manutenção da homeostase. (B) Frente a um estímulo, a liberação de ATP por canais permeáveis (panexina) ou dano celular leva à ativação de receptores P2X7. Como consequência, há a ativação do complexo do inflamassoma e a liberação de citocinas inflamatórias e espécies reativas de oxigênio (ROS). A ativação exacerbada promove o recrutamento de leucócitos, morte celular e a perpetuação da resposta inflamatória, culminando no dano tecidual. Adaptado de: (Savio *et al.*, 2018).

Em concentrações micromolares, o eATP promove a abertura de P2X7 e o efluxo de K⁺. Essa alteração na composição iônica do microambiente induz a ativação do receptor NLRP3 presente no citosol e consequente montagem do complexo do inflamassoma (Pétrilli *et al.*, 2007; Muñoz-Planillo *et al.*, 2013), resultando na ativação de caspase-1 e liberação das citocinas inflamatórias IL-1β e IL-18, além de levar à morte celular por piroptose (Perregaux and Gabel, 1994; Piccini *et al.*, 2008; Iyer *et al.*, 2009).

Em pacientes com COVID-19, a liberação ATP induzida pela ativação e morte das células infectadas parece ser um fator contribuinte para a disfunção inflamatória da doença. A ativação de P2X7 em células alveolares leva à liberação de citocinas, quimiocinas e VCAM-1 que promovem o influxo de monócitos e neutrófilos no pulmão, células piloto na resposta inflamatória (Grommes and Soehnlein, 2011; Mishra *et al.*, 2016). Essas células, que também expressam P2X7, podem intensificar a lesão tecidual e ARDS pela produção de IL-1 β mediada por NLRP3 e pela produção de armadilhas extracelulares de neutrófilos (NETs) induzida por ATP (Karmakar *et al.*, 2016; Sofoluwe *et al.*, 2019). De fato, em modelo experimental de ARDS e de infecção por influenza, a liberação de NETs por neutrófilos leva a morte de células do epitélio alveolar e células endoteliais (Narasaraju *et al.*, 2011; Saffarzadeh *et al.*, 2012). Interessantemente, a inibição farmacológica de P2X7 diminui a inflamação e a necrose pulmonar, em modelo experimental de tuberculose (Santiago-Carvalho *et al.*, 2021). Além dessas evidências, já foi verificada uma maior ativação do inflamassoma NLRP3 em monócitos circulantes e no pulmão de pacientes com COVID-19, sugerindo a participação dessa via na resposta inflamatória local e sistêmica nesses indivíduos (Rodrigues *et al.*, 2021).

O eATP também promove respostas inflamatórias pelos receptores P2Y (Idzko *et al.*, 2014). A ativação de P2Y2, por exemplo, induz a produção de IL-33 e IL-8 por eosinófilos e células epiteliais alveolares, que também funcionam como quimioatraente de neutrófilos (Idzko *et al.*, 2003; Kouzaki *et al.*, 2011). Adicionalmente, o estímulo de receptores P2Y leva a produção de espécies reativas de oxigênio em eosinófilos humanos (Ferrari *et al.*, 2000). Também tem sido demonstrado que a ativação do receptor P2Y6 por nucleotídeos extracelulares diferentes do ATP está envolvida na produção de IL-6 e IL-8 em modelo experimental de asma, em células epiteliais de pulmão humanas e neutrófilos (Khine *et al.*, 2006; Vieira *et al.*, 2011).

Dado o potencial da sinalização mediada por eATP em modular respostas imunes inflamatórias, fica evidente que essa via de sinalização possa estar contribuindo com a imunopatologia da COVID-19.

1.3 Sinalização purinérgica e a regulação imune mediada por adenosina

O controle da sinalização mediada por eATP é crucial para evitar uma resposta exacerbada e manter a homeostase. Assim, o eATP pode sofrer hidrólise e ser convertido em ADP, AMP e adenosina pela ação de nucleotidasas das famílias ecto-nucleotídeo trifosfato difosfohidrolases (ENTPDases), ecto-5'-nucleotidasas (NT5E), ecto-nucleotídeo pirofosfatases/fosfodiesterases (ENPPs), e as fosfatases alcalinas (APs) presentes na membrana celular, no citosol ou ainda solúveis, sendo expressas por diversos tipos celulares (Haskó and Cronstein, 2004; Zimmermann *et al.*, 2012; Giuliani *et al.*, 2020). Dentre essas enzimas as mais estudadas são ENTPDase1 (CD39) que degrada ATP e ADP em AMP (Kaczmarek *et al.*, 1996), e NT5E (CD73) que converte AMP em adenosina, a qual tem ação imunossupressora (Spychala *et al.*, 1999) (Figura 3).

As ENPPs são principalmente representadas pelas enzimas ENPP1, ENPP2 e ENPP3, que podem hidrolisar ATP diretamente em AMP, além hidrolisarem pontes fosfodiester ou pirofosfato em outros substratos (Stefan *et al.*, 2006). Já as fosfatases alcalinas compõem um grupo de quatro enzimas expressas em tecidos capazes de desfosforilar, principalmente, pirofosfato inorgânico (Millán, 2015). No entanto, algumas isoformas podem também converter ATP em ADP, AMP e adenosina (Abbracchio *et al.*, 2009).

Apesar da participação das ENPPs e APs na hidrólise de ATP, as ectonucleotidasas mais relevantes são as ENTPDases, amplamente expressas nos tecidos. Em mamíferos, a família das ENTPDases é composta por oito enzimas que promovem a hidrólise de ATP em ADP e de ADP em AMP (Robson *et al.*, 2006; Yegutkin, 2008; Knowles, 2011). Enquanto algumas ENTPDases são expressas na membrana plasmática, outras estão localizadas em organelas ou solúveis nos fluidos corporais. Dentre as nucleotidasas dessa família, CD39 (ENTPDase1) é a melhor caracterizada e de maior relevância em células endoteliais e leucócitos (Deaglio *et al.*, 2007; Deaglio and Robson, 2011). CD39 é amplamente expressa em populações de células imunes, especialmente linfócitos B e monócitos, seguidos de células T CD4+, células NK e células T CD8+ (Mizumoto *et al.*, 2002; Deaglio *et al.*, 2007; Clayton *et al.*, 2011; Kishore *et al.*, 2018; Zacca *et al.*, 2021). Em humanos e camundongos, as células Tregs, reconhecidas pela sua atividade supressora, possuem alta expressão da enzima CD39 (Borsellino *et al.*, 2007;

Dwyer *et al.*, 2010). Sua expressão pode ser induzida por citocinas inflamatórias, estresse oxidativo e hipóxia (Antonioli *et al.*, 2013; Zheng *et al.*, 2020).

Embora diversas fosfatases contribuam com a conversão de AMP em adenosina, a principal enzima produtora de adenosina a partir de AMP é CD73 (NT5E), desempenhando um papel crucial na sinalização purinérgica e na resposta imune. CD73 é expressa na superfície de células estromais, células endoteliais e em algumas populações de leucócitos como neutrófilos, macrófagos e, principalmente linfócitos B e T (Bono *et al.*, 2015; De Leve *et al.*, 2019). Além de estar presente na membrana plasmática, CD73 pode ser liberada e atuar de maneira solúvel (sCD73), podendo ser encontrada no soro e na linfa (Yegutkin *et al.*, 2015).

Em camundongos, além de CD39, células Tregs ainda expressam CD73 (Deaglio *et al.*, 2007). Ainda nesse contexto, Saze e colaboradores mostraram que linfócitos B humanos que expressam CD39 e CD73 regulam a resposta e proliferação de linfócitos T pela produção de adenosina (Saze *et al.*, 2013), evidenciando que a presença de ectonucleotidases é, portanto, associada a função supressora mediada por linfócitos. De fato, a ausência de CD39 e CD73 contribui com a resposta inflamatória em modelo experimental de colite (Friedman *et al.*, 2009; Bynoe *et al.*, 2012) e polimorfismos no gene de CD39 estão associados a maior susceptibilidade ao desenvolvimento de doença inflamatória intestinal em humanos (Friedman *et al.*, 2009). Portanto, a expressão de CD39 e CD73 pode ser considerada um importante fator de modulação da resposta imune.

Alterações no metabolismo de purinas extracelulares medidas por nucleotidases estão associadas ao comprometimento imunológico em infecções virais. Em pacientes cronicamente infectados pelos vírus HIV-1 e o vírus da hepatite B (HBV) é observada uma redução na frequência de linfócitos B circulantes que expressam CD39 e CD73, o que compromete a produção de adenosina e favorece a resposta inflamatória da doença (Chang *et al.*, 2019; Zhou *et al.*, 2021). Além das alterações sistêmicas, células B intra-hepáticas de pacientes com HBV também possuem menor expressão de CD39 e CD73 indicando possíveis alterações no metabolismo purinérgico também no local da infecção (Zhou *et al.*, 2021). Adicionalmente, em modelo de infecção pelo vírus da imunodeficiência símia (SIV) foram observados menores níveis de adenosina na mucosa intestinal de animais progressores em comparação com não-progressores, sugerindo um possível

envolvimento da adenosina no controle da inflamação intestinal e curso da doença (He *et al.*, 2015).

Em modelo experimental de infecção pulmonar pelo vírus influenza H1N1, foi observado que a ausência de CD73 ou seu bloqueio farmacológico estão associados a maior produção de IL-6 e CXCL10 no lavado broncoalveolar (Aeffner *et al.*, 2015). Adicionalmente, a ausência de CD39 ou CD73 potencializa o edema e o quadro inflamatório pulmonar em animais submetidos a lesão pulmonar aguda induzida por ventilação mecânica, reforçando a participação da sinalização purinérgica na manutenção da homeostase pulmonar (Eckle *et al.*, 2007).

Em pacientes com COVID-19, foi verificado um aumento de células NK CD39+ no sangue periférico daqueles que desenvolveram pneumonia e ARDS, sugerindo um possível comprometimento da resposta antiviral dessas células associado à doença (Demaria *et al.*, 2020). Ademais, Ahmadi e colaboradores verificaram uma redução de células T CD8, NKT e NK que expressam CD73 que está associada à marcadores inflamatórios da doença. Interessantemente, a ausência de CD73 eleva a produção de granzima B, perforina e citocinas inflamatórias por células T CD8 e NKT (Ahmadi *et al.*, 2020). Apesar desses achados, a relevância dessas alterações fenotípicas na resposta imune de pacientes com COVID-19 e na imunopatologia da doença ainda foram pouco explorados.

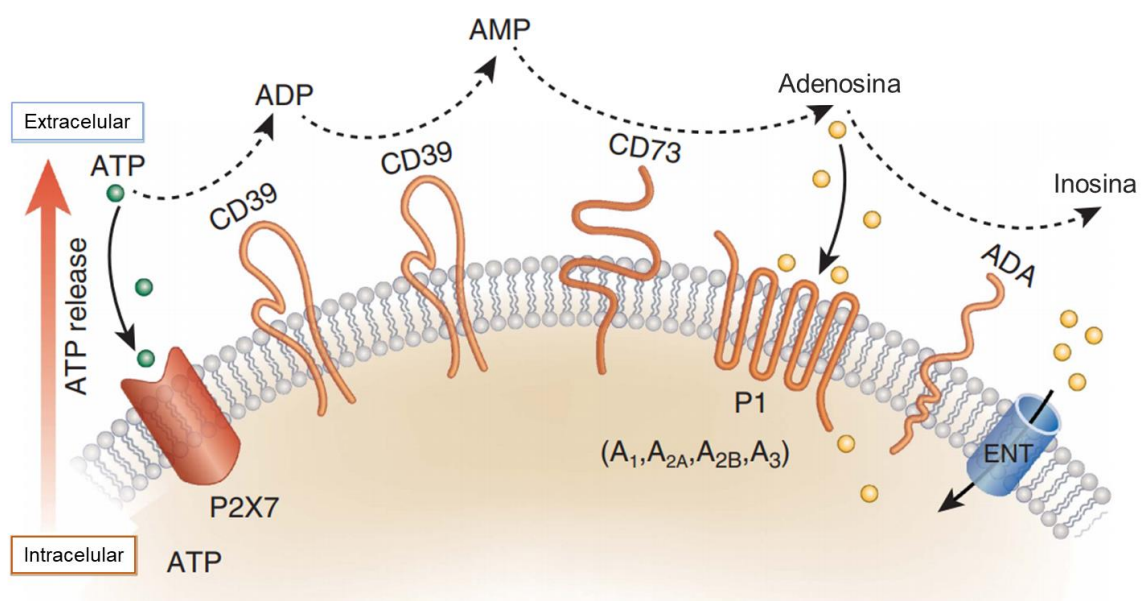


Figura 3. Vias de sinalização e metabolismo de purinas extracelulares. O ATP extracelular pode se ligar a receptores P2 (P2X e P2Y) ou ser metabolizado em ADP e AMP pela ação da ectoenzima CD39. CD73 converte AMP em adenosina que pode sinalizar via receptores A1, A2a, A2b e A3 ou ser transportada para o

meio intracelular. Adenosina pode ainda ser convertida em inosina pela ação de ADA. Modificado de: (Roberts *et al.*, 2014).

A adenosina extracelular produzida a partir da hidrólise do ATP pode ser transportada para o meio intracelular pela ação de transportadores ENT, ser removida do meio extracelular pela ação da enzima adenosina deaminase (ADA) que promove sua conversão em inosina, ou se ligar aos receptores purinérgicos do tipo P1 presentes na membrana celular (Roberts *et al.*, 2014).

Do ponto de vista imunológico, a adenosina extracelular atua, em geral, como um mediador anti-inflamatório, sinalizando via quatro receptores P1 acoplados a proteína G: A1R, A2aR, A2bR e A3R. A intensidade e o perfil de resposta gerada após a interação com a adenosina, no entanto, podem variar dependendo da concentração de adenosina extracelular, do receptor ativado e da célula alvo. A adenosina tem maior afinidade pelos receptores A1R, A2aR e A3R, podendo ativa-los em concentrações nanomolares, enquanto que o receptor A2bR, de menor afinidade, requer concentrações micromolares (Fredholm *et al.*, 2001; Fredholm *et al.*, 2011). A ativação dos receptores modula as concentrações de cAMP intracelular via adenilato ciclase (Haskó *et al.*, 2008) (Figura 4). Os receptores A1R e A3R são acoplados a proteínas G inibitórias e sua ativação reduz os níveis de cAMP enquanto que os receptores A2aR e A2bR, associados a proteínas G estimuladoras, promovem o aumento dos níveis de cAMP intracelular (Jacobson and Gao, 2006; Haskó *et al.*, 2008). Por sua vez, o cAMP pode promover a ativação da proteína quinase A (PKA) e subsequente fosforilação do fator de transcrição CREB que regula uma série de funções biológicas, dentre elas, interferir na sinalização via NF- κ B (Kopperud *et al.*, 2003; Németh *et al.*, 2003). Além disso, também foi demonstrado que cAMP inibe a produção de citocinas inflamatórias pela indução do fator de transcrição c-Fos (Koga *et al.*, 2009).

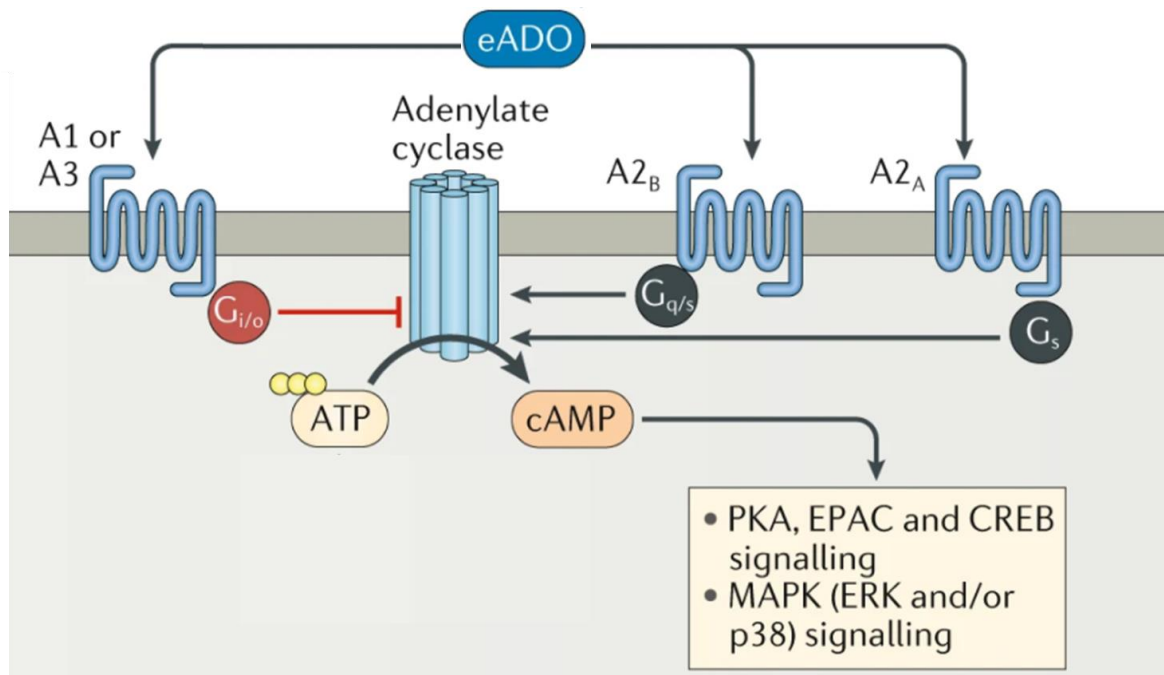


Figura 4. Receptores de adenosina e suas vias de sinalização intracelular. Adenosina extracelular ativa quatro receptores acoplados à proteína G: A1, A2A, A2B e A3. A ativação desses receptores leva à inibição (A1 e A3) ou ativação (A2A e A2B) de adenilato ciclase, a qual converte ATP intracelular em cAMP, levando a regulação de sinais subjacentes que incluem PKA, EPAC, CREB e MAPK. Modificado de: (Allard *et al.*, 2020).

Já foi verificado que a sinalização via receptores de adenosina atenua a resposta inflamatória em modelo experimental de colite e na doença inflamatória intestinal (Odashima *et al.*, 2005; Frick *et al.*, 2009; Antonioli *et al.*, 2018), além de diminuir a inflamação pulmonar (Fozard *et al.*, 2002; Mohsenin *et al.*, 2007; Wallace and Linden, 2010) e a resposta inflamatória na artrite reumatoide (Flögel *et al.*, 2012; Vincenzi *et al.*, 2013; Ravani *et al.*, 2017). A ativação de A2aR inibe a proliferação celular, a secreção de citocinas pró-inflamatórias e a liberação de grânulos citotóxicos por linfócitos T de camundongos (Naganuma *et al.*, 2006; Deaglio *et al.*, 2007), além de inibir a ativação do TCR pela fosforilação de Src mediada por PKA (Ruppelt *et al.*, 2007). Adicionalmente, adenosina regula a produção de IL-12 por macrófagos (Haskó *et al.*, 2000), assim como a produção de TNF- α e quimiocinas em neutrófilos humanos (Mccoll *et al.*, 2006). Também tem sido mostrado que a indução de cAMP via adenosina suprime a ativação de NF- κ B após a ativação de BCR e TLR4 em linfócitos B e do receptor de IgE em mastócitos (Minguet *et al.*, 2005). Complementarmente, a ativação de CREB em decorrência da sinalização via A2aR induz a produção de IL-10 dependente da proteína CEBP β

(Csóka *et al.*, 2007). Esses e outros achados indicam os possíveis mecanismos pelos quais adenosina pode promover respostas anti-inflamatórias e supressoras.

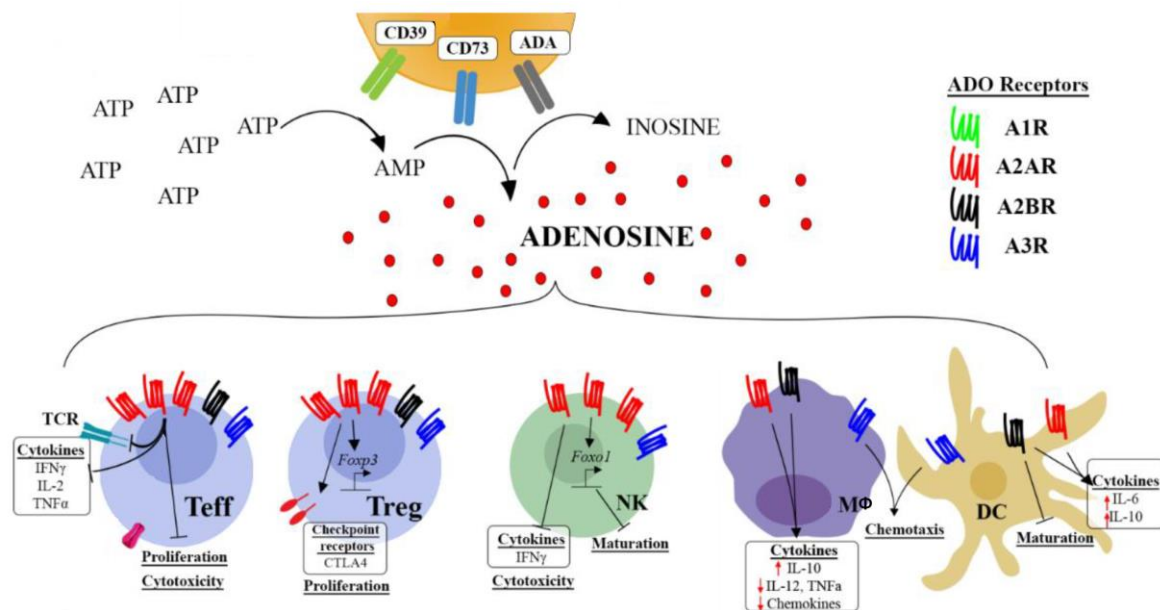


Figura 5. Mecanismos de imunossupressão mediados pela adenosina extracelular. A ligação de adenosina extracelular aos seus receptores em células imunes suprime sua atividade efetora e favorece um ambiente tolerogênico. A estimulação de receptores de adenosina em células T inibe a proliferação celular, a produção de citocinas Th1 e a citotoxicidade celular, ao mesmo tempo em que favorece a diferenciação para células Tregs pela ativação de FOXP3. Em células NK, além da citotoxicidade, a produção de IFN- γ é comprometida. Já em macrófagos e DCs, induz IL-10 e suprime a produção de citocinas inflamatórias e maturação celular. Modificado de: (Allard *et al.*, 2020).

Tendo em vista a importância do eixo ATP-adenosina na determinação de respostas imunes, especialmente o papel antagônico dessas purinas do ponto de vista inflamatório, é possível que alterações na sinalização purinérgica contribuam com a imunopatologia da infecção por SARS-CoV-2. Assim, o estudo detalhado desta via na COVID-19 parece um caminho promissor para a melhor compreensão dos mecanismos imunológicos que participam da doença, bem como, para o desenvolvimento de potenciais intervenções terapêuticas.

CONCLUSÃO

6 CONCLUSÃO

Nossos achados sugerem que a menor expressão de ectonucleotidases e a redução de linfócitos que expressam CD39 e CD73 podem ser fatores contribuintes do perfil inflamatório da COVID-19 por afetarem a disponibilidade de ATP e adenosina. Adicionalmente, concluímos que a adenosina é capaz de prevenir a ativação celular apesar do comprometimento intrínseco de sua via de sinalização em células de pacientes infectados com SARS-CoV-2. Além de auxiliar na compreensão dos mecanismos envolvidos na imunopatologia da COVID-19, esses achados evidenciam possíveis estratégias terapêuticas para a doença.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBRACCHIO, M. P. et al. International Union of Pharmacology LVIII: update on the P2Y G protein-coupled nucleotide receptors: from molecular mechanisms and pathophysiology to therapy. **Pharmacol Rev**, v. 58, n. 3, p. 281-341, Sep 2006. ISSN 0031-6997. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16968944> >.

_____. Purinergic signalling in the nervous system: an overview. **Trends Neurosci**, v. 32, n. 1, p. 19-29, Jan 2009. ISSN 0166-2236. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19008000> >.

AEFFNER, F.; WOODS, P. S.; DAVIS, I. C. Ecto-5'-nucleotidase CD73 modulates the innate immune response to influenza infection but is not required for development of influenza-induced acute lung injury. **Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol**, v. 309, n. 11, p. L1313-22, Dec 2015. ISSN 1522-1504. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26432867> >.

AHMADI, P. et al. Defining the CD39/CD73 Axis in SARS-CoV-2 Infection: The CD73. **Cells**, v. 9, n. 8, 07 2020. ISSN 2073-4409. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32707842> >.

AHN, J. H. et al. Nasal ciliated cells are primary targets for SARS-CoV-2 replication in the early stage of COVID-19. **J Clin Invest**, v. 131, n. 13, Jul 01 2021. ISSN 1558-8238. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/34003804> >.

AL-ALY, Z.; BOWE, B.; XIE, Y. Long COVID after breakthrough SARS-CoV-2 infection. **Nat Med**, v. 28, n. 7, p. 1461-1467, Jul 2022. ISSN 1546-170X. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/35614233> >.

ALBERCA, R. W. Asthma endotypes and COVID-19. **J Asthma**, p. 1-2, Oct 2020. ISSN 1532-4303. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32942904> >.

ALBERCA, R. W. et al. COVID-19 Disease Course in Former Smokers, Smokers and COPD Patients. **Front Physiol**, v. 11, p. 637627, 2020. ISSN 1664-042X. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/33584342> >.

_____. Obesity as a risk factor for COVID-19: an overview. **Crit Rev Food Sci Nutr**, p. 1-15, Jun 2020. ISSN 1549-7852. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32539446> >.

ALLARD, B. et al. The adenosine pathway in immuno-oncology. **Nat Rev Clin Oncol**, v. 17, n. 10, p. 611-629, 10 2020. ISSN 1759-4782. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32514148> >.

ANTONIOLI, L. et al. Anti-inflammatory effect of a novel locally acting A. **Purinergic Signal**, v. 14, n. 1, p. 27-36, 03 2018. ISSN 1573-9546. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29116551> >.

_____. CD39 and CD73 in immunity and inflammation. **Trends Mol Med**, v. 19, n. 6, p. 355-67, Jun 2013. ISSN 1471-499X. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23601906> >.

AYOUBKHANI, D. et al. Risk of Long COVID in People Infected With Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 After 2 Doses of a Coronavirus Disease 2019 Vaccine: Community-Based, Matched Cohort Study. **Open Forum Infect Dis**, v. 9, n. 9, p. ofac464, Sep 2022. ISSN 2328-8957. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/36168555> >.

BASTID, J. et al. ENTPD1/CD39 is a promising therapeutic target in oncology. **Oncogene**, v. 32, n. 14, p. 1743-51, Apr 04 2013. ISSN 1476-5594. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22751118> >.

BASU, U. et al. The AID antibody diversification enzyme is regulated by protein kinase A phosphorylation. **Nature**, v. 438, n. 7067, p. 508-11, Nov 24 2005. ISSN 1476-4687. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16251902> >.

BERLIN, D. A.; GULICK, R. M.; MARTINEZ, F. J. Severe Covid-19. **N Engl J Med**, v. 383, n. 25, p. 2451-2460, Dec 17 2020. ISSN 1533-4406. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32412710> >.

BONO, M. R. et al. CD73 and CD39 ectonucleotidases in T cell differentiation: Beyond immunosuppression. **FEBS Lett**, v. 589, n. 22, p. 3454-60, Nov 14 2015. ISSN 1873-3468. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26226423> >.

BORSELLINO, G. et al. Expression of ectonucleotidase CD39 by Foxp3+ Treg cells: hydrolysis of extracellular ATP and immune suppression. **Blood**, v. 110, n. 4, p. 1225-32, Aug 2007. ISSN 0006-4971. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17449799> >.

BOTTA GORDON-SMITH, S. et al. Correlation of low CD73 expression on synovial lymphocytes with reduced adenosine generation and higher disease severity in juvenile idiopathic arthritis. **Arthritis Rheumatol**, v. 67, n. 2, p. 545-54, Feb 2015. ISSN 2326-5205. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25418634> >.

BRANCO, A. C. C. C.; SATO, M. N.; ALBERCA, R. W. The Possible Dual Role of the ACE2 Receptor in Asthma and Coronavirus (SARS-CoV2) Infection. **Front Cell Infect Microbiol**, v. 10, p. 550571, 2020. ISSN 2235-2988. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/33072624> >.

BULL-OTTERSON, L. et al. **Post-COVID Conditions Among Adult COVID-19 Survivors Aged 18-64 and ≥65 Years — United States, March 2020–November 2021**. 2022

BUTLER, A. et al. Integrating single-cell transcriptomic data across different conditions, technologies, and species. **Nat Biotechnol**, v. 36, n. 5, p. 411-420, 06 2018. ISSN 1546-1696. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29608179> >.

BYNOE, M. S. et al. CD73 is critical for the resolution of murine colonic inflammation. **J Biomed Biotechnol**, v. 2012, p. 260983, 2012. ISSN 1110-7251. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23118501> >.

CAO, X. COVID-19: immunopathology and its implications for therapy. **Nat Rev Immunol**, v. 20, n. 5, p. 269-270, 05 2020. ISSN 1474-1741. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32273594> >.

CARACCILOLO, M. et al. Efficacy and Effect of Inhaled Adenosine Treatment in Hospitalized COVID-19 Patients. **Front Immunol**, v. 12, p. 613070, 2021. ISSN 1664-3224. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/33815368> >.

CEBAN, F. et al. Fatigue and cognitive impairment in Post-COVID-19 Syndrome: A systematic review and meta-analysis. **Brain Behav Immun**, v. 101, p. 93-135, Mar 2022. ISSN 1090-2139. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/34973396> >.

CECCHINI, R.; CECCHINI, A. L. SARS-CoV-2 infection pathogenesis is related to oxidative stress as a response to aggression. **Med Hypotheses**, v. 143, p. 110102, Oct 2020. ISSN 1532-2777. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32721799> >.

CHANG, W.-X. et al. Skewed CD39/CD73/adenosine pathway in B cells is associated with innate immune hyperactivation in chronic HIV-1 infection. **Translational Medicine Communications**, 2019.

CHANNAPPANAVAR, R.; PERLMAN, S. Pathogenic human coronavirus infections: causes and consequences of cytokine storm and immunopathology. **Semin Immunopathol**, v. 39, n. 5, p. 529-539, 07 2017. ISSN 1863-2300. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28466096> >.

CHEN, Y. et al. ATP release guides neutrophil chemotaxis via P2Y2 and A3 receptors. **Science**, v. 314, n. 5806, p. 1792-5, Dec 2006. ISSN 1095-9203. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17170310> >.

CLAYTON, A. et al. Cancer exosomes express CD39 and CD73, which suppress T cells through adenosine production. **J Immunol**, v. 187, n. 2, p. 676-83, Jul 2011. ISSN 1550-6606. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21677139> >.

CORONAVÍRUS. Painel Coronavírus. 2023. Available at: < <https://covid.saude.gov.br/> >.

CORREALE, P. et al. Therapeutic effects of adenosine in high flow 21% oxygen aerosol in patients with Covid19-pneumonia. **PLoS One**, v. 15, n. 10, p. e0239692, 2020. ISSN 1932-6203. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/33031409> >.

CORRIDEN, R.; INSEL, P. A. Basal release of ATP: an autocrine-paracrine mechanism for cell regulation. **Sci Signal**, v. 3, n. 104, p. re1, Jan 2010. ISSN 1937-9145. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20068232> >.

CSÓKA, B. et al. A2A adenosine receptors and C/EBPbeta are crucially required for IL-10 production by macrophages exposed to Escherichia coli. **Blood**, v. 110, n. 7, p. 2685-95, Oct 2007. ISSN 0006-4971. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17525287> >.

D AVILA-MESQUITA, C. et al. MMP-2 and MMP-9 levels in plasma are altered and associated with mortality in COVID-19 patients. **Biomed Pharmacother**, v. 142, p. 112067, Oct 2021. ISSN 1950-6007. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/34449310> >.

DA SILVA, G. B. et al. High levels of extracellular ATP lead to different inflammatory responses in COVID-19 patients according to the severity. **J Mol Med (Berl)**, v. 100, n. 4, p. 645-663, 04 2022. ISSN 1432-1440. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/35249135> >.

DARBY, M. et al. ATP released from astrocytes during swelling activates chloride channels. **J Neurophysiol**, v. 89, n. 4, p. 1870-7, Apr 2003. ISSN 0022-3077. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12686569> >.

DAVEY, A.; MCAULEY, D. F.; O'KANE, C. M. Matrix metalloproteinases in acute lung injury: mediators of injury and drivers of repair. **Eur Respir J**, v. 38, n. 4, p. 959-70, Oct 2011. ISSN 1399-3003. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21565917> >.

DE LEVE, S.; WIRSDÖRFER, F.; JENDROSSEK, V. Targeting the Immunomodulatory CD73/Adenosine System to Improve the Therapeutic Gain of Radiotherapy. **Front Immunol**, v. 10, p. 698, 2019. ISSN 1664-3224. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31024543> >.

DE SOUZA ANDRADE, M. M. et al. Resveratrol Downmodulates Neutrophil Extracellular Trap (NET) Generation by Neutrophils in Patients with Severe COVID-19. **Antioxidants (Basel)**, v. 11, n. 9, Aug 29 2022. ISSN 2076-3921. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/36139764> >.

DEAGLIO, S. et al. Adenosine generation catalyzed by CD39 and CD73 expressed on regulatory T cells mediates immune suppression. **J Exp Med**, v. 204, n. 6, p. 1257-65, Jun 2007. ISSN 0022-1007. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17502665> >.

DEAGLIO, S.; ROBSON, S. C. Ectonucleotidases as regulators of purinergic signaling in thrombosis, inflammation, and immunity. **Adv Pharmacol**, v. 61, p. 301-32, 2011. ISSN 1557-8925. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21586363> >.

DEL VALLE, D. M. et al. An inflammatory cytokine signature predicts COVID-19 severity and survival. **Nat Med**, v. 26, n. 10, p. 1636-1643, 10 2020. ISSN 1546-170X. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32839624> >.

DEMARIA, O. et al. Identification of druggable inhibitory immune checkpoints on Natural Killer cells in COVID-19. **Cell Mol Immunol**, Jul 2020. ISSN 2042-0226. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32612152> >.

DIAO, B. et al. Reduction and Functional Exhaustion of T Cells in Patients with Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). **medRxiv**, 2020.

_____. Reduction and Functional Exhaustion of T Cells in Patients With Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). **Front Immunol**, v. 11, p. 827, 2020. ISSN 1664-3224. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32425950> >.

DORNELES, G. P. et al. Alterations in CD39/CD73 axis of T cells associated with COVID-19 severity. **J Cell Physiol**, v. 237, n. 8, p. 3394-3407, 08 2022. ISSN 1097-4652. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/35754396> >.

DU, L. et al. The spike protein of SARS-CoV--a target for vaccine and therapeutic development. **Nat Rev Microbiol**, v. 7, n. 3, p. 226-36, Mar 2009. ISSN 1740-1534. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19198616> >.

DWYER, K. M. et al. Expression of CD39 by human peripheral blood CD4+ CD25+ T cells denotes a regulatory memory phenotype. **Am J Transplant**, v. 10, n. 11, p. 2410-20, Nov 2010. ISSN 1600-6143. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20977632> >.

DÍAZ-GARCÍA, E. et al. Role of CD39 in COVID-19 Severity: Dysregulation of Purinergic Signaling and Thromboinflammation. **Front Immunol**, v. 13, p. 847894, 2022. ISSN 1664-3224. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/35173744> >.

ECKLE, T. et al. Identification of ectonucleotidases CD39 and CD73 in innate protection during acute lung injury. **J Immunol**, v. 178, n. 12, p. 8127-37, Jun 2007. ISSN 0022-1767. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17548651> >.

ERDMANN, A. A. et al. Activation of Th1 and Tc1 cell adenosine A2A receptors directly inhibits IL-2 secretion in vitro and IL-2-driven expansion in vivo. **Blood**, v. 105, n. 12, p. 4707-14, Jun 15 2005. ISSN 0006-4971. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15746085> >.

FERRARI, D. et al. P2 purinergic receptors of human eosinophils: characterization and coupling to oxygen radical production. **FEBS Lett**, v. 486, n. 3, p. 217-24, Dec 2000. ISSN 0014-5793. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11119707> >.

FERREIRA, A. C. et al. SARS-CoV-2 engages inflammasome and pyroptosis in human primary monocytes. **Cell Death Discov**, v. 7, n. 1, p. 43, Mar 2021. ISSN 2058-7716. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/33649297> >.

FLÖGEL, U. et al. Selective activation of adenosine A2A receptors on immune cells by a CD73-dependent prodrug suppresses joint inflammation in experimental

rheumatoid arthritis. **Sci Transl Med**, v. 4, n. 146, p. 146ra108, Aug 2012. ISSN 1946-6242. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22875828> >.

FOZARD, J. R. et al. Effects of CGS 21680, a selective adenosine A2A receptor agonist, on allergic airways inflammation in the rat. **Eur J Pharmacol**, v. 438, n. 3, p. 183-8, Mar 2002. ISSN 0014-2999. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11909610> >.

FREDHOLM, B. B. et al. International Union of Pharmacology. XXV. Nomenclature and classification of adenosine receptors. **Pharmacol Rev**, v. 53, n. 4, p. 527-52, Dec 2001. ISSN 0031-6997. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11734617> >.

_____. International Union of Basic and Clinical Pharmacology. LXXXI. Nomenclature and classification of adenosine receptors--an update. **Pharmacol Rev**, v. 63, n. 1, p. 1-34, Mar 2011. ISSN 1521-0081. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21303899> >.

FRICK, J. S. et al. Contribution of adenosine A2B receptors to inflammatory parameters of experimental colitis. **J Immunol**, v. 182, n. 8, p. 4957-64, Apr 2009. ISSN 1550-6606. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19342675> >.

FRIEDMAN, D. J. et al. From the Cover: CD39 deletion exacerbates experimental murine colitis and human polymorphisms increase susceptibility to inflammatory bowel disease. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 106, n. 39, p. 16788-93, Sep 2009. ISSN 1091-6490. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19805374> >.

FU, J. et al. The clinical implication of dynamic neutrophil to lymphocyte ratio and D-dimer in COVID-19: A retrospective study in Suzhou China. **Thromb Res**, v. 192, p. 3-8, 08 2020. ISSN 1879-2472. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32407937> >.

GELZO, M. et al. Matrix metalloproteinases (MMP) 3 and 9 as biomarkers of severity in COVID-19 patients. **Sci Rep**, v. 12, n. 1, p. 1212, 01 24 2022. ISSN 2045-2322. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/35075175> >.

GIULIANI, A. L.; SARTI, A. C.; DI VIRGILIO, F. Ectonucleotidases in Acute and Chronic Inflammation. **Front Pharmacol**, v. 11, p. 619458, 2020. ISSN 1663-9812. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/33613285> >.

GOZZI-SILVA, S. C. et al. Generation of Cytotoxic T Cells and Dysfunctional CD8 T Cells in Severe COVID-19 Patients. **Cells**, v. 11, n. 21, Oct 25 2022. ISSN 2073-4409. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/36359755> >.

GROMMES, J.; SOEHNLEIN, O. Contribution of neutrophils to acute lung injury. **Mol Med**, v. 17, n. 3-4, p. 293-307, 2011. ISSN 1528-3658. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21046059> >.

GUAN, W. J. et al. Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 in China. **N Engl J Med**, Feb 2020. ISSN 1533-4406. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32109013> >.

GUIRLAND, C. et al. Direct cAMP signaling through G-protein-coupled receptors mediates growth cone attraction induced by pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide. **J Neurosci**, v. 23, n. 6, p. 2274-83, Mar 15 2003. ISSN 1529-2401. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12657686> >.

GUPTA, P. K. et al. CD39 Expression Identifies Terminally Exhausted CD8+ T Cells. **PLoS Pathog**, v. 11, n. 10, p. e1005177, Oct 2015. ISSN 1553-7374. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26485519> >.

HASKÓ, G.; CRONSTEIN, B. N. Adenosine: an endogenous regulator of innate immunity. **Trends Immunol**, v. 25, n. 1, p. 33-9, Jan 2004. ISSN 1471-4906. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14698282> >.

HASKÓ, G. et al. Adenosine inhibits IL-12 and TNF-[alpha] production via adenosine A2a receptor-dependent and independent mechanisms. **FASEB J**, v. 14, n. 13, p. 2065-74, Oct 2000. ISSN 0892-6638. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11023991> >.

_____. Adenosine receptors: therapeutic aspects for inflammatory and immune diseases. **Nat Rev Drug Discov**, v. 7, n. 9, p. 759-70, Sep 2008. ISSN 1474-1776. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18758473> >.

HE, T. et al. Critical Role for the Adenosine Pathway in Controlling Simian Immunodeficiency Virus-Related Immune Activation and Inflammation in Gut Mucosal Tissues. **J Virol**, v. 89, n. 18, p. 9616-30, Sep 2015. ISSN 1098-5514. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26178986> >.

HERMAN-EDELSTEIN, M. et al. Expression of the SARS-CoV-2 receptor ACE2 in human heart is associated with uncontrolled diabetes, obesity, and activation of the renin angiotensin system. **Cardiovasc Diabetol**, v. 20, n. 1, p. 90, Apr 27 2021. ISSN 1475-2840. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/33906662> >.

HERRATH, J. et al. Surface expression of CD39 identifies an enriched Treg-cell subset in the rheumatic joint, which does not suppress IL-17A secretion. **Eur J Immunol**, v. 44, n. 10, p. 2979-89, Oct 2014. ISSN 1521-4141. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24990235> >.

HOFFMANN, M. et al. SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor. **Cell**, v. 181, n. 2, p. 271-280.e8, 04 2020. ISSN 1097-4172. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32142651> >.

HUANG, C. et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. **Lancet**, v. 395, n. 10223, p. 497-506, 02 2020. ISSN 1474-547X. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31986264> >.

HUANG, I. et al. C-reactive protein, procalcitonin, D-dimer, and ferritin in severe coronavirus disease-2019: a meta-analysis. **Ther Adv Respir Dis**, v. 14, p. 1753466620937175, 2020 Jan-Dec 2020. ISSN 1753-4666. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32615866> >.

IDZKO, M. et al. Nucleotides induce chemotaxis and actin polymerization in immature but not mature human dendritic cells via activation of pertussis toxin-sensitive P2y receptors. **Blood**, v. 100, n. 3, p. 925-32, Aug 2002. ISSN 0006-4971. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12130504> >.

_____. Functional characterization of P2Y and P2X receptors in human eosinophils. **J Cell Physiol**, v. 188, n. 3, p. 329-36, Sep 2001. ISSN 0021-9541. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11473359> >.

IDZKO, M.; FERRARI, D.; ELTZSCHIG, H. K. Nucleotide signalling during inflammation. **Nature**, v. 509, n. 7500, p. 310-7, May 2014. ISSN 1476-4687. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24828189> >.

IDZKO, M. et al. Stimulation of P2 purinergic receptors induces the release of eosinophil cationic protein and interleukin-8 from human eosinophils. **Br J Pharmacol**, v. 138, n. 7, p. 1244-50, Apr 2003. ISSN 0007-1188. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12711624> >.

IYER, S. S. et al. Necrotic cells trigger a sterile inflammatory response through the Nlrp3 inflammasome. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 106, n. 48, p. 20388-93, Dec 2009. ISSN 1091-6490. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19918053> >.

JACOBSON, K. A.; GAO, Z. G. Adenosine receptors as therapeutic targets. **Nat Rev Drug Discov**, v. 5, n. 3, p. 247-64, Mar 2006. ISSN 1474-1776. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16518376> >.

JAIN, V.; YUAN, J. M. Predictive symptoms and comorbidities for severe COVID-19 and intensive care unit admission: a systematic review and meta-analysis. **Int J Public Health**, v. 65, n. 5, p. 533-546, Jun 2020. ISSN 1661-8564. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32451563> >.

KACZMAREK, E. et al. Identification and characterization of CD39/vascular ATP diphosphohydrolase. **J Biol Chem**, v. 271, n. 51, p. 33116-22, Dec 1996. ISSN 0021-9258. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8955160> >.

KAFTAN, A. N. et al. Predictive Value of C-reactive Protein, Lactate Dehydrogenase, Ferritin and D-dimer Levels in Diagnosing COVID-19 Patients: a Retrospective Study. **Acta Inform Med**, v. 29, n. 1, p. 45-50, Mar 2021. ISSN 0353-8109. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/34012213> >.

KARMAKAR, M. et al. Neutrophil P2X7 receptors mediate NLRP3 inflammasome-dependent IL-1 β secretion in response to ATP. **Nat Commun**, v. 7, p. 10555, Feb 15 2016. ISSN 2041-1723. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26877061> >.

KAZMIERSKI, J. et al. Non-productive exposure of PBMCs to SARS-CoV-2 induces cell-intrinsic innate immunity responses. **bioRxiv**, 2022.

KEDOR, C. et al. A prospective observational study of post-COVID-19 chronic fatigue syndrome following the first pandemic wave in Germany and biomarkers associated with symptom severity. **Nat Commun**, v. 13, n. 1, p. 5104, Aug 30 2022. ISSN 2041-1723. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/36042189> >.

KHINE, A. A. et al. Human neutrophil peptides induce interleukin-8 production through the P2Y6 signaling pathway. **Blood**, v. 107, n. 7, p. 2936-42, Apr 2006. ISSN 0006-4971. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16322472> >.

KIM, E. S. et al. Down-regulation of CD73 on B cells of patients with viremic HIV correlates with B cell activation and disease progression. **J Leukoc Biol**, v. 101, n. 5, p. 1263-1271, 05 2017. ISSN 1938-3673. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28193736> >.

KISHORE, B. K.; ROBSON, S. C.; DWYER, K. M. CD39-adenosinergic axis in renal pathophysiology and therapeutics. **Purinergic Signal**, v. 14, n. 2, p. 109-120, Jun 2018. ISSN 1573-9546. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29332180> >.

KLEMENS, M. R. et al. Characterization of soluble vs membrane-bound human placental 5'-nucleotidase. **Biochem Biophys Res Commun**, v. 172, n. 3, p. 1371-7, Nov 1990. ISSN 0006-291X. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2173922> >.

KNOWLES, A. F. The GDA1_CD39 superfamily: NTPDases with diverse functions. **Purinergic Signal**, v. 7, n. 1, p. 21-45, Mar 2011. ISSN 1573-9546. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21484095> >.

KOGA, K. et al. Cyclic adenosine monophosphate suppresses the transcription of proinflammatory cytokines via the phosphorylated c-Fos protein. **Immunity**, v. 30, n. 3, p. 372-83, Mar 2009. ISSN 1097-4180. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19285436> >.

KOPPERUD, R. et al. cAMP effector mechanisms. Novel twists for an 'old' signaling system. **FEBS Lett**, v. 546, n. 1, p. 121-6, Jul 2003. ISSN 0014-5793. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12829247> >.

KOSCSÓ, B. et al. Adenosine augments IL-10 production by microglial cells through an A2B adenosine receptor-mediated process. **J Immunol**, v. 188, n. 1, p. 445-53, Jan 01 2012. ISSN 1550-6606. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22116830> >.

KOUZAKI, H. et al. The danger signal, extracellular ATP, is a sensor for an airborne allergen and triggers IL-33 release and innate Th2-type responses. **J Immunol**, v. 186, n. 7, p. 4375-87, Apr 2011. ISSN 1550-6606. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21357533> >.

LAFORGE, M. et al. Tissue damage from neutrophil-induced oxidative stress in COVID-19. **Nat Rev Immunol**, v. 20, n. 9, p. 515-516, 09 2020. ISSN 1474-1741. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32728221> >.

LAMERS, M. M. et al. SARS-CoV-2 productively infects human gut enterocytes. **Science**, v. 369, n. 6499, p. 50-54, Jul 03 2020. ISSN 1095-9203. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32358202> >.

LAPPAS, C. M.; SULLIVAN, G. W.; LINDEN, J. Adenosine A2A agonists in development for the treatment of inflammation. **Expert Opin Investig Drugs**, v. 14, n. 7, p. 797-806, Jul 2005. ISSN 1744-7658. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16022569> >.

LARSEN, N. W. et al. Characterization of autonomic symptom burden in long COVID: A global survey of 2,314 adults. **Front Neurol**, v. 13, p. 1012668, 2022. ISSN 1664-2295. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/36353127> >.

LAUER, S. A. et al. The Incubation Period of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) From Publicly Reported Confirmed Cases: Estimation and Application. **Ann Intern Med**, v. 172, n. 9, p. 577-582, May 05 2020. ISSN 1539-3704. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32150748> >.

LAZAROWSKI, E. R.; BOUCHER, R. C.; HARDEN, T. K. Constitutive release of ATP and evidence for major contribution of ecto-nucleotide pyrophosphatase and nucleoside diphosphokinase to extracellular nucleotide concentrations. **J Biol Chem**, v. 275, n. 40, p. 31061-8, Oct 2000. ISSN 0021-9258. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10913128> >.

LEAL, V. N. C. et al. Severe COVID-19 patients show a dysregulation of the NLRP3 inflammasome in circulating neutrophils. **Scand J Immunol**, v. 97, n. 3, p. e13247, Mar 2023. ISSN 1365-3083. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/36541819> >.

LEE, K. A. et al. Characterization of age-associated exhausted CD8⁺ T cells defined by increased expression of Tim-3 and PD-1. **Aging Cell**, v. 15, n. 2, p. 291-300, Apr 2016. ISSN 1474-9726. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26750587> >.

LI, B. et al. Immunoglobulin G/M and Cytokines Detections in Continuous Sera from Patients with Novel Coronaviruses (2019-nCoV) Infection. **Available at SSRN: <https://ssrn.com/abstract=3543609> or <http://dx.doi.org/10.2139/ssrn.3543609>**, 2020.

LINDEN, J.; KOCH-NOLTE, F.; DAHL, G. Purine Release, Metabolism, and Signaling in the Inflammatory Response. **Annu Rev Immunol**, v. 37, p. 325-347, 04 2019. ISSN 1545-3278. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30676821> >.

LIU, B. et al. Reduced numbers of T cells and B cells correlates with persistent SARS-CoV-2 presence in non-severe COVID-19 patients. **Sci Rep**, v. 10, n. 1, p. 17718, 10 2020. ISSN 2045-2322. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/33077873> >.

_____. High risk groups for severe COVID-19 in a whole of population cohort in Australia. **BMC Infect Dis**, v. 21, n. 1, p. 685, Jul 16 2021. ISSN 1471-2334. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/34266396> >.

LIU, L.; XU, L.; LIN, C. T cell response in patients with COVID-19. **Blood Sci**, v. 2, n. 3, p. 76-78, Jul 2020. ISSN 2543-6368. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/35402822> >.

LIVAK, K. J.; SCHMITTGEN, T. D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2^{(-Delta Delta C(T))} Method. **Methods**, v. 25, n. 4, p. 402-8, Dec 2001. ISSN 1046-2023. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11846609> >.

LOMBARDI, A. et al. Early Phases of COVID-19 Are Characterized by a Reduction in Lymphocyte Populations and the Presence of Atypical Monocytes. **Front Immunol**, v. 11, p. 560330, 2020. ISSN 1664-3224. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/33362757> >.

MANN, B. J. et al. Adenosine A2A Receptor (A2AR) agonists improve survival in K28-hACE2 mice following SARS CoV-2 infection. **bioRxiv**, 2022.

MATHEW, D. et al. Deep immune profiling of COVID-19 patients reveals patient heterogeneity and distinct immunotypes with implications for therapeutic interventions. **bioRxiv**, May 2020. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32511371> >.

MCCOLL, S. R. et al. Immunomodulatory impact of the A2A adenosine receptor on the profile of chemokines produced by neutrophils. **FASEB J**, v. 20, n. 1, p. 187-9, Jan 2006. ISSN 1530-6860. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16280366> >.

MILLÁN, J. L. What Can We Learn About the Neural Functions of TNAP from Studies on Other Organs and Tissues? **Subcell Biochem**, v. 76, p. 155-66, 2015. ISSN 0306-0225. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26219711> >.

MINGUET, S. et al. Adenosine and cAMP are potent inhibitors of the NF-kappa B pathway downstream of immunoreceptors. **Eur J Immunol**, v. 35, n. 1, p. 31-41, Jan 2005. ISSN 0014-2980. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15580656> >.

MISHRA, A. et al. A Critical Role for P2X7 Receptor-Induced VCAM-1 Shedding and Neutrophil Infiltration during Acute Lung Injury. **J Immunol**, v. 197, n. 7, p. 2828-37, Oct 01 2016. ISSN 1550-6606. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27559050> >.

MIZUMOTO, N. et al. CD39 is the dominant Langerhans cell-associated ecto-NTPDase: modulatory roles in inflammation and immune responsiveness. **Nat Med**, v. 8, n. 4, p. 358-65, Apr 2002. ISSN 1078-8956. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11927941> >.

MOHSENIN, A. et al. Genetic removal of the A2A adenosine receptor enhances pulmonary inflammation, mucin production, and angiogenesis in adenosine deaminase-deficient mice. **Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol**, v. 293, n. 3, p. L753-61, Sep 2007. ISSN 1040-0605. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17601796> >.

MULS, N. G. et al. Regulation of Treg-associated CD39 in multiple sclerosis and effects of corticotherapy during relapse. **Mult Scler**, v. 21, n. 12, p. 1533-45, Oct 2015. ISSN 1477-0970. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25662347> >.

MUÑOZ-PLANILLO, R. et al. K⁺ efflux is the common trigger of NLRP3 inflammasome activation by bacterial toxins and particulate matter. **Immunity**, v. 38, n. 6, p. 1142-53, Jun 2013. ISSN 1097-4180. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23809161> >.

NAGANUMA, M. et al. Cutting edge: Critical role for A2A adenosine receptors in the T cell-mediated regulation of colitis. **J Immunol**, v. 177, n. 5, p. 2765-9, Sep 2006. ISSN 0022-1767. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16920910> >.

NARASARAJU, T. et al. Excessive neutrophils and neutrophil extracellular traps contribute to acute lung injury of influenza pneumonitis. **Am J Pathol**, v. 179, n. 1, p. 199-210, Jul 2011. ISSN 1525-2191. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21703402> >.

NÉMETH, Z. H. et al. Adenosine stimulates CREB activation in macrophages via a p38 MAPK-mediated mechanism. **Biochem Biophys Res Commun**, v. 312, n. 4, p. 883-8, Dec 2003. ISSN 0006-291X. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14651954> >.

_____. Adenosine augments IL-10 production by macrophages through an A2B receptor-mediated posttranscriptional mechanism. **J Immunol**, v. 175, n. 12, p. 8260-70, Dec 15 2005. ISSN 0022-1767. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16339566> >.

O'DRISCOLL, M. et al. Age-specific mortality and immunity patterns of SARS-CoV-2. **Nature**, v. 590, n. 7844, p. 140-145, Feb 2021. ISSN 1476-4687. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/33137809> >.

ODASHIMA, M. et al. Activation of A2A adenosine receptor attenuates intestinal inflammation in animal models of inflammatory bowel disease. **Gastroenterology**, v. 129, n. 1, p. 26-33, Jul 2005. ISSN 0016-5085. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16012931> >.

OHTA, A.; SITKOVSKY, M. Role of G-protein-coupled adenosine receptors in downregulation of inflammation and protection from tissue damage. **Nature**, v. 414, n. 6866, p. 916-20, 2001 Dec 20-27 2001. ISSN 0028-0836. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11780065> >.

OLIVIERO, B. et al. Expansion of atypical memory B cells is a prominent feature of COVID-19. **Cell Mol Immunol**, v. 17, n. 10, p. 1101-1103, 10 2020. ISSN 2042-0226. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32879471> >.

PACHIEGA, J. et al. Chronic heart diseases as the most prevalent comorbidities among deaths by COVID-19 in Brazil. **Rev Inst Med Trop Sao Paulo**, v. 62, p. e45, 2020. ISSN 1678-9946. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32609257> >.

PERREGAUX, D.; GABEL, C. A. Interleukin-1 beta maturation and release in response to ATP and nigericin. Evidence that potassium depletion mediated by these agents is a necessary and common feature of their activity. **J Biol Chem**, v. 269, n. 21, p. 15195-203, May 1994. ISSN 0021-9258. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8195155> >.

PICCINI, A. et al. ATP is released by monocytes stimulated with pathogen-sensing receptor ligands and induces IL-1beta and IL-18 secretion in an autocrine way. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 105, n. 23, p. 8067-72, Jun 2008. ISSN 1091-6490. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18523012> >.

PIETROBON, A. J.; TEIXEIRA, F. M. E.; SATO, M. N. Immunosenescence and Inflammaging: Risk Factors of Severe COVID-19 in Older People. **Front Immunol**, v. 11, p. 579220, 2020. ISSN 1664-3224. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/33193377> >.

PRATHER, K. A. et al. Airborne transmission of SARS-CoV-2. **Science**, v. 370, n. 6514, p. 303-304, Oct 16 2020. ISSN 1095-9203. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/33020250> >.

PÉTRILLI, V. et al. The inflammasome: a danger sensing complex triggering innate immunity. **Curr Opin Immunol**, v. 19, n. 6, p. 615-22, Dec 2007. ISSN 0952-7915. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17977705> >.

QI, F. et al. Single cell RNA sequencing of 13 human tissues identify cell types and receptors of human coronaviruses. **Biochem Biophys Res Commun**, v. 526, n. 1, p. 135-140, May 21 2020. ISSN 1090-2104. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32199615> >.

QIN, C. et al. Dysregulation of immune response in patients with COVID-19 in Wuhan, China. **Clin Infect Dis**, Mar 2020. ISSN 1537-6591. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32161940> >.

RACZKOWSKI, F. et al. CD39 is upregulated during activation of mouse and human T cells and attenuates the immune response to *Listeria monocytogenes*. **PLoS One**,

v. 13, n. 5, p. e0197151, 2018. ISSN 1932-6203. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29742141> >.

RALEVIC, V.; BURNSTOCK, G. Receptors for purines and pyrimidines. **Pharmacol Rev**, v. 50, n. 3, p. 413-92, Sep 1998. ISSN 0031-6997. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9755289> >.

RAVANI, A. et al. Role and Function of A. **Int J Mol Sci**, v. 18, n. 4, Mar 2017. ISSN 1422-0067. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28338619> >.

ROBERTS, V. S. et al. The role of adenosine receptors A2A and A2B signaling in renal fibrosis. **Kidney Int**, v. 86, n. 4, p. 685-92, Oct 2014. ISSN 1523-1755. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25054776> >.

ROBSON, S. C.; SÉVIGNY, J.; ZIMMERMANN, H. The E-NTPDase family of ectonucleotidases: Structure function relationships and pathophysiological significance. **Purinergic Signal**, v. 2, n. 2, p. 409-30, Jun 2006. ISSN 1573-9538. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18404480> >.

RODRIGUES, T. S. et al. Inflammasomes are activated in response to SARS-CoV-2 infection and are associated with COVID-19 severity in patients. **J Exp Med**, v. 218, n. 3, 03 2021. ISSN 1540-9538. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/33231615> >.

RUBIN, E. J.; LONGO, D. L.; BADEN, L. R. Interleukin-6 Receptor Inhibition in Covid-19 - Cooling the Inflammatory Soup. **N Engl J Med**, v. 384, n. 16, p. 1564-1565, 04 2021. ISSN 1533-4406. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/33631064> >.

RUPPELT, A. et al. Inhibition of T cell activation by cyclic adenosine 5'-monophosphate requires lipid raft targeting of protein kinase A type I by the A-kinase anchoring protein ezrin. **J Immunol**, v. 179, n. 8, p. 5159-68, Oct 15 2007. ISSN 0022-1767. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17911601> >.

SAFFARZADEH, M. et al. Neutrophil extracellular traps directly induce epithelial and endothelial cell death: a predominant role of histones. **PLoS One**, v. 7, n. 2, p. e32366, 2012. ISSN 1932-6203. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22389696> >.

SANTIAGO-CARVALHO, I. et al. P2x7 Receptor Signaling Blockade Reduces Lung Inflammation and Necrosis During Severe Experimental Tuberculosis. **Front Cell Infect Microbiol**, v. 11, p. 672472, 2021. ISSN 2235-2988. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/34026666> >.

SAPKAL, G. et al. Development of indigenous IgG ELISA for the detection of anti-SARS-CoV-2 IgG. **Indian J Med Res**, v. 151, n. 5, p. 444-449, May 2020. ISSN 0975-9174. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32611915> >.

SAVIO, L. E. B. et al. The P2X7 Receptor in Inflammatory Diseases: Angel or Demon? **Front Pharmacol**, v. 9, p. 52, 2018. ISSN 1663-9812. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29467654> >.

_____. Purinergic signaling in the modulation of redox biology. **Redox Biol**, v. 47, p. 102137, 11 2021. ISSN 2213-2317. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/34563872> >.

SAZE, Z. et al. Adenosine production by human B cells and B cell-mediated suppression of activated T cells. **Blood**, v. 122, n. 1, p. 9-18, Jul 2013. ISSN 1528-0020. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23678003> >.

SCHENA, F. et al. Dependence of immunoglobulin class switch recombination in B cells on vesicular release of ATP and CD73 ectonucleotidase activity. **Cell Rep**, v. 3, n. 6, p. 1824-31, Jun 2013. ISSN 2211-1247. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23770243> >.

SCHNEIDER, E. et al. Generation and Function of Non-cell-bound CD73 in Inflammation. **Front Immunol**, v. 10, p. 1729, 2019. ISSN 1664-3224. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31404305> >.

SCHULER, P. J. et al. CD4⁺CD73⁺ T cells are associated with lower T-cell activation and C reactive protein levels and are depleted in HIV-1 infection regardless of viral suppression. **AIDS**, v. 27, n. 10, p. 1545-55, Jun 2013. ISSN 1473-5571. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24005375> >.

SHAHBAZI, M. et al. Pronounced expression of Tim-3 and CD39 but not PD1 defines CD8 T cells in critical Covid-19 patients. **Microb Pathog**, v. 153, p. 104779, Apr 2021. ISSN 1096-1208. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/33548481> >.

SHEVCHENKO, I. et al. Enhanced expression of CD39 and CD73 on T cells in the regulation of anti-tumor immune responses. **Oncoimmunology**, v. 9, n. 1, p. 1744946, 04 2020. ISSN 2162-402X. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/33457090> >.

SHUWA, H. A. et al. Alterations in T and B cell function persist in convalescent COVID-19 patients. **Med (N Y)**, Mar 2021. ISSN 2666-6340. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/33821250> >.

SIMSEK, A. et al. Assessment of CD39 expression in regulatory T-cell subsets by disease severity in adult and juvenile COVID-19 cases. **J Med Virol**, v. 94, n. 5, p. 2089-2101, May 2022. ISSN 1096-9071. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/35032133> >.

SOFOLUWE, A. et al. ATP amplifies NADPH-dependent and -independent neutrophil extracellular trap formation. **Sci Rep**, v. 9, n. 1, p. 16556, Nov 12 2019. ISSN 2045-2322. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31719610> >.

SPYCHALA, J.; ZIMMERMANN, A. G.; MITCHELL, B. S. Tissue-specific regulation of the ecto-5'-nucleotidase promoter. Role of the camp response element site in mediating repression by the upstream regulatory region. **J Biol Chem**, v. 274, n. 32, p. 22705-12, Aug 1999. ISSN 0021-9258. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10428853> >.

STEFAN, C.; JANSEN, S.; BOLLEN, M. Modulation of purinergic signaling by NPP-type ectophosphodiesterases. **Purinergic Signal**, v. 2, n. 2, p. 361-70, Jun 2006. ISSN 1573-9538. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18404476> >.

SURPRENANT, A. et al. The cytolytic P2Z receptor for extracellular ATP identified as a P2X receptor (P2X7). **Science**, v. 272, n. 5262, p. 735-8, May 1996. ISSN 0036-8075. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8614837> >.

TAN, L. et al. Lymphopenia predicts disease severity of COVID-19: a descriptive and predictive study. **Signal Transduct Target Ther**, v. 5, n. 1, p. 33, 03 2020. ISSN 2059-3635. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32296069> >.

TARUNO, A. ATP Release Channels. **Int J Mol Sci**, v. 19, n. 3, Mar 2018. ISSN 1422-0067. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29534490> >.

TÓTH, I. et al. Decreased frequency of CD73+CD8+ T cells of HIV-infected patients correlates with immune activation and T cell exhaustion. **J Leukoc Biol**, v. 94, n. 4, p. 551-61, Oct 2013. ISSN 1938-3673. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23709688> >.

VERMA, Y. K. et al. COVID-19 and its Therapeutics: Special Emphasis on Mesenchymal Stem Cells Based Therapy. **Stem Cell Rev Rep**, v. 17, n. 1, p. 113-131, 02 2021. ISSN 2629-3277. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32920752> >.

VIEIRA, R. P. et al. Purinergic receptor type 6 contributes to airway inflammation and remodeling in experimental allergic airway inflammation. **Am J Respir Crit Care Med**, v. 184, n. 2, p. 215-23, Jul 2011. ISSN 1535-4970. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21512170> >.

VINCENZI, F. et al. A(2A) adenosine receptors are differentially modulated by pharmacological treatments in rheumatoid arthritis patients and their stimulation ameliorates adjuvant-induced arthritis in rats. **PLoS One**, v. 8, n. 1, p. e54195, 2013. ISSN 1932-6203. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23326596> >.

VOELTER, W. et al. Determination of selected pyrimidines, purines and their metabolites in serum and urine by reversed-phase ion-pair chromatography. **J Chromatogr**, v. 199, p. 345-54, Oct 31 1980. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7451604> >.

WALLACE, K. L.; LINDEN, J. Adenosine A2A receptors induced on iNKT and NK cells reduce pulmonary inflammation and injury in mice with sickle cell disease.

Blood, v. 116, n. 23, p. 5010-20, Dec 2010. ISSN 1528-0020. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20798237> >.

WANG, D. et al. Clinical Characteristics of 138 Hospitalized Patients With 2019 Novel Coronavirus-Infected Pneumonia in Wuhan, China. **JAMA**, v. 323, n. 11, p. 1061-1069, 03 2020. ISSN 1538-3598. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32031570> >.

WANG, W. et al. Detection of SARS-CoV-2 in Different Types of Clinical Specimens. **JAMA**, v. 323, n. 18, p. 1843-1844, May 12 2020. ISSN 1538-3598. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32159775> >.

WHO. **COVID-19 Therapeutic Trial Synopsis**. World Health Organization. 2020
_____. **COVID-19 Weekly Epidemiological Update, edition 134 published 16 March 2023**. 2023

WILDNER, N. H. et al. B cell analysis in SARS-CoV-2 versus malaria: Increased frequencies of plasmablasts and atypical memory B cells in COVID-19. **J Leukoc Biol**, v. 109, n. 1, p. 77-90, 01 2021. ISSN 1938-3673. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/33617048> >.

WU, Z.; MCGOOGAN, J. M. Characteristics of and Important Lessons From the Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Outbreak in China: Summary of a Report of 72 314 Cases From the Chinese Center for Disease Control and Prevention. **JAMA**, v. 323, n. 13, p. 1239-1242, 04 2020. ISSN 1538-3598. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32091533> >.

XIE, Y. et al. Long-term cardiovascular outcomes of COVID-19. **Nat Med**, v. 28, n. 3, p. 583-590, Mar 2022. ISSN 1546-170X. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/35132265> >.

YEGUTKIN, G. G. Nucleotide- and nucleoside-converting ectoenzymes: Important modulators of purinergic signalling cascade. **Biochim Biophys Acta**, v. 1783, n. 5, p. 673-94, May 2008. ISSN 0006-3002. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18302942> >.

YEGUTKIN, G. G. et al. Ecto-5'-nucleotidase/CD73 enhances endothelial barrier function and sprouting in blood but not lymphatic vasculature. **Eur J Immunol**, v. 45, n. 2, p. 562-73, Feb 2015. ISSN 1521-4141. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25402681> >.

ZACCA, E. R. et al. B cells from Patients with Rheumatoid Arthritis Show Conserved CD39-Mediated Regulatory Function and increased CD39 Expression After Positive Response to Therapy. **J Mol Biol**, v. 433, n. 1, p. 166687, 01 2021. ISSN 1089-8638. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/33098857> >.

ZHANG, J. J. et al. Clinical characteristics of 140 patients infected with SARS-CoV-2 in Wuhan, China. **Allergy**, v. 75, n. 7, p. 1730-1741, 07 2020. ISSN 1398-9995. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32077115> >.

ZHANG, W. et al. The use of anti-inflammatory drugs in the treatment of people with severe coronavirus disease 2019 (COVID-19): The Perspectives of clinical immunologists from China. **Clin Immunol**, v. 214, p. 108393, Mar 2020. ISSN 1521-7035. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32222466> >.

_____. Multiple steps determine CD73 shedding from RPE: lipid raft localization, ARA1 interaction, and MMP-9 up-regulation. **Purinergic Signal**, v. 14, n. 4, p. 443-457, 12 2018. ISSN 1573-9546. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30392016> >.

ZHENG, Y. et al. IL-6-induced CD39 expression on tumor-infiltrating NK cells predicts poor prognosis in esophageal squamous cell carcinoma. **Cancer Immunol Immunother**, v. 69, n. 11, p. 2371-2380, Nov 2020. ISSN 1432-0851. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32524362> >.

ZHOU, S. N. et al. Skewed CD39/CD73/adenosine pathway contributes to B-cell hyperactivation and disease progression in patients with chronic hepatitis B. **Gastroenterol Rep (Oxf)**, v. 9, n. 1, p. 49-58, Jan 2021. ISSN 2052-0034. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/33747526> >.

ZHOU, Y. et al. Aberrant pathogenic GM-CSF + T cells and inflammatory CD14 + CD16 + monocytes in severe pulmonary syndrome patients of a new coronavirus. **bioRxiv**, 2020.

_____. Pathogenic T cells and inflammatory monocytes incite inflammatory storm in severe COVID-19 patients. **National Science Review**, 2020.

_____. Comorbidities and the risk of severe or fatal outcomes associated with coronavirus disease 2019: A systematic review and meta-analysis. **Int J Infect Dis**, v. 99, p. 47-56, Oct 2020. ISSN 1878-3511. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32721533> >.

ZIMMERMANN, H.; ZEBISCH, M.; STRÄTER, N. Cellular function and molecular structure of ecto-nucleotidases. **Purinergic Signal**, v. 8, n. 3, p. 437-502, Sep 2012. ISSN 1573-9546. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22555564> >.