IGOR SANTIAGO DE CARVALHO

Estudo do receptor P2RX7 no estabelecimento de células T CD4^{+} residentes no pulmão em resposta a infecções locais

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.

São Paulo
2022

IGOR SANTIAGO DE CARVALHO

Estudo do receptor P2RX7 no estabelecimento de células T CD4^{+} residentes no pulmão em resposta a infecções locais

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: Profª. Drª. Maria Regina D'Império Lima

Coorientadora: Profª Drª. Elena Lassounskaia

Versão original

São Paulo
2022

CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO (CIP)
Serviço de Biblioteca e informação Biomédica
do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo

Ficha Catalográfica elaborada pelo(a) autor(a)

Santiago de Carvalho, Igor
Estudo do receptor P2RX7 no estabelecimento de células T CD4+ residentes no pulmão em resposta a infecções locais / Igor Santiago de Carvalho; orientadora Maria Regina D\'Império Lima; coorientadora Elena Lassounskaia. -- São Paulo, 2022.
156 p.

Tese (Doutorado)) -- Universidade de São Paulo, Instituto de Ciências Biomédicas.

1. Células T CD4. 2. Dano pulmonar. 3. Infecção pulmonar. 4. P2RX7. I. D\'Império Lima, Maria Regina , orientador. II. Lassounskaia, Elena, coorientador. III. Título.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS

Candidato(a): Igor Santiago de Carvalho

Título da Dissertação/Tese: Estudo do receptor P2RX7 no estabelecimento de células T $CD4^+$ residentes no pulmão em resposta a infecções locais

Orientador: Profª. Drª Maria Regina D'Império Lima

A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa da Dissertação de Mestrado/Tese de Doutorado, em sessão pública realizada a **...../...../.....**, considerou o(a) candidato(a):

( ) Aprovado (a) **( ) Reprovado (a)**

Examinador(a): Assinatura: .....

Nome: .....

Instituição: .....

Examinador(a): Assinatura: .....

Nome: .....

Instituição: .....

Examinador(a): Assinatura: .....

Nome: .....

Instituição: .....

Presidente: Assinatura: .....

Nome: .....

Instituição: .....

Instituto de Ciências Biomédicas
ICB USP
Excelência em Ensino e Pesquisa

Universidade de São Paulo
Comissão de Ética no Uso de Animais

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Avaliação do papel do receptor P2X7 na geração de diferentes subtipos de linfócitos T CD4+ na tuberculose pulmonar grave", protocolada sob o CEUA nº 5611150818, sob a responsabilidade de **Maria Regina D'Imperio Lima** *e equipe; Igor Santiago de Carvalho* - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Instituto de Ciências Biomédicas (Universidade de São Paulo) (CEUA-ICB/USP) na reunião de 21/09/2018.

We certify that the proposal "Evaluation of the role of the P2X7 receptor in the generation of different subtypes of CD4+ T lymphocytes in severe pulmonary tuberculosis ", utilizing 256 Isogenics mice (256 males), 784 Genetically modified mice (GMO) (784 males), protocol number CEUA 5611150818, under the responsibility of **Maria Regina D'Imperio Lima** *and team; Igor Santiago de Carvalho* - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the Biomedical Sciences Institute (University of São Paulo) (CEUA-ICB/USP) in the meeting of 09/21/2018.

Finalidade da Proposta: Pesquisa (Acadêmica)

Vigência da Proposta: 24 meses Depto/Setor: Imunologia

Origem:	Biotério de Experimentação do Departamento de Imunologia			
Espécie:	Camundongos isogênicos	sexo: Machos	Idade ou peso:	6 a 8 semanas
Linhagem:	C57BL/6		**N amostral:**	256
Origem:	Biotério de Experimentação do Departamento de Imunologia			
Espécie:	Camundongo geneticamente modificado (OGM)	sexo: Machos	Idade ou peso:	6 a 8 semanas
Linhagem:	P2X7 KO		**N amostral:**	256
Origem:	Biotério de Experimentação do Departamento de Imunologia			
Espécie:	Camundongo geneticamente modificado (OGM)	sexo: Machos	Idade ou peso:	6 a 8 semanas
Linhagem:	CD4-/-		**N amostral:**	256
Origem:	Biotério de Experimentação do Departamento de Imunologia			
Espécie:	Camundongo geneticamente modificado (OGM)	sexo: Machos	Idade ou peso:	6 a 8 semanas
Linhagem:	P2X7flox/flox		**N amostral:**	6
Origem:	Biotério de Experimentação do Departamento de Imunologia			
Espécie:	Camundongo geneticamente modificado (OGM)	sexo: Machos	Idade ou peso:	6 a 8 semanas
Linhagem:	CD4Cre		**N amostral:**	10
Origem:	Biotério de Experimentação do Departamento de Imunologia			
Espécie:	Camundongo geneticamente modificado (OGM)	sexo: Machos	Idade ou peso:	6 a 8 semanas
Linhagem:	CD4CreP2X7flox/flox		**N amostral:**	256

Av. Professor Lineu Prestes, 2415 - ICB III / Cidade Universitária, Butantã - CEP 05508-000 - São Paulo/SP - tel: 55 (11) 3091-7733
Horário de atendimento: 2ª a 6ª das 8 às 16h : e-mail: cep@icb.usp.br
CEUA N 5611150818

Luciane Valéria Sita
Profa. Dra. Luciane Valéria Sita
Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais
Instituto de Ciências Biomédicas (Universidade de São Paulo)

Dr. Alexandre Ceroni
Vice-Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais
Instituto de Ciências Biomédicas (Universidade de São Paulo)

MAYO CLINIC

IACUC HazID AO

Date: Thursday, February 10, 2022 10:19:00 AM

IACUC Protocol General Information A00005542-20

Title of Project:
Role of extracellular nucleotides in CD8+ T cell immune responses to viral infection, cancer and asthma

Intention:
Experimental Research

Species:
Mice

Indicate Mayo Foundation location(s) where the protocol will be conducted:
Arizona

Principal Investigator:
Henrique Borges da Silva

Housing

Check all facilities where the animals will be housed:

Building

Samuel C. Johnson Res. Bldg.

Will live animals be taken out of the animal facility to laboratory or non-clinical areas for housing longer than 24 hours (over 24 hours is considered Satellite housing)? Satellite Housing Policy

○ Yes ● No

Will live animals be taken out of the animal facility for any procedures? (Surgery, euthanasia, blood draws, injections, etc.)

○ Yes ● No

Will procedures involving animals be performed in clinical areas supporting patients? ○ Yes ● No

Will this study be conducted in accordance with 21CFR part 58, Good Laboratory Practice for Nonclinical Laboratory Studies? Please note these are usually pre-clinical studies and additional institutional approvals will be required before this protocol can be activated. ○ Yes ● No

GOVERNO DO ESTADO
RIO DE JANEIRO
Secretaria de Estado de Ciência, Tecnologia e Inovação
Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro

REITORIA
Comissão de Ética no Uso de Animais-CEUA

CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo nº 482, intitulado "ESTUDO DE VIRULÊNCIA DAS CEPAS DE MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS, SUA COINFECÇÃO COM OUTROS PATÓGENOS EMERGENTES, E NOVAS ABORDAGENS TERAPÊUTICAS PARA O TRATAMENTO ADJUVANTE DA TUBERCULOSE PULMONAR NO MODELO MURINO" sob a responsabilidade da Dr.ª Elena Lassounskaia, Centro de Biociências e Biotecnologia da Universidade Estadual do Norte Fluminense, está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotado pela Sociedade Brasileira de Ciência de Animais de Laboratório/Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (SBCAL/COBEA) bem como a lei federal 11. 794 e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA DE USO DE ANIMAIS (CEUA - UENF) em reunião ocorrida em 25/05/2021 como um aditivo ao protocolo nº 350. Este programa está licenciado na presente formatação e tem validade até 25/05/2025.

Campos dos Goytacazes, 25 de maio de 2025.

Clóvis de Paula Santos
Presidente da Comissão de Ética de uso de Animais

UENF
Av. Alberto Lamego, 2000 - Parque Califórnia - Campos dos Goytacazes/ RJ - 28013-602
Tel.: (22) 2739-4178 - (22) – 2739-7180 correio eletrônico: adrianafaria@uenf.br

Esta tese é dedicada aos meus pais, Derci e
Elymar, aos meus irmãos, sobrinhos e a
todos os cientistas brasileiros.

AGRADECIMENTOS

À Deus, por ter me dado sabedoria e fé para alcançar todos os meus objetivos até aqui. "*The Lord is gracious and righteous; our God is full of compassion. The Lord protects the simple hearted; when I was brought low, he saved me."* (Psalm 116:8-9).

Aos meus pais Derci e Elymar por terem me dado todo suporte que precisei para chegar até aqui. Obrigado por terem acreditado nos meus sonhos e pela paciência que tiveram durante todos esses anos. Tudo isso sempre foi por vocês. Eu amo vocês!

Aos meus irmãos e sobrinhos que sempre se mostraram orgulhosos e me apoiaram nessa jornada acadêmica.

À minhas melhores amigas Bárbara, Nina e Thainá, que sempre foram o colo que precisei nos momentos mais difíceis desses anos de doutorado. Vocês são os melhores presentes que a vida já me deu. Amo muito vocês!

Aos meus amigos da nossa Eterna República Albert Einstein (Helvis, Marcus, Anderson, Renan, Ana Flávia, Rafael e Pedro) que viram esse sonho do doutorado na USP nascer e acompanharam todas as fases. Agora não seria diferente, vocês fazem parte disso. Obrigado por terem se alegrado e comemorado em todas as minhas conquistas.

Aos amigos que fiz morando no Altos do Butantã, Ewerton, Loreana, Paulo Evangelista, Paulo Newton e Guilherme, muito obrigado por me aguentar em todos os momentos finais. Principalmente enquanto eu escrevia e sofria por esta tese.

A um amigo muito especial que apareceu no momento que mais precisava e me ajudou a olhar para a vida de forma mais leve. Rodrigo, vou levar nossa amizade para sempre. Também quero agradecer aos amigos Flávia e João que estiveram comigo mesmo que de longe e foram cruciais na minha vida.

Às melhores pessoas que pude conhecer e me tornar amigo durante meu estágio no exterior. Carla e Suany, se eu fosse escrever o quão grato por ter vocês na minha vida eu precisaria de mais páginas. Todas as histórias que construímos juntos estarão para sempre guardadas no meu coração. Em breve continuaremos trilhar novos caminhos juntos no Arizona.

Às pessoas que me inspiraram na vida acadêmica, me deram suporte e as vezes acreditaram em mim mais do que eu mesmo. Francis, Profª. Fernanda, Profª. Márcia e Prof. Victor, sou muito grato pelo carinho que sempre tiveram por mim.

Aos amigos do Laboratório de Interações Neuroimunes, Prof. Jean Pierre, Carol, Nagela, Lilian, Yan, Laura, Tiago, Jonathan e Sandra meu agradecimento pelas conversas, cafés, churrascos e PMLs que tivemos. Esses momentos ficarão sempre marcados nas memórias mais felizes do doutorado.

Às pessoas que foram cruciais para esta tese. Drª. Gislane e Dr. Caio, vocês foram mais que colaboradores e coautores deste trabalho, vocês foram os melhores amigos que alguém pode ter no trabalho. Dedico esta tese também a vocês, muito obrigado!

Ao meu amigo e colaborador Dr. Fabrício que foi a primeira pessoa que acreditou em mim e me ensinou a ser um cientista quando eu ainda era apenas um calouro na UENF. Jamais esquecerei o dia que te perguntei (no pátio do CBB) se você achava que eu poderia estudar na USP e você disse que sim e me incentivou a me inscrever. Esta tese também é para você. Obrigado!

À minhas orientadoras Profª. Drª. Maria Regina e Profª. Drª Elena Lassounskaia, por terem MUITA paciência e por ter me ensinado a ser um bom cientista. Vocês foram mais que orientadoras, se tornaram as minhas maiores inspirações como cientista. Obrigado!

Aos colegas do Laboratório de Imunologia das Doenças Infecciosas, Prof. Dr. Jose Maria Alvarez Mosig, Drª. Érika, Paulo, Dr. Rafael, Drª. Maria, Drª. Gislane, Dr.

Caio, Msc. Deborah, Msc. Bruna, Msc. Rogério, Msc. Joauim Paulo, Luciana, Marcos e Danilo meu muito obrigado pela parceria durante esses anos.

Aos técnicos Rogério, Silvana e Aurea, pelo suporte científico e pelos cafezinhos que tomamos juntos nos intervalos.

Ao Prof. Dr. Henrique Borges da Silva, que me recebeu em seu laboratório na Mayo Clinic (Scottsdale, Arizona) e foi mais do que um chefe, agindo como um pai. Minha gratidão por cada conversa, orientação e caronas (haha). Obrigado!

Aos colegas de laboratório que fiz na Mayo Clinic, Profª. Drª. Jessica Lancaster, Drª. Trupti, Msc. Bruna, Tina, Harish, Akash, Sarah e Maggie, pela parceria nos 6 meses que estive lá.

Ao programa de Pós-graduação em Imunologia (ICB/USP e principalmente ao Prof. Dr. Niels Olsen Saraiva Câmara e a Secretária Maria Eni pela disposição em ajudar em vários momentos.

Por fim, mas não menos importante, a mim que não desisti e consegui chegar até aqui!

MUITO OBRIGADO!!!

Estudo realizado no Laboratório de Imunologia das Doenças Infecciosas do Departamento de Imunologia, do Instituto de Ciências Biomédicas, da Universidade de São Paulo, sob orientação e coorientação das professoras Drª. Maria Regina D'Império Lima e Drª Elena Lassounskaia, respectivamente e no Laboratório Nível 3 de Biossegurança, do Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas, da Faculdade de Ciências Farmacêuticas, da Universidade de São Paulo, sob responsabilidade do Prof. Dr. Mário Hirouyki Hirata. Este projeto recebeu auxílio financeiro da FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo) projetos números 2019/24700-8 e 2015/20432-8, do CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) e CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior).

Acredite em si próprio e chegará um dia em que os outros não terão outra escolha senão acreditar com você.

– Cynthia Kersey

RESUMO

As células T CD4$^+$ participam da resposta imune de várias doenças pulmonares. Em doenças infecciosas que afetam os pulmões, a resposta destas células pode gerar proteção ou agravamento. Na tuberculose causada pelo *Mycobacterium tuberculosis*, a resposta de células T CD4$^+$ é regulada pelo próprio tecido pulmão, que controla a entrada excessiva destas células no parênquima pulmonar. Este é um mecanismo que evita danos aos órgãos que possuem baixa capacidade regenerativa. Contudo, algumas doenças graves podem induzir a entrada desregulada de células T, como em infecções por cepas micobacterianas hipervirulentas e pelo vírus Influenza. Neste contexto, ainda não se sabe o que regula a entrada destas células no tecido pulmonar durante estas infecções e suas consequências. Portanto, este estudo buscou compreender o papel das células T CD4$^+$ residentes na geração de dano pulmonar e agravamento de infecções pulmonares e os mecanismos envolvidos nesse processo. Para isso, utilizamos modelos de infecções pulmonares graves induzidas por *Mycobacterium bovis* (MP287) e vírus Influenza (PR8). A infecção com a cepa MP287 induz lesão pulmonar grave que está associada a altos números de células T CD4$^+$ residentes em camundongos C57BL/6 (WT). A depleção de células T CD4$^+$ 21 dias p.i. preveniu o agravamento da infecção. Em seguida, transferimos números intermediários (1x10^6) e altos (3x10^6) de células T CD4$^+$ para camundongos *Cd4*$^{-/-}$ infectados. Como resultado, apenas os camundongos que receberam altos números de células T CD4$^+$ desenvolveram tuberculose grave. A tuberculose grave induz a liberação de altos níveis de ATP extracelular (eATP) que é reconhecido pelo receptor purinérgico P2RX7. A interação eATP-P2RX7 é crucial para geração de células T residentes. Adicionalmente, o P2RX7 é altamente expresso em células T CD4$^+$ residentes no pulmão durante a infecção por MP287. Por isso, avaliamos se a expressão de P2RX7 pode regular a residência de células T CD4$^+$ durante a infecção por MP287. Camundongos *P2rx7*$^{-/-}$ e *Cd4creP2rx7*$^{fl/fl}$ foram infectados e desenvolveram tuberculose branda associada a baixos números de células T CD4$^+$ residentes no pulmão. Após a co-transferência de células T CD4$^+$ isoladas de camundongos WT e *P2rx7*$^{-/-}$ para camundongos *Cd4*$^{-/-}$ encontramos majoritariamente células T CD4$^+$ WT no parênquima pulmonar, enquanto as células T CD4$^+$ *P2rx7*$^{-/-}$ foram localizadas principalmente na vasculatura. Para avaliar se esse fenômeno é infecção específico ou não, utilizamos o modelo de infecção viral com a cepa PR8. A deficiência de P2RX7 em células T preveniu a inflamação grave e formação de fibrose no pulmão durante a infecção por PR8. Além disso, as células T CD4$^+$ residentes estão reduzidas nos camundongos deficientes de P2RX7. Para entender quais as vias moleculares envolvidas neste fenômeno, as células T CD4$^+$ residentes foram isoladas do pulmão 7 dias p.i. com PR8 para execução de um RNAseq. Os dados gerados demonstram que as células T CD4$^+$ residentes deficientes em P2RX7 têm expressão reduzida de genes relacionados à migração e proliferação celular como: *Cxcr3* e *Mki67*. Estes dados indicam que a interação eATP-P2RX7 no pulmão durante infecções induz o acúmulo de células T CD4$^+$ no tecido, aumentando a migração e proliferação destas células. Para entender qual é a fonte de eATP no tecido que as células T CD4$^+$ utilizam durante a infecção por PR8, infectamos camundongos deficientes de Panexina-1 (Panx-1) total ou somente em células T. O número de células T CD4$^+$ residentes no pulmão foi reduzido somente com a deficiência total de Panx-1. Portanto, estes dados indicam que o reconhecimento parácrino de eATP via P2RX7 regula a residência de células T CD4$^+$ no pulmão, determinando o destino de doenças infecciosas locais.

Palavras chaves: Células T CD4$^+$, dano pulmonar, infecção pulmonar e P2RX7.

ABSTRAC T

CD4$^+$ T cells participate in the immune response of several lung diseases. In infectious diseases that affect the lungs, CD4$^+$ T cells response can generate protection or aggravation. During tuberculosis caused by *Mycobacterium tuberculosis,* CD4$^+$ T cell response is regulated by the lung tissue, which controls the excessive entry of these cells into the lung parenchyma. This is a mechanism that prevents damage to organs that have low regenerative capacity. However, some severe diseases can induce unregulated entry of T cells, as in infections with mycobacterial hypervirulent strains and the Influenza virus. In this context, it is still unclear which mechanisms regulates the entry of these cells into the lung tissue during these infections and their consequences. Therefore, this study sought to understand the role of resident CD4$^+$ T cells in generating lung damage and worsening lung infections and the mechanisms involved in this process. For this, we used models of severe pulmonary infection induced by *Mycobacterium bovis* (MP287) and Influenza virus (PR8). Infection with the MP287 strain induces severe lung injury that is associated with high numbers of resident CD4$^+$ T cells in C57BL/6 (WT) mice. CD4$^+$ T cell depletion 21 days p.i. prevented the worsening of infection. Next, we transferred intermediate (1x10^6) and high (3x10^6) numbers of CD4$^+$ T cells to infected *Cd4$^{-/-}$* mice. As a result, only mice that received high numbers of CD4$^+$ T cells developed severe tuberculosis. Severe tuberculosis induces the release of high levels of extracellular ATP (eATP) that is recognized by the purinergic receptor P2RX7. The eATP-P2RX7 interaction is crucial for the generation of resident T cells. Additionally, P2RX7 is highly expressed on lung-resident CD4$^+$ T cells during MP287 infection. In this way, we evaluated whether P2RX7 expression can regulate CD4$^+$ T cell residence during MP287 infection. *P2rx7$^{-/-}$* and *Cd4creP2rx7$^{fl/fl}$* mice were infected and developed mild tuberculosis associated with low numbers of lung-resident CD4$^+$ T cells. After co-transfer of CD4$^+$ T cells isolated from WT and *P2rx7$^{-/-}$* mice to *Cd4$^{-/-}$* mice, we found mostly WT CD4$^+$ T cells in the lung parenchyma, while *P2rx7$^{-/-}$* CD4$^+$ T cells were mainly located in the vasculature. To assess whether this phenomenon is an infection-specific or not, we used the model of viral infection with the PR8 strain. P2RX7 deficiency in T cells prevented severe inflammation and fibrosis formation in the lung during PR8 infection. In addition, lung-resident CD4$^+$ T cells are reduced in P2RX7-deficient mice. To understand the molecular pathways involved in this phenomenon, lung-resident CD4$^+$ T cells were isolated from the lung 7 days p.i. with PR8 to RNAseq analysis. The data demonstrate that P2RX7-deficient resident CD4$^+$ T cells have reduced expression of genes related to cell migration and proliferation such as: *Cxcr3* and *Mki67*. These data indicate that the eATP-P2RX7 interaction in the lung during infections induces the accumulation of CD4$^+$ T cells in the tissue, increasing the migration and proliferation of these cells. To understand what is the source of eATP in the lung tissue that CD4$^+$ T cells use during PR8 infection, we infected Panexin 1 (Panx-1) mice deficient full or only in T cells. The number of lung-resident CD4$^+$ T cells were reduced only with total Panx-1 deficiency. Therefore, these data indicate that the paracrine recognition of eATP via P2RX7 regulates the residence of CD4$^+$ T cells in the lung, determining the fate of local infectious diseases.

Keywords: CD4$^+$ T cells, Lung damage, Lung Infection and P2RX7.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Principais células imunes no pulmão de mamíferos.....26
Figura 2: Grau de tolerância dos órgãos ao dano.....28
Figura 3: Incidência mundial da tuberculose em 2020.....29
Figura 4: Patogênese da tuberculose. 31
Figura 5: Resposta imune celular contra o *Mtb*.....33
Figura 6: Localização e resposta de células T $CD4^+$ no pulmão com tuberculose.....37
Figura 7: Áreas sazonais de risco para influenza: novembro-abril (azul), abril-novembro (vermelho) e durante todo o ano (amarelo).....39
Figura 8: Resposta primária de células T $CD4^+$ e geração de memória na infecção pelo vírus Influenza.....44
Figura 9: Reconhecimento e hidrólise do eATP.....46
Figura 10: Papel dual do receptor P2RX7 na infecção por *Mtb*.....49
Figura 11: Efeitos da sinalização purinérgica na ativação de células T.....50
Figura 12: Infiltrado e fenótipo de células T $CD4^+$ no pulmão durante a tuberculose grave causada pela cepa Mbv MP287.....64
Figura 13: Efeitos das células T $CD4^+$ residentes na gravidade da tuberculose pulmonar causada pela cepa *Mbv* MP287.....66
Figura 14: Efeitos da sinalização via P2RX7 na residência de células T $CD4^+$ e no agravamento da tuberculose pulmonar causada pela cepa *Mbv* MP287.....68
Figura 15: Efeitos da expressão intrínseca de P2RX7 em células T no agravamento da pulmonar causada pela cepa *Mbv* MP287.....70
Figura 16: Habilidade de números intermediários de células T $CD4^+$ WT e *P2rx7*$^{-/-}$ em acessar o parênquima pulmonar para transferir proteção para camundongos *Cd4*$^{-/-}$ infectados.....73
Figura 17: Efeitos da sinalização via P2RX7 na residência de células T $CD4^+$ no pulmão na tuberculose grave causada pela cepa *Mbv* MP287.....74
Figura 18: Fenótipo das células T $CD4^+$ WT e *P2rx7*$^{-/-}$ residentes no pulmão durante a tuberculose grave causada pela cepa *Mbv* MP287.....76
Figura 19: Fenótipo das células T $CD4^+$ WT e *P2rx7*$^{-/-}$ no mLN durante a tuberculose grave causada pela cepa *Mbv* MP287.....78

Figura 20: Papel do receptor P2RX7 expresso por células T na inflamação pulmonar causada pelo vírus Influenza.....80
Figura 21: Papel do receptor P2RX7 no estabelecimento de células $CD4^+$ residentes no durante a infecção pelo vírus Influenza.....82
Figura 22: Efeitos da sinalização via P2RX7 na residência de células T $CD4^+$ no pulmão na infecção pelo vírus Influenza.....83
Figura 23: Efeitos da expressão intrínseca de P2RX7 na expressão de moléculas de proliferação celular e adesão tecidual em células T $CD4^+$ residentes do pulmão.....85
Figura 24: Efeitos dos canais de Panx-1 na infecção pelo vírus Influenza e na residência de células T $CD4^+$.....87
Figura 25: Ilustração esquemática mostrando o papel da interação eATP-P2RX7 na residência de células T $CD4^+$ e suas implicações no agravamento de infecções pulmonares.....97

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACK	do inglês, *Ammonium-Chloride-Potassium*
ADAM	do inglês, *ADAM Metalloopeptidase domain 1*
ADC	Albumina, Dextrose e Catalase
ADP	Adenosina Difosfato
ART	do inglês, *ADP-ribosyltransferase*
AS	Ácido Siálico
ATP	Adenosina Trifosfato
BALT	Tecido Linfoide Associado aos Brônquios
BBG	do inglês, *Brilliant blue G*
Ca^+	Cálcio
CD	do inglês, *Cluster of Differentiation*
cDNA	Ácido Desoxirribonucleico Complementar
CCR	β-Chemokine Receptors
CFU	do inglês, *Colony-Forming Unit*
CTL	Linfócito T Citotóxico
CXCR	α-Chemokine Receptors
DAMPs	Padrões Moleculares Associados ao Dano
DCs	Células Dendríticas
D.O.	Densidade Ótica
eATP	Adenosina Trifosfato Extracelular
EDTA	do inglês, *Ethylenediaminetetraacetic Acid*
ERK	do inglês, *Extracellular Signal-Regulated Protein Kinases*
ESAT-6	do inglês *Early-secreted target antigen*
ESX-1	do inglês *Esat-6 secretion system 1*
GM-CSF	Fator Estimulador de Colônia de Granulócitos
H	Hemaglutinina
HE	Hematoxilina-Eosina
HEVs	Vênulas de Endotélio Alto
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
IAV	Influenza vírus A
IBV	Influenza vírus B
ICV	Influenza vírus C

IDV	Influenza vírus D
iBALT	Tecido Linfoide Induzido Associado aos Brônquios
IFN	Interferon
Ig	Imunoglobulina
IL	Interleucina
I.N.	Intranasal
IRF	Fator Regulador de Interferon
I.T.	Intratraqueal
I.V.	Intravenoso
K^+	Potássio
KLRG1	do inglês, *Killer Cell Lectin Like Receptor G1*
MDR-TB	Tuberculose Multidroga Resistente
MHC	Complexo Principal de Histocompatibilidade
mLN	Linfonodo Mediastinal
MMP	Metaloproteinase da Matriz
mRNA	RNA mensageiro
MUC	Mucina
MT	Tricomo de Masson
Mtb	*Mycobacterium tuberculosis*
Mbv	*Mycobacterium bovis*
N	Neuraminidase
NAD^+	Nicotinamida-Adenina-Dinucleótido
NB-2	Laboratório de Biossegurança Nível 2
NB-3	Laboratório de Biossegurança Nível 3
NFAT	do inglês, *Nuclear Factor of Activated T-cells*
NK	do inglês, *Natural Killer Cell*
NO	Óxido Nítrico
OADC	Oleato, Albumina, Dextrose e Catalase
OMS	Organização Mundial de Saúde
PAMPs	Padrões Moleculares Associados à Patógenos
P2R	do inglês, *Purinergic Receptor 2 Family*
P2RX	do inglês, *P2X receptors*
P2RY	do inglês, *P2Y receptors*
PBS	Solução Fosfatada Tamponada

PD-1	do inglês, *Programmed Cell Death Protein 1*
P.I.	Pós infecção
PRR	Receptor de Reconhecimento de Padrões
RANTES	do inglês *Regulated on Activation, Normal T Cell Expressed and Secreted*
RIG-1	Gene I Induzível por Ácido Retinóico
RNA	Ácido Ribonucleico
S100A9	do inglês, *S100 calcium-binding protein A9*
SI	Sistema Imunológico
SFB	Soro Fetal Bovino
SPF	Livre de Patógenos Específicos
SR	Sistema Respiratório
ssRNA	RNA Fita Simples
TNF	Fator de Necrose Tumoral
Tfh	Linfócito T Folicular
Th	Linfócito T Auxiliar
TLR	Receptor do Tipo Toll
TM	Transmembrana
Treg	Linfócito T Reguladora
TRM	Célula T de Memória Residente
tSNE	do inglês, *t-distributed stochastic neighbor embedding*
XDR-TB	Tuberculose Extensivamente Resistente
WT	do inglês *Wild type*

SUMÁRIO

1 Introdução 24

1.1. Imunologia pulmonar 25

1.2. A tuberculose 28

1.3. Resposta imune na tuberculose 30

1.4. Resposta de células T CD4$^+$ na tuberculose 35

1.5. A gripe sazonal causada pelo vírus Influenza 38

1.6. Resposta imune na infecção pelo vírus Influenza 40

1.7. Resposta de células T CD4$^+$ na infecção pelo vírus Influenza 43

1.8. Efeitos do reconhecimento do ATP extracelular 45

1.9. Efeitos da sinalização via P2RX7 em células T CD4$^+$ 49

2 Objetivos 52

2.1. Geral 53

2.2. Específicos 53

3 Metodologia ..... **Erro! Indicador não definido.**

3.1. Animais ..... **Erro! Indicador não definido.**

3.2. *Mycobacterium bovis* ..... **Erro! Indicador não definido.**

3.3. Vírus influenza ..... **Erro! Indicador não definido.**

3.4. Infecção dos camundongos ..... **Erro! Indicador não definido.**

3.5. Depleção de células T CD4$^+$ ..... **Erro! Indicador não definido.**

3.6. Purificação de células T CD4$^+$ e transferência adotivaErro! Indicador não definido.

3.7. Marcação intravascular ..... **Erro! Indicador não definido.**

3.8. Processamento pulmonar e preparação das célulasErro! Indicador não definido.

3.9. Análises por citometria de fluxo ..... **Erro! Indicador não definido.**

3.10. Análise histológica ..... **Erro! Indicador não definido.**

3.11. Quantificação do CFU ..... **Erro! Indicador não definido.**

3.12. Quantificação da carga viral ..... **Erro! Indicador não definido.**

3.13. Microscopia confocal ..... **Erro! Indicador não definido.**

3.14. Geração quimeras mistas de medula óssea **Erro! Indicador não definido.**

3.15. Análises por RNA-sequencing ..... **Erro! Indicador não definido.**

3.16. Análises estatísticas ..... **Erro! Indicador não definido.**

4 Resultados ..... **Erro! Indicador não definido.**

Capítulo 1 ..... **Erro! Indicador não definido.**

Papel do receptor P2RX7 em células T CD4$^+$ na tuberculose pulmonar grave ..... **Erro! Indicador não definido.**

4.1. Células T CD4$^+$ residentes efetoras agravam a tuberculose pulmonar **Erro! Indicador não definido.**

4.5. A expressão de P2RX7 em células T aumenta a residência de células T CD4$^+$ efetoras no parênquima pulmonar resultando em tuberculose grave ..... **Erro! Indicador não definido.**

4.6. Números intermediários de células T CD4$^+$ residentes do pulmão levam à proteção mediada por P2RX7 contra formas graves de tuberculose ..... **Erro! Indicador não definido.**

4.7. O receptor P2RX7 promove a residência de células T CD4$^+$ efetoras controlando a expressão de CXCR3 e a proliferação celular na tuberculose grave ..... **Erro! Indicador não definido.**

Capítulo 2 ..... **Erro! Indicador não definido.**

Papel do receptor P2RX7 em células T CD4$^+$ na infecção pelo vírus Influenza ..... **Erro! Indicador não definido.**

4.8. O P2RX7 intrínseco das células T é crucial para a inflamação pulmonar e o estabelecimento de células T CD4$^+$ residentes na infecção pelo vírus Influenza ..... **Erro! Indicador não definido.**

4.9. A sinalização via P2RX7 em células T CD4$^+$ residentes leva ao aumento da expressão de genes relacionados à migração e proliferação celular durante a infecção pelo vírus Influenza ..... **Erro! Indicador não definido.**

4.10. A liberação parácrina de eATP através dos canais panexina 1 regula a entrada de células T CD4$^+$ no parênquima pulmonarErro! Indicador não definido.

5 Discussão ..... **Erro! Indicador não definido.**

6 Conclusão ..... **Erro! Indicador não definido.**

REFERÊNCIAS..... 55

APÊNDICE A - Estratégia de gates utilizadas para a análise de células T CD4$^+$ parenquimatosas e intravasculares. ..... **Erro! Indicador não definido.**

APÊNDICE B – Figura suplementar do tópico 1. ..... **Erro! Indicador não definido.**

APÊNDICE C - P2X7 Receptor Signaling Blockade Reduces Lung Inflammation and Necrosis During Severe Experimental Tuberculosis. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, 2021. ..... **Erro! Indicador não definido.**

APÊNDICE D - Harmful Effects of Granulocytic Myeloid-Derived Suppressor Cells on Tuberculosis Caused by Hypervirulent Mycobacteria. **The Journal of Infectious Diseases,** 2021. 129

APÊNDICE E - Antitubercular and immunomodulatory activities of Eugenia astringens n-hexane fraction. **Phytomedicine Plus,** 2022. 143

1 Introdução

1.1. Imunologia pulmonar

Os pulmões são órgãos vitais cônicos localizados na cavidade torácica e têm a função de extrair oxigênio do ar, transferi-lo para corrente sanguínea e eliminar dióxido de carbono para a atmosfera (TORTORA, 2018). Os pulmões evoluíram para a forma atual encontrada em mamíferos a partir de sacos aéreos descritos em fósseis de peixes marinhos do gênero Bothriolepis (LIEM, 1988). Para manter a homeostase, os pulmões precisam interagir com outros sistemas do corpo humano, como Sistema Imune (SI), por exemplo. Esta necessidade se torna mais clara quando pensamos que o contato direto com o ar torna o órgão mais exposto a toxinas, alérgenos e até mesmo patógenos que são inalados durante a respiração (KUMAR, 2020).

O contato com diferentes tipos de antígenos faz com que os pulmões tenham uma assinatura imunológica específica e independente de uma resposta imune sistêmica (LIPSCOMB et al., 1995; KUMAR, 2020). Muitos pesquisadores vêm estudando a resposta imune nos pulmões, criando um grande campo de discussão que pode ser denominado como imunologia pulmonar. Antigos estudos em coelhos demonstraram que o inóculo intranasal (i.n.) de pneumocócico foi capaz de gerar proteção contra reinfecções sem gerar uma resposta imunológica sistêmica (BULL et al., 1929). Ainda nesta linha, há algumas décadas os cientistas Askonas e Humphrey demonstraram que após a imunização sistêmica com antígenos de pneumocócico os anticorpos de maior especificidade eram gerados somente nos pulmões (ASKONAS & HUMPHREY, 1958).

Quando se estuda a divisão imunológica do tecido pulmonar saudável é possível entender como a imunidade local citada anteriormente é gerada. A presença do SI no pulmão pode ser dividida de acordo com a localização das células imunes no tecido (MCDERMOTT et al., 1982). Na parte superior dos pulmões encontra-se a mucosa onde os anticorpos do tipo IgA são predominantes, também se observa glândulas e vias aéreas periféricas. As vias aéreas periféricas não possuem tecido mucoso e a classe de anticorpos produzidos predominante é IgG. Esta região está em contato direto com as células broncoalveolares que são majoritariamente macrófagos (90%) e uma pequena quantidade de linfócitos (10%) (MCDERMOTT et al., 1982). O epitélio pulmonar é muito importante como primeira linha de defesa, gerando uma barreira física que protege o pulmão da entrada de antígenos que podem ser nocivos

ao tecido (Kumar, 2020). Além disso, o tecido epitelial pulmonar é um importante compartimento para a acomodação de células imunes como linfócitos epiteliais (BIENENSTOCK et al., 1973). No interior da parede dos brônquios estão as células linfoides respiratórias que formam pequenos agregados celulares que se assemelham as placas de peyer (BIENENSTOCK et al., 1973b) (**Figura 1**).

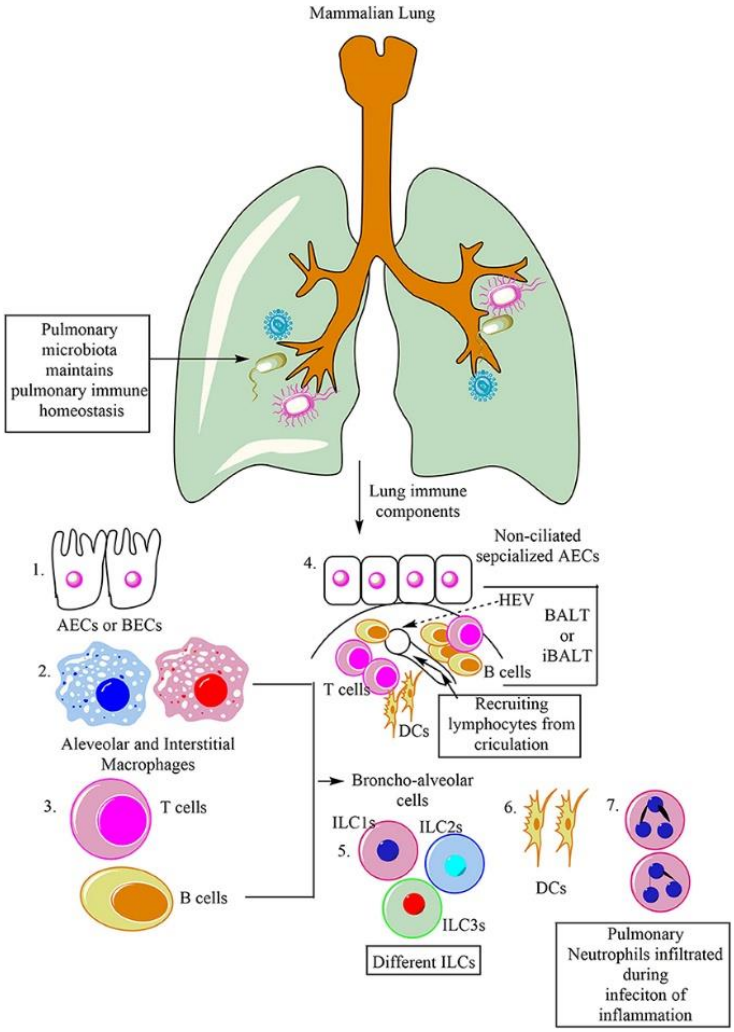

Figura 1: Principais células imunes no pulmão de mamíferos.
Fonte: Kumar et al., 2020.

O conjunto de células e estruturas citadas acima juntas formam o tecido linfoide associado aos brônquios (BALT) (RICHMOND et al., 1993; BIENENSTOCK, 1982). O BALT é encontrado no pulmão saudável de crianças e adolescentes, desaparecendo na vida adulta e retornando somente em caso de doenças inflamatórias crônicas (KIMURA et al., 2019). Os principais componentes celulares do BALT são as células B produtoras de IgA. Zonas de células T também são encontradas e há interação com células dendríticas também localizadas nesta região. No BALT também há presença

de vênulas de endotélio alto (HEVs) que contribui para o transporte de linfócitos entre circulação e tecido (MCDERMOTT et al., 1982; SATO, 2000). Os linfócitos também chegam pelos vasos sanguíneos de forma regulada e patrulham o tecido (BIENENSTOCK, 1984).

Até aqui é possível compreender que os pulmões possuem um tecido imunológico associado que é responsável por proteger e manter sua homeostase (BIENENSTOCK, 1984; KUMAR, 2020). Sendo assim, o tecido pulmonar pode ser considerado um sítio imunoregulado, onde há células imunes programadas para responderem naquele local de acordo com as especificidades do tecido (MEDZHITOV et al., 2012). O pulmão não é um órgão que permite respostas imunes agressivas. Um exemplo disso é que as células imunes que residem no tecido saudável possuem um perfil regulador e reparador. Os macrófagos alveolares, por exemplo, não são bons apresentadores de antígenos e não podem ser ativados como macrófagos convencionais, sendo responsáveis apenas pela limpeza do tecido (MIYATA & EEDEN, 2011). Da mesma forma, os linfócitos T localizados no tecido possuem perfil Th2 caracterizados pela produção de IL-4 (MEYER, 2001). Além disso, a circulação de células provenientes da circulação no pulmão é regulada para que não haja excesso de células infiltradas e atrapalhe a fisiologia respiratória (SAKAI et al., 2014). Esta estratégia do pulmão é possivelmente um mecanismo de defesa para proteção contra danos graves, uma vez que o pulmão não possui alta capacidade regenerativa.

A magnitude da imunopatologia causada por doenças infecciosas é consequência da intensidade e duração da resposta imune (MEDZHITOV et al., 2012). A intensidade da resposta imune também é determinada pela sensibilidade do tecido ao dano e sua capacidade regenerativa. O pulmão é um órgão vital de baixa tolerância ao dano (**Figura 2**). Este órgão possui uma linha tênue entre uma resposta imune efetiva e a geração de dano (RAVIMOHAN et al., 2018). Uma resposta desregulada das células imunes no pulmão pode causar danos teciduais graves e comprometer a fisiologia respiratória. Isso é o que acontece em processos inflamatórios graves causados por infecções pulmonares como tuberculose, COVID-19 e infecção pelo vírus Influenza, por exemplo (RAVIMOHAN et al., 2018, AMARAL et al., 2014; KLOMP et al., 2021; VON DER THÜSEN & VAN DER EERDEN, 2020).

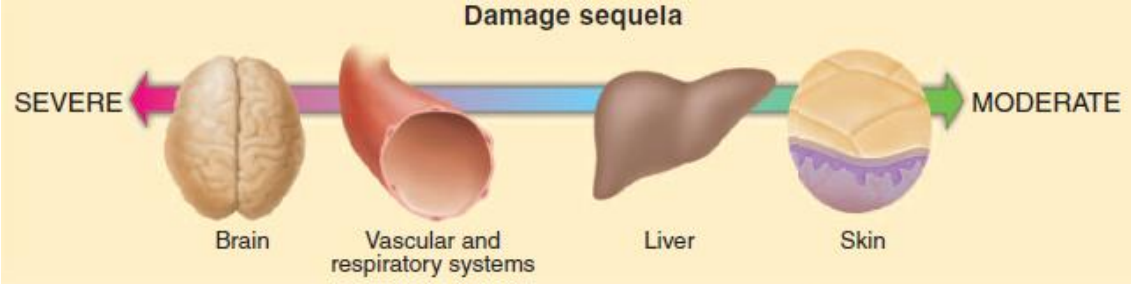

Figura 2: Grau de tolerância dos órgãos ao dano.
Fonte: Medzhitov et al., 2012.

1.2. A tuberculose

A tuberculose, embora seja uma doença curável, continua sendo uma das principais causas de morbilidade e mortalidade a nível mundial (WHO, 2021). Ela é causada principalmente por um dos patógenos mais prevalentes no mundo, o *Mycobacterium tuberculosis* (*Mtb*), um microrganismo que apesar de infectar outros órgãos, possui tropismo pelos pulmões. Isso faz deste órgão o principal alvo para infecção pelo *Mtb* (NUNN et al., 2005). Estudos históricos demonstraram que *Mtb* tem infectado humanos desde a antiguidade. Pesquisas realizadas em múmias egípcias revelaram a presença de sinais patológicos da tuberculose na coluna espinhal de algumas delas. Contudo, somente em 1882 o médico alemão, Robert Koch, identificou que a tuberculose era causada pelo bacilo (PIANTA & CAMPOS, 2001).

Mtb assim como todas as micobacterias, pertencem à ordem Actinomycetes, a família Mycobacteriaceae e ao gênero *Mycobacterium*. O gênero é composto por muitas micobactérias patogênicas, de elevada importância clínica. Muitos destes patógenos são capazes de causar doenças graves em humanos saudáveis, como a tuberculose *(M. tuberculosis)* e a hanseníase (*M. Leprae*), enquanto outras espécies são oportunistas desencadeando a doença em humanos imunodeficientes, como o *M. kansasii* (DAI et al., 2011). A parede celular micobacteriana possui uma membrana externa que se assemelha à parede celular de bactérias gram-positivas. Apesar desta semelhança, não possuem peptideoglicanos, tais como N-acetimurâmico, mas o N-glicolilmurâmico. Sessenta por cento da parede celular micobacteriana é formada por ácidos graxos de cadeia longa, principalmente os ácidos micólicos, que por ligação covalente se associam aos polissacarídeos da parede celular, o que dificulta a entrada de nutrientes embora aumente a resistência celular a degradação enzimática. As micobactérias possuem em sua membrana celular proteínas chamadas de porinas que formam canais catiônicos para o controle da difusão de moléculas hidrofílicas.

Estas características da parede celular micobacteriana possibilita a sobrevivência e colonização do micro-organismo no interior de macrófagos, células do sistema imunológico especializadas na fagocitose e na eliminação de agentes patogênicos. A fase intracelular acarreta em proteção e maior resistência micobacteriana a substâncias antimicrobianas (TRABULSI & RACHILD*, et al*., 2008).

Na maioria dos casos de tuberculose pulmonar, os pacientes apresentam sintomas como tosse por mais de duas ou três semanas, falta de apetite, perda de peso, suores noturnos e febre (NUNN et al., 2005). Esta doença mostrou-se progressivamente incidente nos últimos anos, tornando-se um problema de escala mundial (WHO, 2020; WHO, 2019; WHO, 2018). Diante deste cenário, um número estimado de 7 milhões de pessoas adoeceram com tuberculose em 2018, sendo deste total, 2 milhões de casos em coinfecção ao HIV e 1 milhão de casos multidroga-resistentes (MDR-TB) (WHO, 2019). Em 2019, 7.1 milhões de casos de tuberculose foram registrados e o número estimado de casos fatais decorrentes da infecção pelo *Mtb* atingiu 1,4 milhão em todo o mundo, tornando a tuberculose uma das dez principais causas de morte no mundo (WHO, 2020). Em decorrência da pandemia de COVID-19, em 2020 houve uma grande queda na incidência de tuberculose a nível mundial, sendo registrados 5.8 milhões de casos (**Figura 3**) (WHO, 2021).

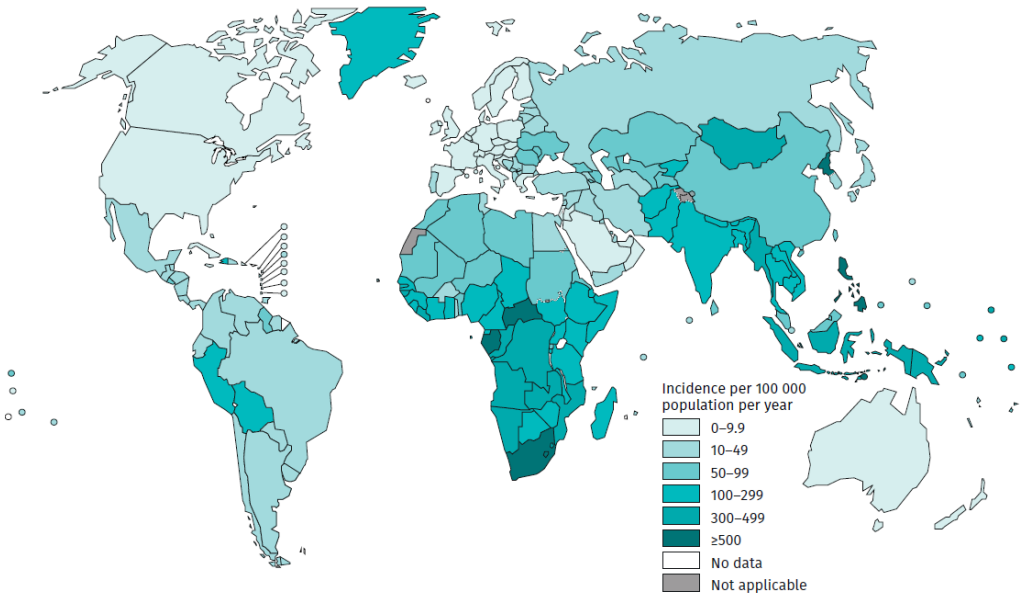

Figura 3: Incidência mundial da tuberculose em 2020.
Fonte: WHO, 2021.

O tratamento padrão para tuberculose está bem estabelecida pela OMS (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE), sendo composto pelos fármacos rifampicina, estreptomicina, isoniazida, pirazinamida e etambutol (ZHANG et al., 2006). Em cerca de 95% dos casos de tuberculose desenvolvida pela primeira vez não se observa resistência aos fármacos do tratamento padrão, com uma taxa de sucesso de 86% (WHO, 2015). O tratamento é realizado no período de 6 meses a 1 ano dependendo do quadro, resposta clínica do paciente e adequação ao tratamento (WHO,2020). O longo período de tratamento é um dos maiores motivos para a má adesão à terapia, abandono da terapia e consequente surgimento de novos casos de Tuberculose Multidroga Resistente (MDR-TB). Em casos de resistência aos medicamentos de primeira linha, adota-se o tratamento com os fármacos de segunda linha e terceira linha, os quais geralmente são injetáveis. Estes possuem um alto custo e muitos efeitos adversos, além da baixa efetividade nos pacientes com HIV (JANIN, 2007).

Alguns fatores determinam a incidência, curso da infecção e a severidade da tuberculose, sendo eles: o aparecimento de novas cepas resistentes à medicamentos disponíveis no mercado, o aumento dos casos de coinfecção com o HIV, desnutrição, tabagismo, alcoolismo, diabetes, poluição, baixa condição socioeconômica e a virulência da cepa infectante (KOUL et al., 2011 e KUMAR et al., 2011). Cepas hipervirulentas provocam uma inflamação grave, associada a alta carga bacilar e elevado nível de áreas de dano e necrose pulmonar (RIBEIRO et al., 2014; AMARAL et al., 2014).

1.3. Resposta imune na tuberculose

Durante a infecção micobacteriana, os pulmões entram em contato com o microrganismo após a inalação de aerossol contendo *Mtb* provenientes de um indivíduo infectado. O aerossol inalado passa pelo trato respiratório superior e atinge os pulmões onde os bacilos são fagocitadas por macrófagos e células dendríticas (DCs) alveolares (DHEDA et al., 2010; ORME, 2011; OGARRA et al., 2013).

Após a infecção, o bacilo pode ser eliminado, manter-se em latência ou desencadear uma infecção produtiva (**Figura 4**) (NUNES-ALVES et al., 2014). O indivíduo infectado por *Mtb* em estágio latente pode desenvolver a fase ativa da doença quando há ocorrência de uma supressão de sua vigilância imunológica, o que

explica o aumento do número de casos de tuberculose em pacientes com HIV (VAN CREVEL et al., 2002). Embora, a resposta imune inata na tuberculose tenha baixo efeito antibacteriano inicial no combate ao patógeno, ela possui um importante papel na geração de um ambiente adequado para o início da resposta imune adaptativa.

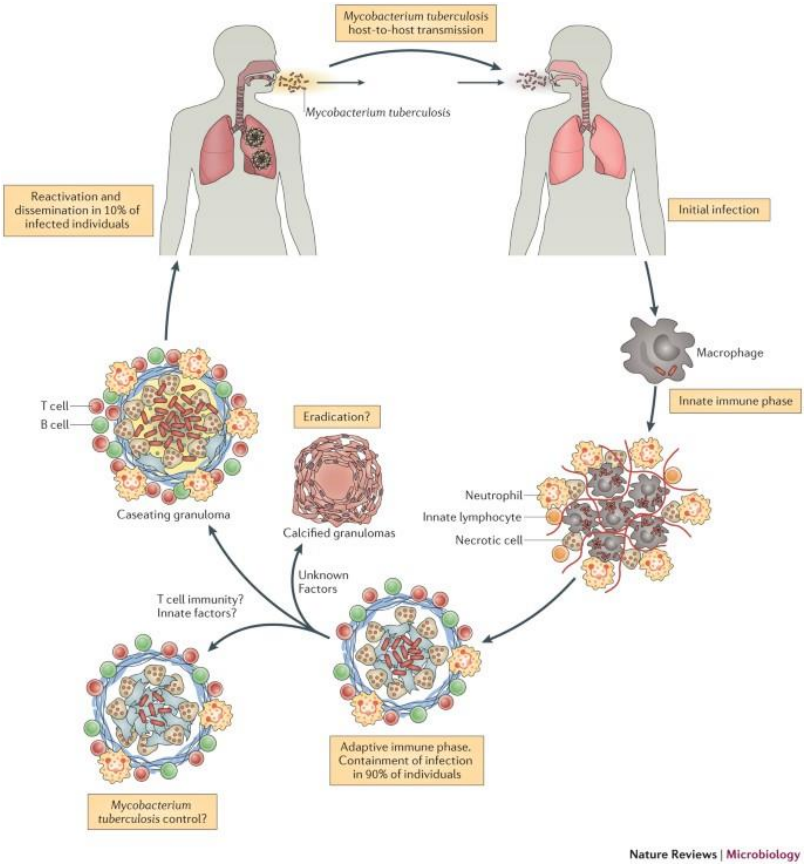

Figura 4: Patogênese da tuberculose.
Fonte: Nunes-Alves et al., 2014.

O reconhecimento do bacilo pelos macrófagos e DCs envolve uma cascata de sinalização via interação de moléculas presentes nas micobactérias e receptores de reconhecimento de padrões (PRRs) presentes na superfície dos fagócitos (TLR-2, CD14, receptor de manose, receptores *scanvenger* e receptores do complemento: CR1, CR2 e CR4). Tal reconhecimento induz reorganização do citoesqueleto do fagócito, processo envolvido na ativação da fagocitose do bacilo (LASUNSKAIA et al., 2006). Após serem fagocitadas, as micobactérias podem persistir no organismo se utilizando de mecanismos de evasão, tais como a modificação da composição do fagossoma e inibindo a fusão do fagossoma com o lisossoma (CLEMENS, 1996; GLICKMAN et al., 2001; PIETERS, 2001; JAYACHANDRAN et al., 2007).

A ativação dos macrófagos e DCs induz produção de mediadores pró-inflamatórios como as interleucinas IL-1, IL-6, IL-12 e IL-8, TNF-α, GM-CSF, RANTES e espécies reativas de oxigênio e nitrogênio que ativam células endoteliais dos capilares sanguíneos adjacentes a expressarem moléculas de adesão, possibilitando o recrutamento e a diapedese de outras células inflamatórias como monócitos, DCs e neutrófilos para o local da infecção (ORME, 1987; FLYNN et al., 1992; ORME et al., 1992; ORME et al., 1993; KAUFMANN, 2001).

Apesar de a resposta adaptativa ser mais eficiente no controle da infecção pelo *Mtb*, alguns fatores do bacilo como genética, virulência, dentre outros, podem atrasar a resposta. Por exemplo, algumas cepas podem inibir ou retardar a migração das DCs infectadas aos linfonodos, onde ocorre a apresentação de antígeno para os linfócitos T, a fim de iniciar a resposta imune adaptativa (ERNST, 2012; OTTENHOFF & KAUFMANN, 2012).

A resposta imunológica mediada por células é predominante em infecções micobacterianas. As células T ativadas iniciam a produção de IFN-γ, acelerando a infiltração celular no local da lesão e ativando ainda mais os macrófagos na resposta contra os bacilos. A presença de células T $CD4^+$ Th1 e a produção de IFN-γ e TNF-α conduzem ao desenvolvimento e organização do granuloma, estrutura característica da resposta imunológica na tuberculose, que contribui para a contenção do crescimento micobacteriano (NUNES-ALVES et al., 2014).

A estrutura do granuloma é basicamente composta de macrófagos infectados, macrófagos epitelióides, *foam cell* (macrófagos espumosos que acumulam lipídeos) e neutrófilos no interior da estrutura, assim como linfócitos, na periferia. (SAUNDERS et al., 1999; COOPER, 2009).

Além dos macrófagos e linfócitos T $CD4^+$ Th1, outras células envolvidas na resposta imune nos casos de TB vêm sendo estudadas. As células T $CD8^+$, por exemplo, interagem com os fagócitos, que podem apresentar produtos micobacterianos, secretados no citosol celular via sistema ESX-1 micobacteriano, através da apresentação cruzada. Uma vez ativadas, as células $TCD8^+$ contribuem para a amplificação da resposta dos macrófagos através da produção de IFN-γ e induzindo a morte das células infectadas via indução de FAS, FASL ou perforinas e granzimas (**Figura 5**) (NUNES-ALVES et al., 2014; CANADAY et al., 2001; FERRAZ et al., 2006). As células T $CD4^+$ Th17 também participam da resposta imune contra micobactérias através da secreção das quimiocinas e IL-17, auxiliando no

recrutamento de neutrófilos para o local da infecção e contribuindo para a formação do granuloma (KHADER & COOPER, 2008).

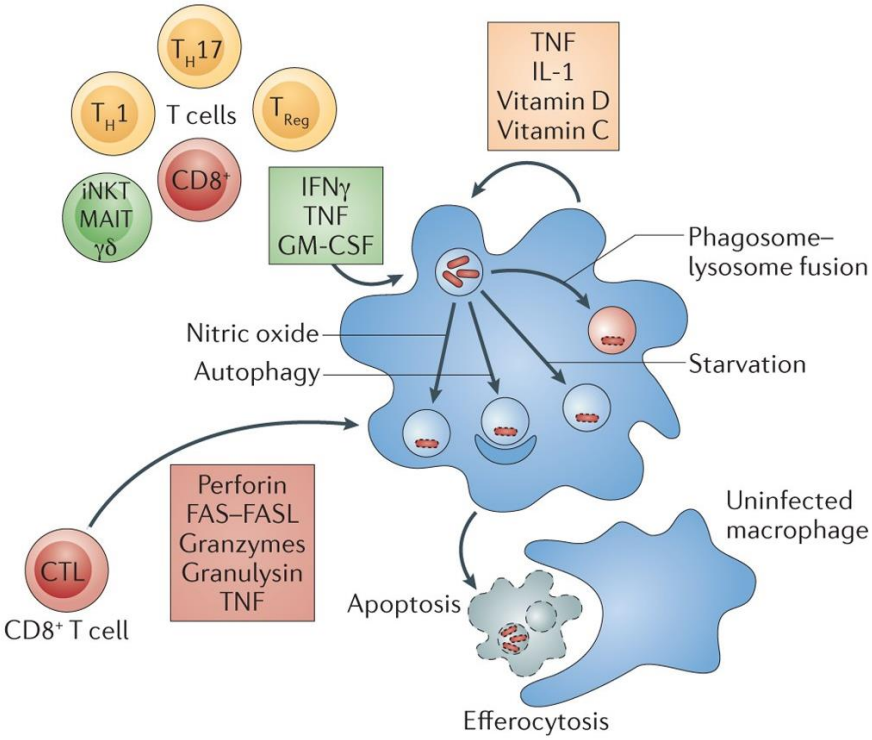

Figura 5: Resposta imune celular contra o *Mtb*.
Fonte: Nunes-Alves et al., 2014.

A proliferação micobacteriana descontrolada no interior dos macrófagos e a secreção de antígenos micobacterianos, como ESAT-6 em altas concentrações, conduzem estas células à morte por necrose e a liberação dos bacilos, podendo infectar novas células permissíveis e iniciar um novo ciclo de replicação (PARK et al., 2005). Além da disseminação do *Mtb,* a liberação de material intracelular proveniente da necrose celular, como os DAMPs (Padrões Moleculares Associados a Patógenos) ou alarminas, quando reconhecidos pelos macrófagos no local da lesão impulsionam a ativação de uma cascata de sinalização, induzindo a formação de inflamassomas, produção de citocinas inflamatórias e morte celular (DI VIRGILIO et al., 2001). A resposta imunológica gerada após o reconhecimento dos DAMPs pode exacerbar a resposta inflamatória pulmonar e agrava o quadro patológico do paciente infectado (AMARAL et al., 2014; BOMFIM et al., 2017). A respeito dos DAMPs, existe uma extensa lista de estas moléculas, incluindo citocinas (IL-1α, IL-1β e IL-18), proteínas de choque térmico, defensinas, anexinas e galectinas. A adenosina trifosfato

extracelular (eATP) também é uma alarmina, a qual é reconhecida por receptores purinérgicos do tipo P2: P2RX e P2RY (BIANCHI, 2007; LOTZE et al. 2007; SATO et al., 2009; BURNSTOCK et al., 2010; COUTINHO-SILVA & Ojcius, 2012).

Os neutrófilos anteriormente subestimados na resposta imune da tuberculose têm sido associados a geração de dano tecidual em pacientes com quadro severo de infecção por *Mtb.* Ao se acumularem no local de infecção, aumentam a produção de fatores microbicidas como, por exemplo, o oxigênio reativo, as mieloperoxidases e as metaloproteinases (MMPs), que quando produzidos de forma descontrolada são citotóxicos, ocasionando a morte das células ao redor, propiciando a liberação de maior quantidade de fatores relacionados ao dano culminando no extenso dano tecidual nos pulmões dos pacientes (TORRADO et al., 2011; ORME, 2014; ALMEIDA et al., 2017; BOMFIM et al., 2021).

Manifestações graves da tuberculose pulmonar podem estar acompanhadas da formação de cavidades no pulmão. A formação de tais cavidades é promovida pelo contato do crescente granuloma necrótico em lesões primárias com espaços aéreos não danificados, o que possibilita o esvaziamento dos centros necróticos (cáseos). Contudo, o aparecimento das cavidades está fortemente associado a uma resposta inflamatória exacerbada. Esta é descrita como pneumonia tuberculosa lipídica, envolvendo o encontro de macrófagos espumosos com o bacilo inalado ou provenientes de sítios infectados no interior dos alvéolos pulmonares. Isso conduz uma rápida e forte resposta necrótica com grande produção de mediadores inflamatórios, como MMP-1 ou outras colagenases responsáveis pela clivagem de colágeno e a formação da cavidade (HUNTER et al., 2011; DARTOIS, 2014 e ORME, 2014).

Sob este prisma, apesar resposta imune contra o bacilo ser essencial para a defesa do paciente, em casos graves, o estado inflamatório exacerbado aumenta de forma descontrolada o recrutamento de novas células imunes para o local de infecção e consequente produção aumentada de mediadores inflamatórios. A resposta inflamatória exacerbada causada por células T $CD4^+$ Th1, por exemplo, torna-se uma das maiores causas de dano tecidual. Desta forma, é necessário encontrar o limiar entre uma resposta de células T $CD4^+$ que seja eficiente no controle micobacteriano sem causar danos ao pulmão.

1.4. Resposta de células T CD4$^+$ na tuberculose

As células T CD4$^+$ participam da resposta imune de muitas doenças pulmonares, incluindo a tuberculose (BROWN et al., 2004; MCDERMOTT e KLEIN, 2018; SAKAI et al., 2014; SWADLING & MAINI, 2020). Nestas infecções, o acúmulo de subconjuntos distintos de células T CD4$^+$ pode mediar a proteção ou o agravamento da doença.

Classicamente, sabe-se que a resposta de células T CD4$^+$ é essencial para o controle da replicação micobacteriana (MOGUES et al., 2001). Este fato é claramente demonstrado na infecção de camundongos *knockout* de CD4$^+$ e de MHC (Complexo Principal de Histocompatibilidade) de classe II, que morrem rapidamente após a infecção comparados a camundongos *Wild type* (WT) (CARUSO et al., 1999). O comprometimento no controle bacilar, também foi demonstrado em modelos utilizando macacos, onde as células T CD4$^+$ foram depletadas com anticorpos. Nestes animais, não apenas o controle do bacilo foi comprometido, mas também levou a reativação da tuberculose latente (LIN et al., 2012).

O início da resposta de células T CD4$^+$ na tuberculose define o curso e o resultado da infecção (SIA et al., 2019). Em camundongos, a resposta de células T CD4$^+$ específicas para antígenos micobacterianos é detectada somente duas semanas após a infecção nos linfonodos de drenagem pulmonar. Já no pulmão, só é identificada uma resposta realmente significativa após três semanas de infecção. Esta resposta atrasada de células T CD4$^+$ é um contraste com outras infecções bacterianas (FLYNN et al., 1995). Este atraso pode ser atribuído a diversos fatores, como: lento crescimento micobacteriano, atraso da migração de DCs, dentre outros (SIA et al., 2019). Juntos, estes fatores permitem o estabelecimento da infecção no pulmão.

A qualidade da resposta de células T CD4$^+$ contra micobactérias é relacionada primordialmente com a produção de IFN-γ e IL-12, citocinas produzidas pelo perfil de células T CD4$^+$ Th1 (OTTENHOFF et al., 1998). Camundongos deficientes de IFN-γ não são capazes de controlar a infecção pela cepa *Mtb* H37Rv e sucumbem, assim como os camundongos deficientes de IL-12 (FLYNN, 1993; COOPER, 1993). A ausência destas citocinas leva a um estado grave e consequente progressão da tuberculose pelo fato destes estarem envolvidos na indução de outros mediadores inflamatórios como óxido nítrico (NO) e citocinas que irão contribuir para o aumento do *killing* dos macrófagos infectados e morte dos bacilos (XIE et al., 1994).

A localização das células T CD4$^+$ específicas é determinante para a eficiência da resposta mediada por estas células (**Figura 6**). Esse contexto se dá pela necessidade de interação com macrófagos infectados (GAUTAM et al., 2017; MEHRA et al., 2012). Novos estudos têm descrito duas diferentes populações de células T CD4$^+$ presentes na vasculatura e parênquima pulmonar. Mais especificamente, as células T CD4$^+$ efetoras *Mtb* específicas podem permanecer na circulação e povoar as regiões intravasculares pulmonares ou infiltrar o parênquima pulmonar, estabelecendo residência (ANDERSON et al., 2014). A base molecular intrínseca que determina a localização destas células tem sido objeto de muitos estudos recentes, mostrando, por exemplo, a importância da expressão diferencial do receptor de quimiocina entre esses dois subconjuntos celulares. Em resposta à cepa de baixa virulência *Mtb* H37Rv, as células T CD4$^+$ que expressam o receptor de fractalcina CX3CR1 tendem a permanecer na vasculatura e produzem altos níveis de IFN-γ, enquanto as células que expressam o receptor de quimiocina CXC Motif 3 (CXCR3) tendem a estabelecer residência no parênquima e são mais eficazes na contenção da infecção, apesar da menor produção de IFN-γ por célula (SALIN 2017, SAKAI et al., 2014). O nível de expressão de moléculas como CD69, KLRG1 e PD-1 também foi descrito como importante para o estabelecimento de células T CD4$^+$ na vasculatura e parênquima pulmonar. Apesar disso, foram os receptores de quimiocina o ponto chave para definir o destino destas células durante a infecção cepa *Mtb* H37Rv (HOFT et al., 2019).

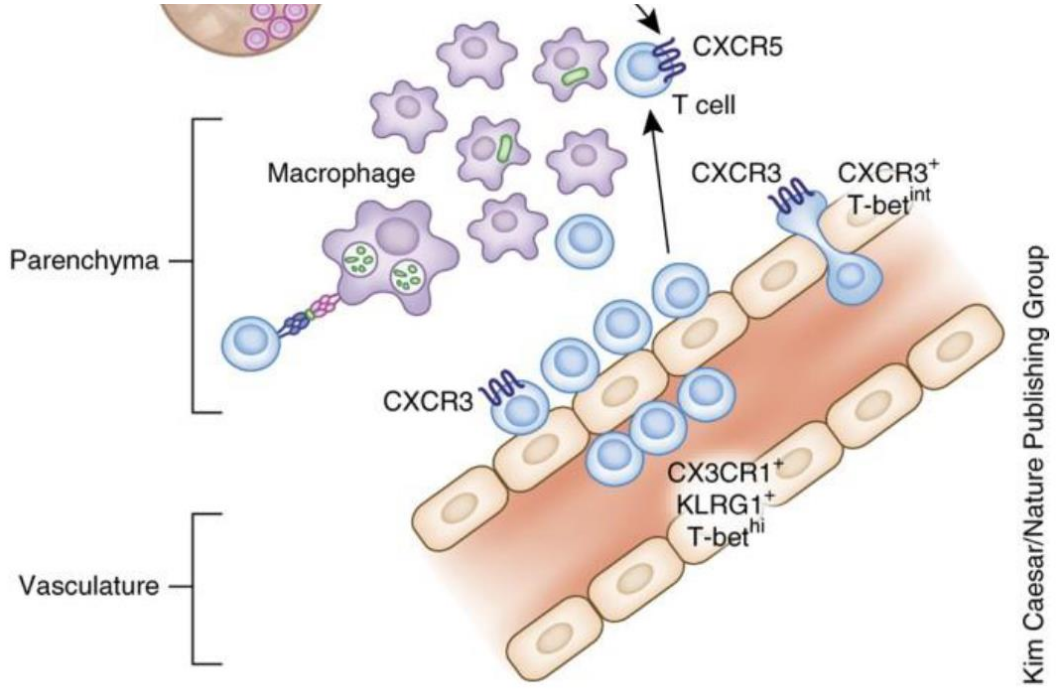

Figura 6: Localização e resposta de células T CD4⁺ no pulmão com tuberculose.
Fonte: Orme et al., 2014.

O equilíbrio entre as respostas imunes protetoras promovidas pelas células T CD4⁺ que são por definição pleiotrópica e seus efeitos não intencionais no parênquima pulmonar define se as células T CD4⁺ residentes no pulmão serão protetoras ou prejudiciais para o tecido. (BARBER, 2017). Danos pulmonares causados por inflamação exacerbada na tuberculose levam à liberação de sinais de danos ou alarminas. Um dos DAMPs mais abundantes liberados durante processos de dano tecidual e morte celular é o eATP (Adenosina Trifosfato Extracelular) (IDZKO et al., 2007). Altos níveis de eATP são reconhecidos principalmente pelo receptor purinérgico P2RX7 (BRANDÃO-BURCH et al., 2012). As células T CD4⁺ são uma das células imunes que expressam maiores níveis de P2RX7, sendo capazes de reconhecer o eATP (SALLES et al., 2017). O receptor P2RX7 é frequentemente associado à geração e manutenção de células T de memória residentes (TRMs) (BORGES DA SILVA et al., 2018, BORGES DA SILVA et al., 2020). Apesar disso, não está claro como o reconhecimento do eATP influencia na residência de células T CD4⁺ e quais os efeitos desse processo.

De fato, as células T CD4⁺ não são dispensáveis no controle micobacteriano na tuberculose, determinando todo o curso da infecção. No entanto, como mencionada anteriormente, a resposta imune relacionadas as células T CD4⁺ também pode se

tornar maligna, promovendo uma inflamação excessiva ou tornarem-se ineficazes devido à exposição crônica ao antígeno.

1.5. A gripe sazonal causada pelo vírus Influenza

Historicamente, a gripe é uma doença causada pelo vírus Influenza que causa epidemias todos os anos no mundo inteiro (**Figura 7**) (POTTER, 2021). A gripe é transmitida por vias aéreas através da respiração, fala, tosse e espirro que geram aerossóis (KALIL & THOMAS et al., 2019). Os sintomas desta doença podem ser leves ou graves, iniciando-se 4 dias após o contato com o vírus. Sintomas como febre, coriza, dor de garganta, dores musculares, dor de cabeça, tosse e fadiga são observados (DHARMAPALAN, 2020). Em períodos de epidemias sazonais, é estimado que cerca de 80% das pessoas saudáveis que apresentam tosse ou dor de garganta estejam infectadas pelo vírus Influenza (KRAMMER et al., 2018).

Aproximadamente 5 milhões de casos clínicos de infecção pelo vírus Influenza e 250 mil – 500 mil mortes são notificadas anualmente no mundo inteiro (THOMPSON et al., 2003). Os Estados Unidos e Brasil ainda estão entre os países com maior incidência de gripe. Foram notificados aproximadamente 3,7 milhões de casos de gripe entre outubro de 2021 e fevereiro de 2022 nos Estados Unidos. Dentre estes casos, houve aproximadamente 44 mil hospitalizações e 3 mil mortes por pneumonia associada à infecção pelo vírus influenza (CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 2022). O Brasil registrou 5,8 mil casos e 1,1 mil mortes por influenza em 2019. Em 2020, o número de casos sofreu uma queda, sendo estimado em 1,5 mil infectados e 209 mortos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2020). Estes ainda são números altos para uma doença que possui vacina no calendário de vacinação anual.

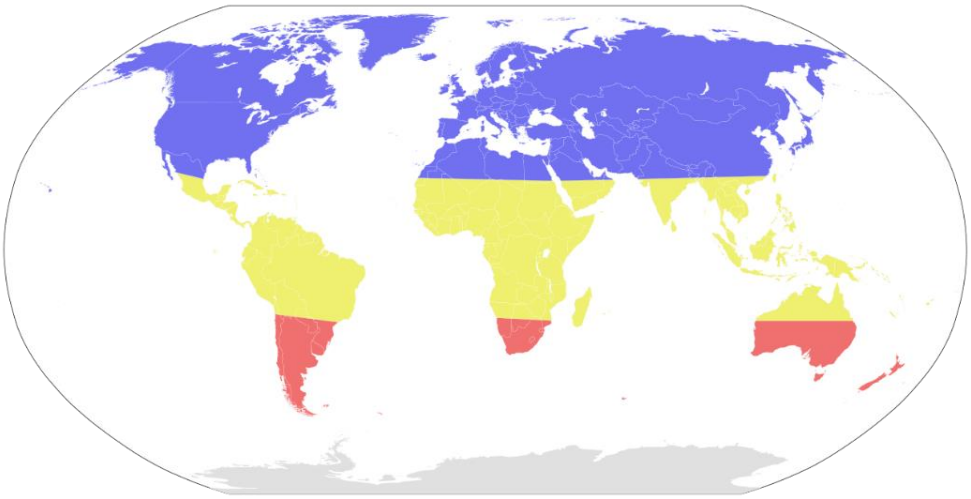

Figura 7: Áreas sazonais de risco para influenza: novembro-abril (azul), abril-novembro (vermelho) e durante todo o ano (amarelo).
Fonte: Ninjatacoshell, 2011.

O vírus Influenza foi isolado em laboratório pela primeira vez em 1932 (POTTER, 2021). O genoma do vírus influenza é composto por RNA de fita simples (ssRNA) segmentado de sentido negativo, que pode sintetizar RNA mensageiro (mRNA) (DHARMAPALAN, 2020). As partículas virais que são chamadas de virions são pleomórficas (isolados clínicos), variando entre as formas filamentosas, baciliforme ou esférica (cepas laboratoriais) (DADONAITE et al., 2016).

Quatro espécies do vírus influenza foram descritas até o momento, todos pertencem a família Orthomyxoviridae: Influenza vírus A (IAV), Influenza vírus B (IBV), Influenza vírus C (ICV) e Influenza vírus D (IAV) (KRAMMER et al., 2018). A maior parte dos casos graves de gripe, epidemias sazonais e pandemias está relacionada ao IAV. Esta espécie é capaz de infectar todos os tipos de pessoas, mas tende a ser uma ameaça à vida de crianças, idosos e doentes crônicos. As aves aquáticas são o maior reservatório de IAV, mas o vírus também é encontrado em mamíferos terrestres e marinhos (LI et al., 2019; JOSEPH et al., 2017). Existem subtipos de IAV que são classificados de acordo com as proteínas virais hemaglutinina (H) e neuraminidase (N) (ASHA, 2019). Até hoje foram identificados 18 subtipos H e 11 N. Em humanos, apenas os subtipos H1-3 e N1-2 foram identificados. Atualmente, os subtipos de IAV em circulação são H1N1 e H3N2 (SAUTTO & KIRCHENBAUM, 2018).

As espécies IBV e ICV também são capazes de infectar humanos e animais, mas o ICV afeta principalmente crianças de forma assintomática e com sintomas leves (KRAMMER et al., 2018; GHEBREHEWET et al., 2016). Já o IDV é principalmente encontrado em suínos e bovinos, mas ainda não existem casos que comprovem que

este vírus cause doença em humanos (ASHA, 2019). Dentre as quatro espécies, os estudos que buscam fármacos antivirais e vacinas focam principalmente nos tipos IAV e IAB (ASHA, 2019).

Existem 3 principais formas de prevenção da gripe causada pelo vírus Influenza: vacinação, quimioprofilaxia antiviral e controle de infecção. Dentre estas medidas, a vacinação é a forma primária de proteção contra possíveis agravamentos da gripe (KRAMMER et al., 2018; DHARMAPALAN, 2020). As vacinas contra o vírus influenza são trivalentes ou quadrivalentes e podem ser compostas de vírus inativado ou atenuado. As vacinas da gripe conferem de 50 a 60% de proteção contra as cepas H1N1, H3N2 da espécie IAV e mais duas cepas de IBV (SAUTTO et al., 2018). Estes dados indicam a necessidade de estudos que busquem melhorar a resposta imune conferida pelas vacinas para que ocorra o aumento da imunidade contra cepas do vírus Influenza.

1.6. Resposta imune na infecção pelo vírus Influenza

Diferente do que é observado na tuberculose, a resposta imune contra o vírus influenza inicia-se de forma robusta no trato respiratório superior. Durante esta infecção, a resposta pro-inflamatória gerada pela imunidade inata serve como a primeira linha de defesa do hospedeiro. Na fase tardia da infecção, a imunidade adaptativa é crucial para conter a replicação viral e mediar a proteção contra reinfecções (WEI et al., 2014; CHEN et al., 2018).

Após a inalação, o vírus entra em contato incialmente com as células epiteliais das vias aéreas superiores do hospedeiro. As células epiteliais respiratórias expressam constitutivamente em sua superfície glicoproteínas (MUC5AC, MUC5B e MIC1) que são ricas em ácido siálico (AS) (ROY et al al., 2014; EHRE et al., 2012; MCAULEY et al., 2017). As proteínas virais H ligam-se ao SA e a outros receptores celulares, estabilizando o vírus na membrana celular (XU et al., 2010). A ligação do vírus Influenza na superfície celular induz endocitose dependente das proteínas claterina e clavolina (FONTANA et al., 2012). Após a endocitose, a liberação das partículas virais acontece de forma dependente da queda do pH endossomal que induz a abertura do canal de prótons M2, desencadeando a liberação do RNA viral (LAMB et al., 1996). O RNA viral migra para o núcleo da célula e interage com Importina-α/β, iniciando a replicação (SUN et al., 2013).

Os PRRs da imunidade inata fazem o reconhecimento inicial do vírus Influenza. Eles atuam no reconhecimento de padrões moleculares associados a patógenos e inicia a ativação da imunidade inata (CAO et al., 2016; OUYANG et al., 2014). Dentre os PRRs, o gene I induzível por ácido retinóico (RIG-I) é predominante no reconhecimento intracelular de ssRNA e leva à ativação de fatores de transcrição como IRF3 (Fator Regulador de Interferon 3), IRF7 e fator nuclear kappa B (NF-κB) (PICHLMAIR et al., 2006; HISCOTT et al., 2006). Os TLRs endossomais TLR3, TLR7 e TLR8 também são PRRs críticos na resposta imune contra o vírus Influenza (TAKESHITA et al., 2006; GOUBAU et al., 2014). O reconhecimento via PRRs leva à ativação e translocação de fatores de transcrição e consequente transcrição de genes de IFNs do tipo I (IFN-α e IFN-β), IFNs do tipo III (IFN-λ1, IFN-λ2, IFN-λ3, IFN-λ4) e citocinas (TNF, IL6, IL1β, etc.) antivirais (SHAN et al., 2016). Apesar de terem função semelhante, os IFN-α/β e IFN-λ possuem algumas diferenças para conferir proteção durante a infecção. Camundongos infectados com Influenza foram tratados com IFN-α e apresentaram maior patologia pulmonar e mortalidade. Já o tratamento com IFN-λ conferiu proteção aos camundongos infectados (DAVIDSON et al., 2016; KIM et al., 2016).

A produção dos mediadores mencionados acima ativa as epiteliais respiratórias vizinhas não infectadas para resposta antiviral e recruta células inatas circulantes como: NKs, monócitos, neutrófilos e DCs (CHEN et al., 2018). As células NK atuam na vigilância imunológica e utilizam sua atividade citotóxica para eliminar as células infectadas pelo vírus (MENDELSON et al., 2010; GUO et al., 2011). Os macrófagos alveolares, monócitos e neutrófilos limitam a proliferação viral fagocitando as células infectadas (TUMPEY et al., 2005). As DCs internalizam e processam o vírus, enquanto migram para os linfonodos drenantes onde apresentam os peptídeos virais via MHC para as células T específicas, iniciando a resposta imune adaptativa (GEURTSVANKESSEL et al., 2008; HINTZEN et al., 2006).

A resposta imune de células T e B é crucial contra o vírus Influenza. As células T $CD4^+$ e $CD8^+$ desempenham papel fundamental produzindo mediadores antivirais, além de atuarem na morte de células infectadas (XIAOYONG et al., 2018). As DCs apresentam os peptídeos virais via MHC de classe I para as células T $CD8^+$ naives que se diferenciam em linfócitos T citotóxicos (CTLs) (GEURTSVANKESSEL et al., 2008; KREIJTZ et al., 2011). Após a ativação e diferenciação, as células T $CD8^+$ regulam positivamente a expressão de CXCR3 e CCR4 e migram para o pulmão

infectado (JENNRICH et al., 2012; XIAOYONG et al., 2018). No tecido infectado, essas células podem produzir citocinas como IFN-γ que contribuirá para ativação de macrófagos e para a produção de anticorpos IgG por células B (WHITMIRE et al., 2005). Outro mecanismo efetor é a citotoxidade mediada por perforinas e granzimas que exige contato célula-célula e induz apoptose nas células infectadas (VAN DOMSELAAR & BOVENSCHEN, 2011). Alguns estudos também indicam que as granzimas atuam impedindo a replicação viral clivando proteínas virais (ANDRADE, 2010). As células T de memória também são essenciais na proteção contra reinfecções pelo vírus Influenza (CERWENKA et al., 1999). As células $CD8^+$ TRMs são geradas na infecção e após a vacinação contra a gripe, gerando rápida proteção contra reinfecções (WAKIM et al., 2015). Neste contexto o reconhecimento de DAMPs como o eATP é um sinal necessário para a geração destas células em infecções virais (BORGES DA SILVA et al., 2020). As células $CD8^+$ TRMs são encontradas no epitélio nasal após a infecção, onde restringem o acesso do vírus ao Sistema respiratório inferior, impedindo a disseminação viral para o pulmão (PIZZOLLA et al., 2017).

As células B não são meras coadjuvantes em resposta ao vírus Influenza. Estas células participam ativamente através da produção de anticorpos neutralizantes e não neutralizantes (LOFANO et al., 2015). Nesta infecção a maior parte das células B responsivas são específicas para a proteína H do vírus (BARDELLI et al., 2013). Os anticorpos não neutralizantes correspondem à maior parte do pool de anticorpos produzidos e agem diretamente na lise de células infectadas por meio da citotoxidade mediada por anticorpos (LOFANO et al., 2015). Os anticorpos do tipo IgA são indispensáveis para evitar a transmissão viral, mas os anticorpos IgG são mais abundantes e eficientes em controlar a infecção (SEIBERT et al., 2013). Até o momento, a resposta de células B de memória é a linha de defesa mais rápida utilizada pelo sistema imune após a vacinação contra a gripe (FRASCA et al., 2016).

Assim como na tuberculose, uma resposta inflamatória exacerbada durante a infecção pelo vírus Influenza pode lesionar o tecido pulmonar e comprometer a fisiologia respiratória. Alguns estudos já demonstraram que o acúmulo de células T $CD8^+$ durante a infecção agrava a lesão pulmonar e aumenta a fibrose. As células T $CD4^+$ são indispensáveis na imunidade antiviral e colaboram com as respostas de células T $CD8^+$ e B, mas o infiltrado exacerbado e produção desregulada de citocinas como IFN-γ podem conduzir a doença pulmonar para um desfecho grave. As características da resposta de células T $CD4^+$ serão detalhadas no tópico seguinte.

1.7. Resposta de células T CD4$^+$ na infecção pelo vírus Influenza

A resposta efetora de células T CD4$^+$ contra o vírus Influenza começou a ser estudada entre 1990 e 1995, utilizando modelos de depleção por anticorpos e camundongos deficientes de MHC de classe II (ALLAN et al., 1990; BODMER et al., 1993; TRIPP et al., 1995). Estes estudos demonstraram um papel secundário das células T CD4$^+$ na infecção quando comparados às células T CD8$^+$ e células B. Na ausência da resposta de células T CD4$^+$, apenas um atraso no *clearence* viral foi observado (BODMER et al., 1993). Contudo, o requerimento da resposta destas células durante a infecção ficou mais evidente quando camundongos deficientes de células B foram tratados com anti-CD4 (MOZDZANOWSKA et al., 2000). Neste contexto, a resposta citotóxica das CTLs ficou comprometida e não foi capaz de controlar a infecção pela cepa A/Puerto Rico/8/34 (PR8). Estes dados demonstraram que as células T CD4$^+$ são um importante pilar para sustentar a resposta de células T CD8$^+$. Experimentos similares foram feitos, desta vez depletando células T CD8$^+$ em camundongos deficientes de células B (MOZDZANOWSKA et al., 1997; TOPHAM & DOHERTY, 1998). Interessantemente, os camundongos sem resposta de células T CD8$^+$ e B sucumbiram rapidamente. Portanto, a resposta de células T CD4$^+$ sozinha não é capaz de controlar a infecção pelo vírus Influenza. É necessário que haja uma cooperação entre as respostas de células T e B para que haja sucesso no *clearence* viral (BROWN et al., 2004).

As células T CD4$^+$ são capazes de reconhecer epítopos conservados de proteínas virais internas (DEVARAJAN et al., 2016; VALKENBURG et al., 2018). Elas são ativadas nos linfonodos drenantes pelas DCs que carregam os peptídeos virais (**Figura 8**) (ITANO & JENKINS, 2003). Após a ativação, a diferenciação para o perfil Th1 é predominante, mas também há envolvimento de células T CD4$^+$ Th2, Tfh e Treg durante a infecção (GRUTA & TURNER, 2014; CHEN et al., 2018). As células Th1 migram para o tecido infectado, onde exercem sua função efetora produzindo citocinas como IFN-γ, TNF-α e IL-2 que cooperam com a proliferação, ativação e diferenciação de células T CD8$^+$. As células Th2 regulam a produção de anticorpos através da produção de IL-4 e IL-13 (LAMB et al., 1982). As células Treg contribuem na redução da resposta de células T CD8$^+$ quando a infecção é controlada, prevenindo dano pulmonar por exacerbação da resposta inflamatória no tecido (JIANG et al., 2011). Contudo, este controle nem sempre é eficiente. As células Tfh são cruciais para

formação de centros germinativos nos linfonodos, direcionando a produção de anticorpos de alta afinidade contra o vírus Influenza (BENTEBIBEL et al., 2016).

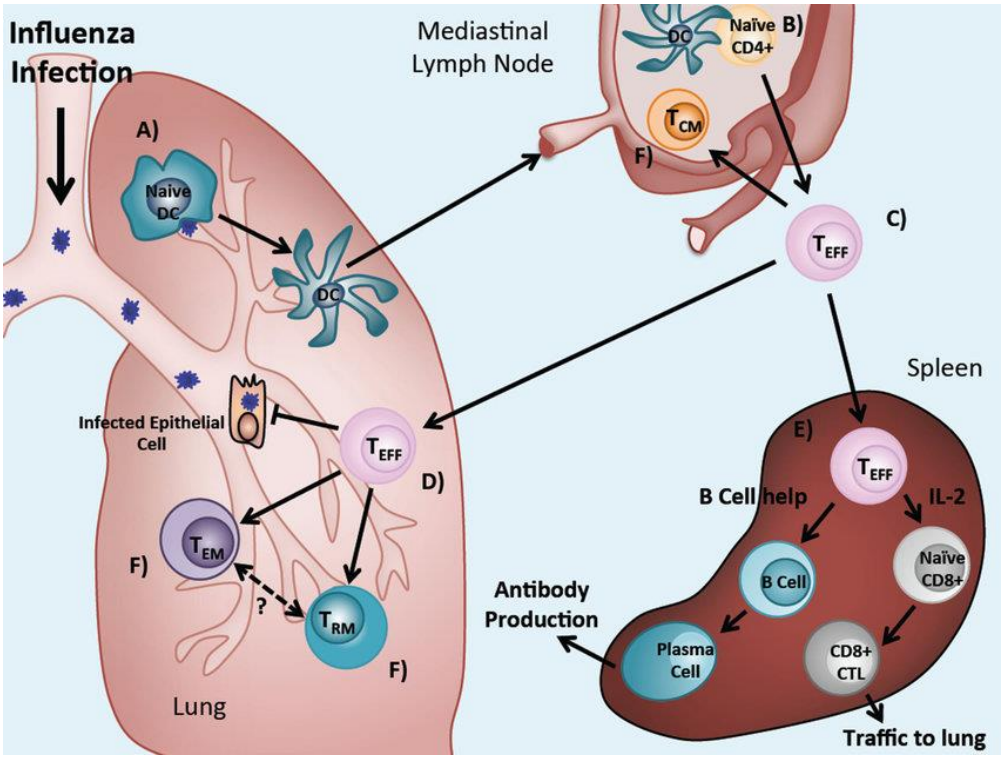

Figura 8: Resposta primária de células T CD4⁺ e geração de memória na infecção pelo vírus Influenza.
Fonte: Zens & Farber, 2014.

No pulmão infectado pela cepa PR8, dois novos subtipos de células T $CD4^+$ residentes foram descritos recentemente (SWARNALEKHA et al., 2021). Estes subtipos são transcricionalmente semelhantes às células Th1 e Tfh. O surgimento destas células no pulmão ocorre de forma assíncrona. Na fase aguda da doença (7 dias p.i.), as células Th1 ($PSGL\text{-}1^{hi}FR4^{-}$) são predominantes. Estas células Th1 contribuem para a resposta de células T $CD8^+$ e B na fase aguda, como mencionado anteriormente (SCHREINER & KING, 2018). Na fase tardia, após a eliminação do vírus (14-30 dias p.i.), se observa o direcionamento das células Th1 para Trh (Célula T helper residente) ($PSLG\text{-}1^{lo}FR4^{hi}$). A geração de células Trh requer a interação com células B e é dependente da expressão de Bcl6. As células Trh podem ser vistas em pequenos aglomerados ao lado de células B no parênquima pulmonar. Estas células são cruciais para manter a produção de anticorpos durante uma reinfecção. Além disso, elas também contribuem para geração de células TRMs $CD8^+$ (SON et al., 2021).

Na infecção pelo vírus Influenza, assim como na tuberculose, há a formação de iBALT (Tecido Linfóide Induzível Associado aos Bronquios) (SCHREINER & KING, 2018). Esses aglomerados linfoides não indispensáveis para a manutenção de células T $CD4^+$ residentes no pulmão. Durante a infecção viral, as células T $CD4^+$ também expressam altos níveis de CD69, CD103 e CXCR3 e migram para o parênquima pulmonar, onde exercem sua função de acordo com a fase da doença. No entanto, é a alta expressão CXCR3 que determina o acúmulo de células Th1 no parênquima pulmonar durante a infecção (DHUME et al., 2019).

As células T $CD4^+$ realmente possuem papel secundário na proteção durante a infecção pelo vírus Influenza. Porém, assim como em outras infecções pulmonares, o acúmulo destas células somado a uma resposta efetora desregulada está associado ao agravamento do dano no tecido pulmonar e, consequente, à liberação de grandes quantidades de DAMPs (ZHAO et al., 2012). Este fato suporta a importância de estudos que busquem entender o que determina o acúmulo excessivo destas células no pulmão, visando melhorar o prognóstico da doença.

1.8. Efeitos do reconhecimento do ATP extracelular

A Adenosina Trifosfato (ATP) intracelular possui um importante papel como molécula energética nas reações celulares. Através das alterações metabólicas, as células podem regular a produção desta molécula (BURNSTOCK & VERKHRATSKY, 2009). Esses mecanismos são importantes para as funções vitais celulares como replicação e ativação. O ATP exerce papel crucial no meio intracelular e não está presente em altas concentrações no meio extracelular (LIPMANN, 2006). Baixos níveis de eATP exercem importantes funções fisiológicas, tais como agregação plaquetária, neurotransmissão (periférica e central), função cardíaca e contração muscular (DRURY & SZENT-GYÖRGYI, 1929). No entanto, o ATP pode ser liberado em altas concentrações no processo de morte celular. Células ativadas e apoptóticas utilizam a abertura de canais denominados panexina-1 para liberar ATP para o meio extracelular e isso pode levar a uma consequente ruptura da membrana plasmática (CHEKENI et al., 2010; ZEH & LOTZE, 2015).

O ATP pode ser liberado para o meio extracelular por vários tipos celulares assim como por exocitose em plaquetas e neurônios. No meio extracelular, o eATP pode ser reconhecido por receptores presentes na superfície celular ou ser

rapidamente hidrolisado em ADP, AMP e adenosina pela ectonucleotidases CD39 e CD73, respectivamente (**Figura 9)** (GORDON, 1986; YEGUTKIN, 2008; RIVAS-YÁÑEZ et al., 2020.).

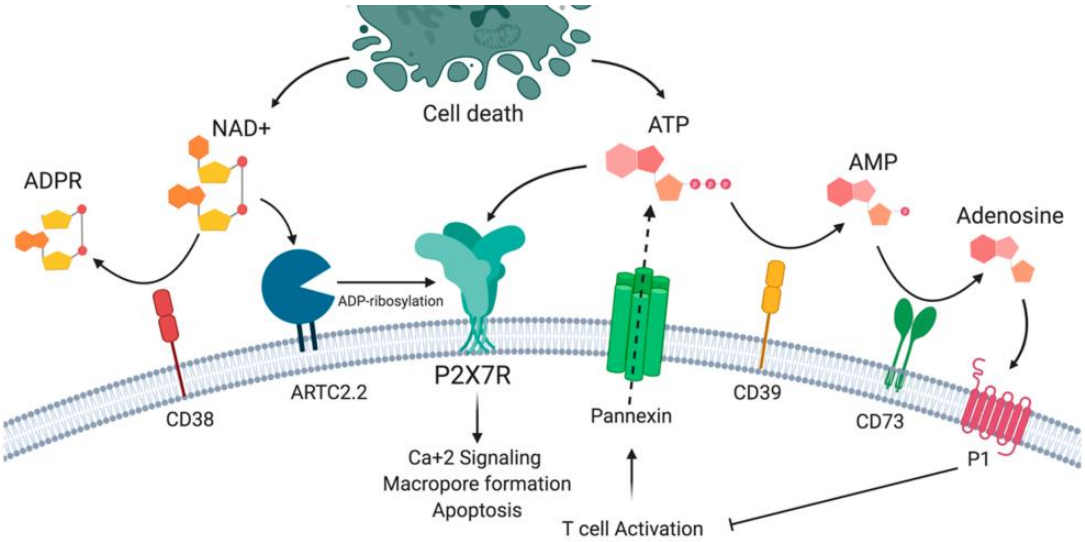

Figura 9: Reconhecimento e hidrólise do eATP.
Fonte: Rivas-Yáñez et al., 2020.

Dois grupos de receptores purinérgicos foram descritos, sendo eles, os receptores P1, que são capazes de reconhecer adenosina e os receptores P2 que reconheceriam o eATP. Dentre os receptores P2, duas famílias foram identificadas (BURNSTOCK, 1978; ABBRACCHIO & BURNSTOCK, 1994): o primeiro grupo é composto por receptores ou canais iônicos dependente de ligante, os quais são chamados de P2X. Já o grupo chamado de P2Y é composto de receptores que estão acoplados à proteína G (BURNSTOCK & KENNEDY, 1985).

Atualmente, são conhecidas oito isoformas na família P2RY em mamíferos (P2RY1, P2RY2, P2RY4, P2RY6, P2RY11, P2RY12, P2RY13 e P2RY14) e sete de P2RX (P2RX1-P2RX7) (ABBRACCHIO et al., 2009; BURNSTOCK, 2007; MILLER et al., 2011). Quanto à sua estrutura, os receptores da família P2RX possuem os dois domínios transmembrana (TM1 e TM2), além de um domínio extracelular responsável pela ligação com o ATP e uma porção n-terminal intracelular (BARRERA et al., 2005, DI VIRGILIO, 2015). A estrutura destes receptores está intimamente ligada à abertura de canais iônicos. A partir da abertura destes canais inicia-se um fluxo com entrada de Na^+ e $Ca2^+$ e saída de K^+ e consequente despolarização da membrana plasmática. O influxo de cálcio está envolvido diretamente na sinalização celular (DI VIRGILIO, 2015, MILLER et al., 2011). Esta sinalização pode levar a vários caminhos, incluindo

a ativação, proliferação e morte celular, por exemplo (ADINOLFI et al., 2005). Diante desses fatos, nota-se que a família P2RX possui um papel significativo na resposta de células imunes.

Dentre todos os receptores P2RX, o mais estudado até o momento é o P2RX7. Em humanos o gene que codifica o receptor está localizado no cromossomo 12 e em camundongos no cromossomo 5. Este receptor é amplamente encontrado em tecidos como o cérebro, músculo, pele, intestino, células imunes, dentre outros (COLLO et al., 1997). No sistema imune, o P2RX7 é expresso por macrófagos, mastócitos, eosinófilos, DCs e linfócitos T (DI VIRGILIO et al., 2001). O P2RX7 especialmente é capaz de responder a altas concentrações de eATP e formar um poro permeável a moléculas de até 900Da (DI VIRGILIO et al., 2001). Este contexto é característico de dano celular e tecidual, quadro observado em respostas imunes muito exacerbadas.

Um dos limitantes para a determinação do papel do P2RX7 em células do sistema imune é a concentração de eATP disponível no microambiente. Baixas concentrações de eATP favorecem a ativação e proliferação de células via P2RX7 (RISSIEK et al., 2015). Em contraste, altas concentrações de eATP desencadeia a morte celular apoptótica ou necrótica em alguns tipos celulares (ADINOLFI et al., 2005; AMARAl et al., 2014). O tempo e intensidade do estímulo do P2RX7 também é limitante para determinar o papel do receptor. A estimulação prolongada de P2RX7 induz a formação de grandes poros na membrana plasmática (DI VIRGILIO, et al., 2001). Dependendo da intensidade e duração do estímulo, a predominância de cada uma dessas vias moleculares determina o gatilho para a morte celular por apoptose ou necrose. A ativação combinada de diferentes vias moleculares culmina em piroptose, pironecrose ou necroptose (BORTOLUCI & MEDZHITOV, 2010; KACZMAREK et al., 2013). A ativação celular via P2RX7 pode levar a um fenômeno de dano celular em cascata. Portanto, o reconhecimento de eATP pelo receptor P2RX7 contribui para o desenvolvimento e agravamento da inflamação estéril e infecciosa em diversos modelos (DI VIRGILIO, et al., 2017).

Além de seus efeitos fisiológicos, o P2RX7 também é um receptor muito relevante em doenças infecciosas (MILLER et al., 2011). Nos últimos tempos, este receptor tem sido amplamente estudado na interação patógeno-hospedeiro. Pesquisadores buscam não apenas entender o papel do receptor na inflamação proveniente de infecções, mas também como o P2RX7 contribui para a proteção ou

desenvolvimento de formas graves destas doenças infecciosas. (DI VIRGILIO et al., 2017).

Alguns estudos demonstraram que a sinalização via P2RX7 pode aumentar a resistência em casos de sepse (CSÓKA et al., 2015). Além disso, a expressão de P2RX7 em neutrófilos contribui para a eliminação de *Streptococcus pneumoniae*. (KARMAKAR et al., 2016). Quando se trata de infecções parasitárias, demonstrou-se que o P2RX7 participa da eliminação de parasitas intracelulares como *Leishmania* e *Toxoplasma* (COUTINHO-SILVA et al., 2003, COUTINHO-SILVA & OJCIUS, 2012). Na malária experimental, nosso grupo de pesquisa demonstrou que o P2RX7 é crucial para a eliminação do patógeno (SALLES et al., 2014).

Em infecções virais, o eATP extracelular é essencial para promover imunidade antiviral robusta aumentando a produção de IFN-β e outros mediadores inflamatórios (ZHANG et al., 2017). Em alguns casos de infecções virais persistentes, a sinalização via P2RX7 pode gerar inflamação sistêmica e levar à morte. O bloqueio da interação P2RX7-eATP é eficiente no controle da inflamação pulmonar, reduzindo infiltrado de macrófagos, neutrófilos e produção de citocinas inflamatórias durante infecções por Influenza e adenovírus (LEYVA-GRADO et al., 2017; LEE et al., 2012).

Antigos trabalhos demonstram o papel do P2RX7 em infecções micobacterianas. Lammas et al., (1997), por exemplo, demonstrou que o tratamento de macrófagos humanos infectados com *M. bovis* BCG promoveu a morte destas células e consequentemente, a morte dos bacilos. Apesar disso, o papel do P2RX7 na tuberculose sempre foi dito como controverso. Em estudos anteriores, nosso grupo demonstrou que em infecções causadas por cepas micobacterianas hipervirulentas, o P2RX7 contribui para o desenvolvimento de formas graves da doença. Esse efeito hiperinflamatório não foi observado na infecção com cepas de baixa virulência como a *Mtb* H37Rv. Os resultados sugeriram a necessidade de uma alta resposta inflamatória, gerando elevada morte necrótica de macrófagos e liberação de eATP, o que só acontece na infecção pela cepa *Mtb* Beijing 1471 e principalmente pela cepa *Mbv* MP287, ambos isolados clínicos hipervirulentos (**Figura 10**) (AMARAL et al., 2014; EBERHARDT et al., 2022). Em 2017, ficou claro que a proteção conferida à camundongos deficientes de P2RX7 não é proveniente da ausência do receptor em células estruturais do pulmão, mas sim de células derivadas da medula óssea (BOMFIM et al., 2017). Contudo, o papel do receptor P2RX7 expresso

especificamente por células T CD4⁺ não estava elucidado na tuberculose pulmonar grave.

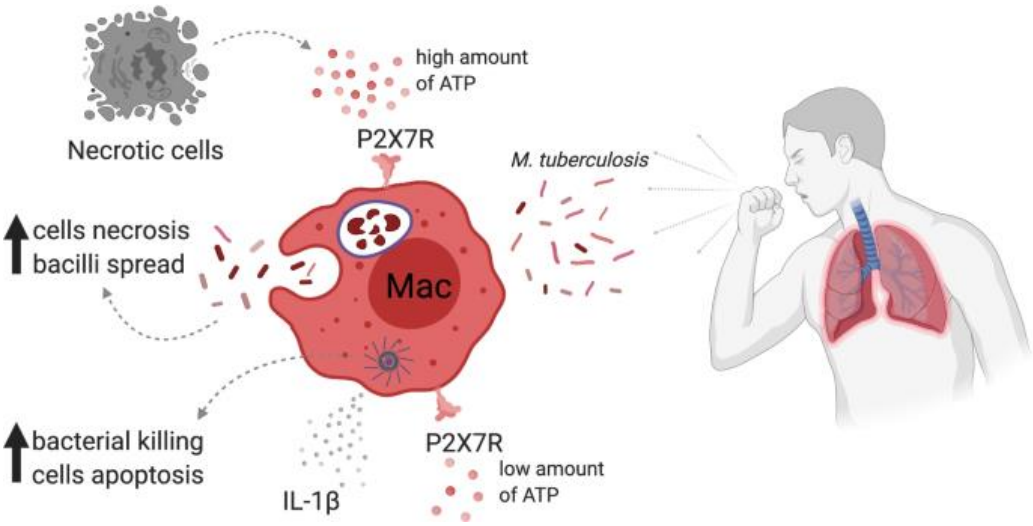

Figura 10: Papel dual do receptor P2RX7 na infecção por *Mtb*.
Fonte: Eberhardt et al., 2022.

1.9. Efeitos da sinalização via P2RX7 em células T CD4⁺

O papel da sinalização através do reconhecimento do eATP por P2RX7 em células T CD4⁺ ainda não totalmente esclarecido, mas se sabe que favorece a ativação celular durante a sinapse imunológica. A ativação antígeno-específica de células T via TCR e moléculas coestimuladoras induz a liberação de baixas concentrações de ATP pelos canais de panexina. O eATP liberado na sinapse é reconhecido pelos receptores P2RX1 e P2RX4 que são imediatamente recrutados para a sinapse (**Figura 11**). Já o P2RX7 permanece distribuído uniformemente pela membrana célula, podendo reconhecer o eATP de forma autócrina e parácrina. Este reconhecimento via receptores P2RX aumenta o influxo de Ca^+ e ativa NFAT levando à produção de importantes mediadores, como IL-2 que aumenta a proliferação celular (RIVAS-YÁÑEZ et al., 2020; BURNSTOCK & BOEYNAEMS, 2014; JUNGER et al., 2011; YIP et al., 2009).

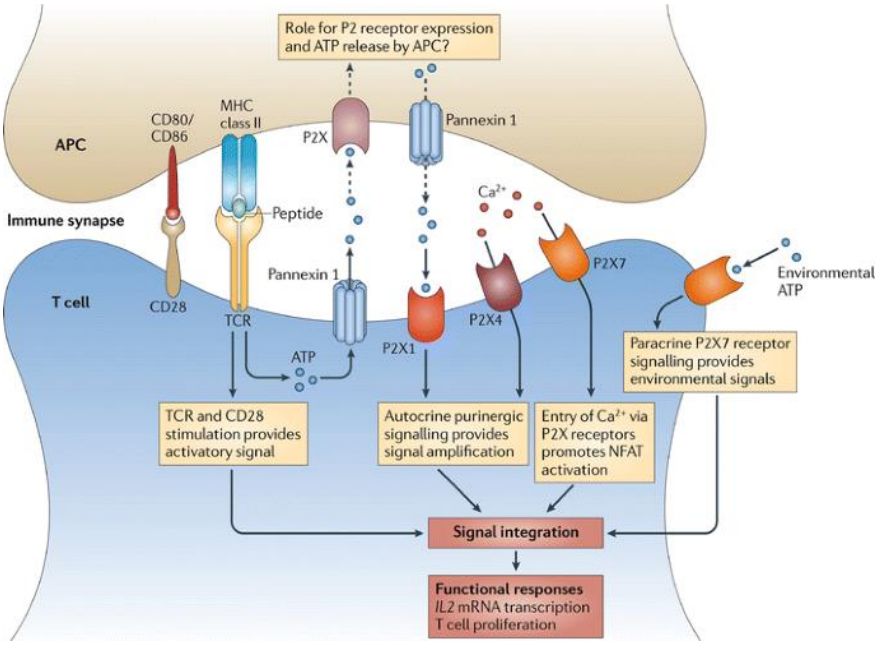

Figura 11: Efeitos da sinalização purinérfica na ativação de células T.
Fonte: Burnstock & Boeynaems, 2014.

O receptor P2RX7 também é um importante direcionador da diferenciação de células T CD4$^+$. A deficiência de P2RX7 direciona a diferenciação de células T CD4$^+$ para um perfil Th17 em camundongos com artrite induzida por colágeno (FAN et al., 2016). Essa diferenciação é mais evidente a partir de células T CD4$^+$ regulatórias. Num ambiente rico em IL-6 e altos níveis de eATP, as células T CD4$^+$FOXP3$^+$ ficam prejudicadas em sua função supressora e diferenciam-se em células T CD4$^+$ Th17 (SCHENK et al., 2011). Na malária experimental, a diferenciação de células Th1 CD4$^+$ protetoras é favorecida pela sinalização via P2RX7 (SALLES et al., 2017). O direcionamento da diferenciação de células T provavelmente está relacionado com a programação metabólica celular induzida a partir interação eATP-P2RX7 (DI VIRGILIO et al., 2017).

O papel do eATP na migração de células da imunidade inata, como neutrófilos está bem descrito na literatura. Neste contexto, o reconhecimento do eATP é via receptor P2Y2 (JUNGER, 2008). Contudo, pouco se sabe sobre o envolvimento de altos níveis de eATP reconhecidos P2RX7 na migração e células T (Mishra et al., 2016; DI VIRGILIO et al., 2017). Até o momento, o que se sabe é que o P2RX7 é fundamental para a saída de células do linfonodo em direção aos tecidos. A Sinalização via P2RX7 induz o *shedding* L-selectina (CD62L) através da atividade das metaloproteases ADAM10 e ADAM17 (LE GALL et al., 2009). Portanto, a deficiência de P2RX7 pode gerar retenção de células T nos linfonodos. Adicionalmente, novos

estudos comprovam a ação do receptor P2RX7 na motilidade das células durante o processo de ativação. A sinalização via P2RX7 induz ondas de Ca^+ que agem de forma parácrina nas células T vizinhas, reduzindo sua motilidade e melhorando a interação com as DCs (WANG et al., 2014).

Por fim, mas não menos importante, o receptor P2RX7 pode agir na morte de células T durante processos inflamatórios e de dano tecidual. Esse processo é dependente do tempo de exposição, níveis de eATP e expressão de ectonucleotidases (RIVAS-YÁÑEZ et al., 2020). Um tipo de morte celular regulado pelo receptor P2RX7 é a apoptose. Este processo utiliza não apenas o eATP, mas também baixas concentrações de NAD^+ que serve como substrato para ARTC2.2 catalisar a ribosilação de ADP do P2RX7 em camundongos, levando à imediata ativação e consequente morte celular induzida por NAD^+ (SEMAN et al., 2003). Esta morte por ocorrer pela abertura de poros não seletivos na membrana celular ou via fosforilação da proteína quinase ½ (ERK1/2) (AMSTRUP et al., 2003). A abertura de poros não seletivos pode também levar a morte celular por necrose, devido a entrada e saída desregulada de íons e outras moléculas (TAYLOR et al., 2008). Como mencionado anteriormente, em condições de liberação de altos níveis de ATP, alguns subtipos de células T $CD4^+$ podem escapar da morte celular induzida por P2RX7 expressando CD39 e CD73. Desta forma, o eATP é hidrolisado antes de se ligar ao P2RX7. Células T $CD4^+$ regulatórias utilizam este mecanismo para escapar da morte em condições inflamatórias graves (DEAGLIO et al., 2007; VIGNALI et al., 2008).

De fato, a expressão de P2RX7 e a sinalização gerada a partir do reconhecimento de altos níveis de eATP pode direcionar o destino de células T $CD4^+$ em diferentes modelos. Contudo, ainda não é claro os efeitos do P2RX7 expresso por células T $CD4^+$ durante infecções pulmonares graves como tuberculose e Influenza, onde há grande liberação de eATP.

2 Objetivos

2.1. Geral

O objetivo principal deste trabalho foi compreender o papel das células T $CD4^+$ residentes, particularmente da sinalização através do P2RX7, na geração de lesões pulmonares decorrentes de infecções e os mecanismos envolvidos nesse processo.

2.2. Específicos

- Identificar o papel das células T $CD4^+$ residentes efetoras no agravamento da tuberculose pulmonar induzida por cepa hipervirulenta;

- Compreender o papel do receptor P2RX7 na residência de células T $CD4^+$ efetoras na tuberculose pulmonar grave;

- Investigar como a expressão de P2RX7 em células T determina o desfecho da tuberculose pulmonar grave;

- Avaliar o papel do receptor P2RX7 na inflamação pulmonar causada pelo vírus Influenza;

- Averiguar se os mecanismos que envolvem a sinalização via P2RX7 e a residência de células T $CD4^+$ estendem-se para outras infecções pulmonares, como pelo vírus Influenza.

REFERÊNCIAS

ADLER, Kenneth B.; FISCHER, Bernard M.; WRIGHT, David T.; COHN, Leah A.; BECKER, Susanne. Interactions between Respiratory Epithelial Cells and Cytokines: relationships to lung inflammation. **Annals of The New York Academy of Sciences**, v. 725, n. 1, p. 128-145, Jul 1994.

AITANO, Andrea; JENKINS, Marc K. Antigen presentation to naive CD4 T cells in the lymph node. **Nature Immunology**, v. 4, n. 8, p. 733-739, Aug 2003.

ALMEIDA, Fabrício M.; VENTURA, Thatiana L. B.; AMARAL, Eduardo P.; RIBEIRO, Simone C. M.; CALIXTO, Sanderson D.; MANHÃES, Marcelle R.; REZENDE, Andreza L.; SOUZAL, Giliane S.; CARVALHO, Igor S. de; SILVA, Elisangela C. Hypervirulent *Mycobacterium tuberculosis* strain triggers necrotic lung pathology associated with enhanced recruitment of neutrophils in resistant C57BL/6 mice. **Plos One**, v. 12, n. 3, p. 0173715, Mar 2017.

ANDRADE, Felipe. Non-cytotoxic antiviral activities of granzymes in the context of the immune antiviral state. **Immunological Reviews**, v. 235, n. 1, p. 128-146, Apr 2010.

ANDERSON, Kristin G; MAYER-BARBER, Katrin; SUNG, Heungsup; BEURA, Lalit; JAMES, Britnie R; TAYLOR, Justin J; QUNAJ, Lindor; GRIFFITH, Thomas s; VEZYS, Vaiva; BARBER, Daniel L. Intravascular staining for discrimination of vascular and tissue leukocytes. **Nature Protocols**, v. 9, n. 1, p. 209-222, Jan 2014.

AMARAL, Eduardo P.; RIBEIRO, Simone C. M.; LANES, Verônica R.; ALMEIDA, Fabrício M.; ANDRADE, Marcelle R. M. de; BOMFIM, Caio Cesar Barbosa; SALLES, Érika M.; BORTOLUCI, Karina R.; COUTINHO-SILVA, Robson; HIRATA, Mario H. Pulmonary Infection with Hypervirulent Mycobacteria Reveals a Crucial Role for the P2X7 Receptor in Aggressive Forms of Tuberculosis. **Plos Pathogens**, v. 10, n. 7, p. e1004188, Jul 2014.

ASHA, Kumari; KUMAR, Binod. Emerging Influenza D Virus Threat: what we know so far. **Journal of Clinical Medicine**, v. 8, n. 2, p. 192, Feb 2019.

ASKONAS, Brigitte A.; HUMPHREY, J. H. Formation of specific antibodies and γ-globulin in vitro. A study of the synthetic ability of various tissues from rabbits immunized by different methods. **Biochemical Journal**, v. 68, n. 2, p. 252-261, 1 Feb 1958.

BARBER, Daniel L. The Helper T Cell's Dilemma in Tuberculosis. **Cell Host & Microbe**, v. 21, n. 6, p. 655-656, Jun 2017.

BARDELLI, Monia; ALLERI, Liliana; ANGIOLINI, Francesca; BURICCHI, Francesca; TAVARINI, Simona; SAMMICHELI, Chiara; NUTI, Sandra; DEGL'INNOCENTI, Elena; ISNARDI, Isabelle; FRAGAPANE, Elena. Ex Vivo Analysis of Human Memory B Lymphocytes Specific for A and B Influenza Hemagglutinin by Polychromatic Flow-Cytometry. **Plos One**, v. 8, n. 8, p. e70620, Aug 2013.

BENTEBIBEL, Salah-Eddine; KHURANA, Surender; SCHMITT, Nathalie; KURUP, Parvathi; MUELLER, Cynthia; OBERMOSER, Gerlinde; PALUCKA, A. Karolina; ALBRECHT, Randy A.; GARCIA-SASTRE, Adolfo; GOLDING, Hana. ICOS+PD-1+CXCR3+ T follicular helper cells contribute to the generation of high-avidity antibodies following influenza vaccination. **Scientific Reports**, v. 6, n. 1, p. 26494, May 2016.
BIANCHI, Marco E. DAMPs, PAMPs and alarmins: all we need to know about danger. **Journal Of Leukocyte Biology**, v. 81, n. 1, p. 1-5, Oct 2006.

BIENENSTOCK J. Bronchial lymphoid tissue. I. Morphologic characteristics. **Lab Invest**, v. 28, p. 686-92, 1973.

BIENENSTOCK, J. The Lung as an Immunologic Organ. **Annual Review of Medicine**, v. 35, n. 1, p. 49-62, Feb 1984.

BIENENSTOCK, John. Gut and Bronchus Associated Lymphoid Tissue: an overview. **In Vivo Immunology**, v. 149, p. 471-477, 1982.

BODMER, Helen; OBERT, Georges; CHAN, Susan; BENOIST, Christophe; MATHIS, Diane. Environmental modulation of the autonomy of cytotoxic T lymphocytes. **European Journal of Immunology**, v. 23, n. 7, p. 1649-1654, Jul 1993.
BROWN, Deborah M; ROMÁN, Eulogia; SWAIN, Susan L. CD4 T cell responses to influenza infection. **Seminars In Immunology**, v. 16, n. 3, p. 171-177, Jun 2004.

BOMFIM, Caio César Barbosa; AMARAL, Eduardo Pinheiro; CASSADO, Alexandra dos Anjos; SALLES, Érika Machado; NASCIMENTO, Rogério Silva do; LASUNSKAIA, Elena; HIRATA, Mario Hiroyuki; ÁLVAREZ, José Maria; D'IMPÉRIO-LIMA, Maria Regina. P2X7 Receptor in Bone Marrow-Derived Cells Aggravates Tuberculosis Caused by Hypervirulent Mycobacterium bovis. **Frontiers In Immunology**, v. 8, p. 435, Apr 2017.

BORGES DA SILVA, Henrique; BEURA, Lalit K.; WANG, Haiguang; HANSE, Eric A.; GORE, Reshma; SCOTT, Milcah C.; WALSH, Daniel A.; BLOCK, Katharine E.; FONSECA, Raissa; YAN, Yan. The purinergic receptor P2RX7 directs metabolic fitness of long-lived memory CD8+ T cells. **Nature**, v. 559, n. 7713, p. 264-268, Jul 2018.

BORGES DA SILVA, Henrique; PENG, Changwei; WANG, Haiguang; WANHAINEN, Kelsey M.; MA, Chaoyu; LOPEZ, Sharon; KHORUTS, Alexander; ZHANG, Nu; JAMESON, Stephen C. Sensing of ATP via the Purinergic Receptor P2RX7 Promotes CD8+ Trm Cell Generation by Enhancing Their Sensitivity to the Cytokine TGF-β. **Immunity**, v. 53, n. 1, p. 158-171, Jul 2020.

BULL, C. G.; MCKEE, C. M. Respiratory immunity in rabbits. Vii. Resistance to intranasal infection in the absence of demonstrable antibodies*. **American Journal of Epidemiology**, v. 9, n. 2, p. 490-499, Mar 1929.

BURNSTOCK, G.; KENNEDY, C. Is there a basis for distinguishing two types of P2-purinoceptor? **General Pharmacology**: **The Vascular System**, v. 16, n. 5, p.433-440, Jan 1985.

BURNSTOCK, G.; VERKHRATSKY, A. Evolutionary origins of the purinergic signalling system. **Acta Physiologica**, v. 195, n. 4, p. 415-447, Apr 2009.

BURNSTOCK, G.; FREDHOLM, B. B.; NORTH, R. A.; VERKHRATSKY, A. The birth and postnatal development of purinergic signalling. **Acta Physiologica**, v. 199, n. 2, p. 93-147, Apr 2010.

BURNSTOCK, Geoffrey; BOEYNAEMS, Jean-Marie. Purinergic signalling and immune cells. **Purinergic Signalling**, v. 10, n. 4, p. 529-564, Oct 2014.

CANADAY, David H.; WILKINSON, Robert J.; LI, Qing; HARDING, Clifford V.; SILVER, Richard F.; BOOM, W. Henry. CD4+and CD8+T Cells Kill IntracellularMycobacterium tuberculosisby a Perforin and Fas/Fas Ligand-Independent Mechanism. **The Journal of Immunology**, v. 167, n. 5, p. 2734-2742, Sep 2001.

CAO, Xuetao. Self-regulation and cross-regulation of pattern-recognition receptor signalling in health and disease. **Nature Reviews Immunology**, v. 16, n. 1, p. 35-50, Dec 2015.

CARUSO AM, Serbina N, KLEIN E, TRIEBOLD K, BLOOM BR, FLYNN JL. Mice deficient in CD4 T cells have only transiently diminished levels of IFN-γ, yet succumb to tuberculosis. **The Journal of Immunology**, v. 162 n. 9, p. 5407-16, May 1999

CHEKENI, Faraaz B.; ELLIOTT, Michael R.; SANDILOS, Joanna K.; WALK, Scott F.; KINCHEN, Jason M.; LAZAROWSKI, Eduardo R.; ARMSTRONG, Allison J.; PENUELA, Silvia; LAIRD, Dale W.; SALVESEN, Guy S. Pannexin 1 channels mediate 'find-me' signal release and membrane permeability during apoptosis. **Nature**, v. 467, n. 7317, p. 863-867, Oct 2010.

CHEN, Shan Nan; ZHANG, Xiao Wen; LI, Li; RUAN, Bai Ye; HUANG, Bei; HUANG, Wen Shu; ZOU, Peng Fei; FU, Jian Ping; ZHAO, Li Juan; LI, Nan. Evolution of IFN-λ in tetrapod vertebrates and its functional characterization in green anole lizard (Anolis carolinensis). **Developmental & Comparative Immunology**, v. 61, p. 208-224, Aug 2016.

CHEN, Xiaoyong; LIU, Shasha; GORAYA, Mohsan Ullah; MAAROUF, Mohamed; HUANG, Shile; CHEN, Ji-Long. Host Immune Response to Influenza A Virus Infection. **Frontiers in Immunology**, v. 9, p. 320, Mar 2018.

CLEMENS, Daniel L. Characterization of the Mycobacterium tuberculosis phagosome. Trends In Microbiology, v. 4, n. 3, p.113-118, Mar 1996.

COOPER, A M; DALTON, D K; A STEWART, T; GRIFFIN, J P; RUSSELL, D G; ORME, I M. Disseminated tuberculosis in interferon gamma gene-disrupted mice. **Journal Of Experimental Medicine**, v. 178, n. 6, p. 2243-2247, Dec 1993.

COOPER, Andrea M. Cell-Mediated Immune Responses in Tuberculosis. **Annual Review of Immunology**, v. 27, n. 1, p. 393-422, Apr 2009.

COLLINS, Morgan K.; SHOTLAND, Abigail M.; WADE, Morgan F.; ATIF, Shaikh M.; RICHARDS, Denay K.; TORRES-LLOMPART, Manolo; MACK, Douglas G.; MARTIN, Allison K.; FONTENOT, Andrew P.; MCKEE, Amy S. A role for TNF-α in alveolar macrophage damage-associated molecular pattern release. **Jci Insight**, v. 5, n. 9, p. 1-17, May 2020.

COUTINHO-SILVA, Robson; OJCIUS, David M. Role of extracellular nucleotides in the immune response against intracellular bacteria and protozoan parasites. **Microbes And Infection**, v. 14, n. 14, p. 1271-1277, Nov 2012.

DADONAITE, Bernadeta; VIJAYAKRISHNAN, Swetha; FODOR, Ervin; BHELLA, David; HUTCHINSON, Edward C. Filamentous influenza viruses. **Journal of General Virology**, v. 97, n. 8, p. 1755-1764, Aug 2016.

DAI, Jianli; CHEN, Yuansha; DEAN, Susan; MORRIS, J. Glenn; SALFINGER, Max; JOHNSON, Judith A. Multiple-Genome Comparison Reveals New Loci for Mycobacterium Species Identification. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 49, n. 1, p. 144-153, Jan 2011.

DARTOIS, Véronique. The path of anti-tuberculosis drugs: from blood to lesions to mycobacterial cells. **Nature Reviews Microbiology**, v. 12, n. 3, p. 159-167, Feb 2014.

DAVIDSON, Sophia; MCCABE, Teresa M; CROTTA, Stefania; GAD, Hans Henrik; HESSEL, Edith M; BEINKE, Soren; HARTMANN, Rune; WACK, Andreas. IFN λ is a potent anti-influenza therapeutic without the inflammatory side effects of IFN α treatment. **Embo Molecular Medicine**, v. 8, n. 9, p. 1099-1112, Aug 2016.

DEAGLIO, Silvia; DWYER, Karen M.; GAO, Wenda; FRIEDMAN, David; USHEVA, Anny; ERAT, Anna; CHEN, Jiang-Fan; ENJYOJI, Keiichii; LINDEN, Joel; OUKKA, Mohamed. Adenosine generation catalyzed by CD39 and CD73 expressed on regulatory T cells mediates immune suppression. **Journal of Experimental Medicine**, v. 204, n. 6, p. 1257-1265, May 2007.

DHARMAPALAN, Dhanya. Influenza. **The Indian Journal of Pediatrics**, v. 87, n. 10, p. 828-832, Feb 2020.

DHEDA, Keertan; SCHWANDER, Stephan K.; ZHU, Bingdong; VAN ZYL-SMIT, Richard N.; ZHANG, Ying. The immunology of tuberculosis: from bench to bedside. **Respirology**, v. 15, n. 3, p. 433-450, Apr 2010.

DHUME, Kunal; FINN, Caroline M.; STRUTT, Tara M.; SELL, Stewart; MCKINSTRY, K. Kai. T-bet optimizes CD4 T-cell responses against influenza through CXCR3-dependent lung trafficking but not functional programming. **Mucosal Immunology**, v. 12, n. 5, p. 1220-1230, Jul 2019.

VIRGILIO, Francesco di; CHIOZZI, Paola; FERRARI, Davide; FALZONI, Simonetta; SANZ, Juana M.; MORELLI, Anna; TORBOLI, Maurizia; BOLOGNESI, Giorgio; BARICORDI, O. Roberto. Nucleotide receptors: an emerging family of regulatory molecules in blood cells. **Blood**, v. 97, n. 3, p. 587-600, Feb 2001.

DI VIRGILIO F. P2X receptors and inflammation. **Current Medicinal Chemisty**. V. 22, n. 7, p. 866-77, 2015.
DI VIRGILIO, Francesco; BEN, Diego dal; SARTI, Alba Clara; GIULIANI, Anna Lisa; FALZONI, Simonetta. The P2X7 Receptor in Infection and Inflammation. **Immunity**, v. 47, n. 1, p. 15-31, Jul 2017.

DRURY**,** A. N.; SZENT-GYÖRGYI, A. The physiological activity of adenine compounds with especial reference to their action upon the mammalian heart1. **The Journal of Physiology**, v. 68, n. 3, p.213-237, Nov 1929.

EHRE, C.; WORTHINGTON, E. N.; LIESMAN, R. M.; GRUBB, B. R.; BARBIER, D.; O'NEAL, W. K.; SALLENAVE, J.-M.; PICKLES, R. J.; BOUCHER, R. C. Overexpressing mouse model demonstrates the protective role of Muc5ac in the lungs. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 109, n. 41, p. 16528-16533, Sep 2012.

ERNST, Joel D. The immunological life cycle of tuberculosis. **Nature Reviews Immunology**, v. 12, n. 8, p. 581-591, 13 Jul 2012.

FAN, Zhi-Dan; ZHANG, Ya-Yuan; GUO, Yi-Hong; HUANG, Na; MA, Hui-Hui; HUANG, Hui; YU, Hai-Guo. Involvement of P2X7 receptor signaling on regulating the differentiation of Th17 cells and type II collagen-induced arthritis in mice. **Scientific Reports**, v. 6, n. 1, p. 35804, Oct 2016.

FERRAZ, J.C.; MELO, F.B.s.; ALBUQUERQUE, M.F.P.M.; MONTENEGRO, S.M.L.; ABATH, F.G.C. Immune factors and immunoregulation in tuberculosis. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 39, n. 11, p. 1387-1397, Nov 2006.

FONTANA, J.; CARDONE, G.; HEYMANN, J. B.; WINKLER, D. C.; STEVEN, A. C. Structural Changes in Influenza Virus at Low pH Characterized by Cryo-Electron Tomography. **Journal of Virology**, v. 86, n. 6, p. 2919-2929, Jan 2012.

FLYNN, J. L.; GOLDSTEIN, M. M.; TRIEBOLD, K. J.; KOLLER, B.; BLOOM, B. R. Major histocompatibility complex class I-restricted T cells are required for resistance to Mycobacterium tuberculosis infection. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 89, n. 24, p. 12013-12017, Dec 1992.

FLYNN, Joanne L.; GOLDSTEIN, Marsha M.; CHAN, John; TRIEBOLD, Karla J.; PFEFFER, Klaus; LOWENSTEIN, Charles J.; SCHRELBER, Robert; MAK, Tak W.; BLOOM, Barry R. Tumor necrosis factor-α is required in the protective immune response against mycobacterium tuberculosis in mice. **Immunity**, v. 2, n. 6, p. 561-572, Jun 1995.

FLYNN, J L; CHAN, J; TRIEBOLD, K J; DALTON, D K; A STEWART, T; BLOOM, B R. An essential role for interferon gamma in resistance to Mycobacterium tuberculosis infection. **Journal Of Experimental Medicine**, v. 178, n. 6, p. 2249-2254, Dec 1993.
FRASCA, Daniela; DIAZ, Alain; ROMERO, Maria; BLOMBERG, Bonnie B. The generation of memory B cells is maintained, but the antibody response is not, in the elderly after repeated influenza immunizations. **Vaccine**, v. 34, n. 25, p. 2834-2840, May 2016.

GALL, Sylvain M. Le; BOBÉ, Pierre; REISS, Karina; HORIUCHI, Keisuke; NIU, Xiao-Da; LUNDELL, Daniel; GIBB, David R.; CONRAD, Daniel; SAFTIG, Paul; BLOBEL, Carl P. ADAMs 10 and 17 Represent Differentially Regulated Components of a General Shedding Machinery for Membrane Proteins Such as Transforming Growth Factor α, L-Selectin, and Tumor Necrosis Factor α. **Molecular Biology of The Cell**, v. 20, n. 6, p. 1785-1794, Mar 2009.

GAUTAM, Uma S.; FOREMAN, Taylor W.; BUCSAN, Allison N.; VEATCH, Ashley V.; ALVAREZ, Xavier; ADEKAMBI, Toidi; GOLDEN, Nadia A.; GENTRY, Kaylee M.; DOYLE-MEYERS, Lara A.; RUSSELL-LODRIGUE, Kasi E.. In vivo inhibition of tryptophan catabolism reorganizes the tuberculoma and augments immune-mediated control of Mycobacterium tuberculosis. **Proceedings of the National Academy Of Sciences**, v. 115, n. 1, p. 62-71, Dec 2017.

GEURTSVANKESSEL, Corine H.; WILLART, Monique A.M.; VAN RIJT, Leonie S.; MUSKENS, Femke; KOOL, Mirjam; BAAS, Chantal; THIELEMANS, Kris; BENNETT, Clare; CLAUSEN, Björn E.; HOOGSTEDEN, Henk C. Clearance of influenza virus from the lung depends on migratory langerin+CD11b− but not plasmacytoid dendritic cells. **Journal of Experimental Medicine**, v. 205, n. 7, p. 1621-1634, Jun 2008.

GHEBREHEWET, Sam; MACPHERSON, Peter; HO, Antonia. Influenza. **Bmj**, p. i6258, Dec 2016.

GLICKMAN, Michael S.; JACOBS, William R. Microbial Pathogenesis of Mycobacterium tuberculosis: dawn of a discipline. **Cell**, v. 104, n. 4, p. 477-485, Feb 2001.

GOUBAU, Delphine; SCHLEE, Martin; DEDDOUCHE, Safia; PRUIJSSERS, Andrea J.; ZILLINGER, Thomas; GOLDECK, Marion; SCHUBERTH, Christine; VEEN, Annemarthe G. van Der; FUJIMURA, Tsutomu; REHWINKEL, Jan. Antiviral immunity via RIG-I-mediated recognition of RNA bearing 5′-diphosphates. **Nature**, v. 514, n. 7522, p. 372-375, Aug 2014.

GOPLEN, Nick P.; WU, Yue; SON, Young Min; LI, Chaofan; WANG, Zheng; CHEON, In Su; JIANG, Li; ZHU, Bibo; AYASOUFI, Katayoun; CHINI, Eduardo N. Tissue-resident CD8+ T cells drive age-associated chronic lung sequelae after viral pneumonia. **Science Immunology**, v. 5, n. 53, p. 4557, Nov 2020.

GORDON, J L. Extracellular ATP: effects, sources and fate. **Biochemical Journal**, v. 233, n. 2, p.309-319, Jan 1986.
GRASSI, Fabio. The P2X7 Receptor as Regulator of T Cell Development and Function. **Frontiers In Immunology**, v. 11, p. 1179, Jun 2020.

GUO, Hailong; KUMAR, Pawan; MALARKANNAN, Subramaniam. Evasion of natural killer cells by influenza virus. **Journal of Leukocyte Biology**, v. 89, n. 2, p. 189-194, Aug. 2010.

HINTZEN, Gabriele; OHL, Lars; RIO, Maria-Luisa del; RODRIGUEZ-BARBOSA, Jose-Ignacio; PABST, Oliver; KOCKS, Jessica R.; KREGE, Janet; HARDTKE, Svenja;

FÖRSTER, Reinhold. Induction of Tolerance to Innocuous Inhaled Antigen Relies on a CCR7-Dependent Dendritic Cell-Mediated Antigen Transport to the Bronchial Lymph Node. **The Journal of Immunology**, v. 177, n. 10, p. 7346-7354, Nov 2006.

HISCOTT, John; LIN, Rongtuan; NAKHAEI, Peyman; PAZ, Suzanne. MasterCARD: a priceless link to innate immunity. **Trends in Molecular Medicine**, v. 12, n. 2, p. 53-56, Feb 2006.

HOFT, Stella G.; SALLIN, Michelle A.; KAUFFMAN, Keith D.; SAKAI, Shunsuke; GANUSOV, Vitaly V.; BARBER, Daniel L. The Rate of CD4 T Cell Entry into the Lungs during Mycobacterium tuberculosis Infection Is Determined by Partial and Opposing Effects of Multiple Chemokine Receptors. **Infection and Immunity**, v. 87, n. 6, p. 00841-18, Jun 2019.

HUNTER, Robert L. Pathology of post primary tuberculosis of the lung: an illustrated critical review. **Tuberculosis**, v. 91, n. 6, p. 497-509, Nov 2011.

IDZKO, Marco; HAMMAD, Hamida; VAN NIMWEGEN, Menno; KOOL, Mirjam; WILLART, Monique A M; MUSKENS, Femke; HOOGSTEDEN, Henk C; LUTTMANN, Werner; FERRARI, Davide; VIRGILIO, Francesco di. Extracellular ATP triggers and maintains asthmatic airway inflammation by activating dendritic cells. **Nature Medicine**, v. 13, n. 8, p. 913-919, Jul 2007.

JANIN, Yves L. Antituberculosis drugs: ten years of research. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 15, n. 7, p. 2479-2513, Apr 2007.

JENNRICH, S.; LEE, M. H.; LYNN, R. C.; DEWBERRY, K.; DEBES, G. F. Tissue Exit: a novel control point in the accumulation of antigen-specific cd8 t cells in the influenza a virus-infected lung. **Journal of Virology**, v. 86, n. 7, p. 3436-3445, Jan 2012.

JIANG, Jiu; FISHER, Erin M.; MURASKO, Donna M. CD8 T cell responses to influenza virus infection in aged mice. **Ageing Research Reviews**, v. 10, n. 4, p. 422-427, Feb 2011.

JOSEPH, Udayan; SU, Yvonne C. F.; VIJAYKRISHNA, Dhanasekaran; SMITH, Gavin J. D. The ecology and adaptive evolution of influenza A interspecies transmission. **Influenza and Other Respiratory Viruses**, v. 11, n. 1, p. 74-84, 8 ago. 2016.

JUNGER, W. G. Purinergic regulation of neutrophil chemotaxis. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 65, n. 16, p. 2528-2540, May 2008.

KAUFMANN, Stefan H.e. How can immunology contribute to the control of tuberculosis? **Nature Reviews Immunology**, v. 1, n. 1, p. 20-30, Oct 2001.

KALIL, Andre C.; THOMAS, Paul G. Influenza virus-related critical illness: pathophysiology and epidemiology. **Critical Care**, v. 23, n. 1, p. 258, Jul 2019.

KHADER, Shabaana A.; COOPER, Andrea M. IL-23 and IL-17 in tuberculosis. **Cytokine**, v. 41, n. 2, p. 79-83, Feb 2008.

KIM, Sujin; KIM, Min-Ji; KIM, Chang-Hoon; KANG, Ju Wan; SHIN, Ha Kyung; KIM, Dong-Young; WON, Tae-Bin; HAN, Doo Hee; RHEE, Chae Seo; YOON, Joo-Heon. The Superiority of IFN-lambda as a Therapeutic Candidate to Control Acute Influenza Viral Lung Infection. **American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology**, p. 202-212, Sep 2016.

KIMURA, Shunsuke; MUTOH, Mami; HISAMOTO, Meri; SAITO, Hikaru; TAKAHASHI, Shun; ASAKURA, Takanori; ISHII, Makoto; NAKAMURA, Yutaka; IIDA, Junichiro; HASE, Koji. Airway M Cells Arise in the Lower Airway Due to RANKL Signaling and Reside in the Bronchiolar Epithelium Associated With iBALT in Murine Models of Respiratory Disease. **Frontiers in Immunology**, v. 10, p. 1323, Jun 2019.

KOUL, Anil; ARNOULT, Eric; LOUNIS, Nacer; GUILLEMONT, Jerome; ANDRIES, Koen. The challenge of new drug discovery for tuberculosis. **Nature**, v. 469, n. 7331, p. 483-490, Jan 2011.

KRAMMER, Florian; SMITH, Gavin J. D.; FOUCHIER, Ron A. M.; PEIRIS, Malik; KEDZIERSKA, Katherine; DOHERTY, Peter C.; PALESE, Peter; SHAW, Megan L.; TREANOR, John; WEBSTER, Robert G. Influenza. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 4, n. 1, p. 3, Jun 2018.

KREIJTZ, J.H.C.M.; FOUCHIER, R.A.M.; RIMMELZWAAN, G.F. Immune responses to influenza virus infection. **Virus Research**, v. 162, n. 1-2, p. 19-30, Dec. 2011.

KUMAR, Ashwani; FARHANA, Aisha; GUIDRY, Loni; SAINI, Vikram; HONDALUS, Mary; STEYN, Adrie J.C. Redox homeostasis in mycobacteria: the key to tuberculosis control?. **Expert Reviews in Molecular Medicine**, v. 13, p. 2615-2639, Dec 2011.

LAGRUTA, Nicole L.; TURNER, Stephen J.T cell mediated immunity to influenza: mechanisms of viral control. **Trends in Immunology**, v. 35, n. 8, p. 396-402, Aug 2014.

LAMB, J. R., D. D. Eckels, PH LAKE, A. H. Johnson, R. J. HARTZMAN, and J. N. WOODY. Antigen-specific human T lymphocyte clones: induction, antigen specificity, and MHC restriction of influenza virus-immune clones. **The Journal of Immunology**, v.128, n. 1, p. 233-238, Jan 1982.

LAMB, A. Paramyxoviridae: the virus and their replication. **Fields Virology**. 1996.

LASUNSKAIA, Elena B.; CAMPOS, Mariana N. N.; ANDRADE, Marcelle R. M. de; DAMATTA, Renato A.; KIPNIS, Thereza L.; EINICKER-LAMAS, Marcelo; SILVA, Wilmar D. da. Mycobacteria directly induce cytoskeletal rearrangements for macrophage spreading and polarization through TLR2-dependent PI3K signaling. **Journal Of Leukocyte Biology**, v. 80, n. 6, p. 1480-1490, Sep 2006.

LEE, Benjamin H.; HWANG, David M.; PALANIYAR, Nades; GRINSTEIN, Sergio; PHILPOTT, Dana J.; HU, Jim. Activation of P2X7 Receptor by ATP Plays an Important Role in Regulating Inflammatory Responses during Acute Viral Infection. **Plos One**, v. 7, n. 4, p. e35812, Apr 2012.

LEYVA-GRADO, Victor H.; ERMLER, Megan E.; SCHOTSAERT, Michael; GONZALEZ, Ma G.; GILLESPIE, Virginia; LIM, Jean K.; GARCÍA-SASTRE, Adolfo. Contribution of the Purinergic Receptor P2X7 to Development of Lung Immunopathology during Influenza Virus Infection. **Mbio**, v. 8, n. 2, p. 00229, May 2017.

LI, Yao-Tsun; LINSTER, Martin; MENDENHALL, Ian H; SU, Yvonne C F; SMITH, Gavin J D. Avian influenza viruses in humans: lessons from past outbreaks. **British Medical Bulletin**, v. 132, n. 1, p. 81-95, Dec 2019.

LIEM, Karel F. Form and Function of Lungs: the evolution of air breathing mechanisms. **American Zoologist**, v. 28, n. 2, p. 739-759, May 1988.

LIN, Philana Ling; RUTLEDGE, Tara; GREEN, Angela M.; BIGBEE, Matthew; FUHRMAN, Carl; KLEIN, Edwin; FLYNN, Joanne L. CD4 T Cell Depletion Exacerbates Acute *Mycobacterium tuberculosis* While Reactivation of Latent Infection Is Dependent on Severity of Tissue Depletion in Cynomolgus Macaques. **Aids Research and Human Retroviruses**, v. 28, n. 12, p. 1693-1702, Dec 2012.

LIPMANN, Fritz. Metabolic Generation and Utilization of Phosphate Bond Energy. Advances In Enzymology - And Related Areas of Molecular Biology, p.99-162, Nov 2006. John Wiley & Sons, Inc. MADIGAN, MICHAEL T. 12ª edição. Microbiologia
LIPSCOMB, Mary F.; BICE, David E.; LYONS, C. Richard; SCHUYLER, Mark R.; WILKES, David. The Regulation of Pulmonary Immunity. **Advances In Immunology**, p. 369-455, Jan 1995.

LOTZE, Michael T.; ZEH, Herbert J.; RUBARTELLI, Anna; SPARVERO, Louis J.; AMOSCATO, Andrew A.; WASHBURN, Newell R.; DEVERA, Michael E.; LIANG, Xiaoyan; TÖR, Mahmut; BILLIAR, Timothy. The grateful dead: damage-associated molecular pattern molecules and reduction/oxidation regulate immunity. **Immunological Reviews**, v. 220, n. 1, p. 60-81, Dez 2007.

LIU, Y; A JANEWAY, C. Interferon gamma plays a critical role in induced cell death of effector T cell: a possible third mechanism of self-tolerance. **Journal Of Experimental Medicine**, v. 172, n. 6, p. 1735-1739, Dec 1990.

MA, Weihong; COMPAN, Vincent; ZHENG, Wenxuan; MARTIN, Elizabeth; NORTH, R. Alan; VERKHRATSKY, Alexei; SURPRENANT, Annmarie. Pannexin 1 forms an anion-selective channel. **Pflügers Archiv - European Journal of Physiology**, v. 463, n. 4, p. 585-592, Feb 2012.

MEDINA, Christopher B.; CHIU, Yu-Hsin; STREMSKA, Marta E.; LUCAS, Christopher D.; POON, Ivan; TUNG, Kenneth S.; ELLIOTT, Michael R.; DESAI, Bimal; LORENZ, Ulrike M.; BAYLISS, Douglas A. Pannexin 1 channels facilitate communication between T cells to restrict the severity of airway inflammation. **Immunity**, v. 54, n. 8, p. 1715-1727, Aug 2021.

MEHRA, Smriti; ALVAREZ, Xavier; DIDIER, Peter J.; DOYLE, Lara A.; BLANCHARD, James L.; LACKNER, Andrew A.; KAUSHAL, Deepak. Granuloma Correlates of

Protection Against Tuberculosis and Mechanisms of Immune Modulation by Mycobacterium tuberculosis. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 207, n. 7, p. 1115-1127, 18 Dec 2012.

MEYER, Keith C. The role of immunity in susceptibility to respiratory infection in the aging lung. **Respiration Physiology**, v. 128, n. 1, p. 23-31, Oct 2001.

MISHRA, Amarjit; GUO, Yujie; ZHANG, Li; MORE, Sunil; WENG, Tingting; CHINTAGARI, Narendranath Reddy; HUANG, Chaoqun; LIANG, Yurong; PUSHPARAJ, Samuel; GOU, Deming. A Critical Role for P2X7Receptor–Induced VCAM-1 Shedding and Neutrophil Infiltration during Acute Lung Injury. **The Journal of Immunology**, v. 197, n. 7, p. 2828-2837, Aug 2016.

MIYATA, Ryohei; VAN EEDEN, Stephan F. The innate and adaptive immune response induced by alveolar macrophages exposed to ambient particulate matter. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 257, n. 2, p. 209-226, Dec 2011.

MOZDZANOWSKA, Krystyna; FURCHNER, Michelle; MAIESE, Krista; GERHARD, Walter. CD4+T Cells Are Ineffective in Clearing a Pulmonary Infection with Influenza Type A Virus in the Absence of B Cells. **Virology**, v. 239, n. 1, p. 217-225, Dec 1997.

MOZDZANOWSKA, Krystyna; MAIESE, Krista; GERHARD, Walter. Th Cell-Deficient Mice Control Influenza Virus Infection More Effectively Than Th- and B Cell-Deficient Mice: evidence for a th-independent contribution by b cells to virus clearance. **The Journal of Immunology**, v. 164, n. 5, p. 2635-2643, Mar 2000.

MCAULEY, J L; CORCILIUS, L; TAN, H-X; PAYNE, R J; A MCGUCKIN, M; BROWN, L e. The cell surface mucin MUC1 limits the severity of influenza A virus infection. **Mucosal Immunology**, v. 10, n. 6, p. 1581-1593, Mar 2017.

MCDERMOTT, M.R.; BEFUS, A.D.; BIENENSTOCK, J. The structural basis for immunity in the respiratory tract. **International Review of Experimental Pathology**, v. 23, p. 47-112, 1982.

MOGUES, Tirsit; GOODRICH, Mariam E.; RYAN, Lynn; LACOURSE, Ronald; NORTH, Robert J. The Relative Importance of T Cell Subsets in Immunity and Immunopathology of Airborne Mycobacterium tuberculosis Infection in Mice. **Journal Of Experimental Medicine**, v. 193, n. 3, p. 271-280, Jan 2001.

MSTRUP, Jan; NOVAK, Ivana. P2X7 receptor activates extracellular signal-regulated kinases ERK1 and ERK2 independently of Ca2+ influx. **Biochemical Journal**, v. 374, n. 1, p. 51-61, Aug 2003.

NUNES-ALVES, Cláudio; BOOTY, Matthew G.; CARPENTER, Stephen M.; JAYARAMAN, Pushpa; ROTHCHILD, Alissa C.; BEHAR, Samuel M. In search of a new paradigm for protective immunity to TB. **Nature Reviews Microbiology**, v. 12, n. 4, p. 289-299, Mar. 2014.

NUNN, Paul; WILLIAMS, Brian; FLOYD, Katherine; DYE, Christopher; ELZINGA, Gijs; RAVIGLIONE, Mario. Tuberculosis control in the era of HIV. **Nature Reviews Immunology**, v. 5, n. 10, p. 819-826, Oct 2005.

ORME, Ian M.T lymphocytes mediating protection and cellular cytolysis during the course of Mycobacterium tuberculosis infection. Evidence for different kinetics and recognition of a wide spectrum of protein antigens. **Journal of Immunology,** v. 148, p.189-196, 1992.

ORME, Ian M. Development of new vaccines and drugs for TB: limitations and potential strategic errors. **Future Microbiology**, v. 6, n. 2, p. 161-177, Feb 2011.

ORME, Ian M.; BASARABA, Randall J. The formation of the granuloma in tuberculosis infection. **Seminars In Immunology**, v. 26, n. 6, p. 601-609, Dec 2014.

O'GARRA, Anne; REDFORD, Paul S.; MCNAB, Finlay W.; BLOOM, Chloe I.; WILKINSON, Robert J.; BERRY, Matthew P.R. The Immune Response in Tuberculosis. **Annual Review of Immunology**, v. 31, n. 1, p. 475-527, Mar 2013.

OTTENHOFF, Tom H.M; KUMARARATNE, Dinakantha; CASANOVA, Jean-Laurent. Novel human immunodeficiencies reveal the essential role of type-1 cytokines in immunity to intracellular bacteria. **Immunology Today**, v. 19, n. 11, p. 491-494, Nov 1998.

OTTENHOFF, Tom H. M.; KAUFMANN, Stefan H. E. Vaccines against Tuberculosis: where are we and where do we need to go?. **Plos Pathogens**, v. 8, n. 5, p. 1002607, May 2012.

OUYANG, Jing; ZHU, Xiaomei; CHEN, Yuhai; WEI, Haitao; CHEN, Qinghuang; CHI, Xiaojuan; QI, Baomin; ZHANG, Lianfeng; ZHAO, Yi; GAO, George Fu. NRAV, a Long Noncoding RNA, Modulates Antiviral Responses through Suppression of Interferon-Stimulated Gene Transcription. **Cell Host & Microbe**, v. 16, n. 5, p. 616-626, Nov 2014.

PARK, Jae Seuk; TAMAYO, Marcela Henao; GONZALEZ-JUARRERO, Mercedes; ORME, Ian M.; ORDWAY, Diane J. Virulent clinical isolates ofMycobacterium tuberculosisgrow rapidly and induce cellular necrosis but minimal apoptosis in murine macrophages. **Journal Of Leukocyte Biology**, v. 79, n. 1, p. 80-86, Nov 2005.

PIANTA, C.; CAMPOS, R. Tuberculose: histórico, epidemiologia e imunologia, de 1990 a 1999, e co-infecção TB/HIV, de 1998 a 1999 – **Brasil. Boletim da Saúde**. V. 15, n. 1, p. 61-71, 2001.

PIETERS, Jean. Entry and survival of pathogenic mycobacteriain macrophages. **Microbes And Infection**, v. 3, n. 3, p. 249-255, Mar 2001.

PICHLMAIR, Andreas; SCHULZ, Oliver; TAN, Choon Ping; NÄSLUND, Tanja I.; LILJESTRÖM, Peter; WEBER, Friedemann; SOUSA, Caetano Reis e. RIG-I-Mediated

Antiviral Responses to Single-Stranded RNA Bearing 5'-Phosphates. **Science**, v. 314, n. 5801, p. 997-1001, Nov 2006.

PIZZOLLA, Angela; NGUYEN, Thi H. O.; SMITH, Jeffrey M.; BROOKS, Andrew G.; KEDZIERSKA, Katherine; HEATH, William R.; READING, Patrick C.; WAKIM, Linda M. Resident memory CD8+ T cells in the upper respiratory tract prevent pulmonary influenza virus infection. **Science Immunology**, v. 2, n. 12, p. 6970, Jan 2017.

POTTER, C.W. A history of influenza. **Journal Of Applied Microbiology**. v. 91, n. 4, p. 572-9, Oct 2001.

RAVIMOHAN, Shruthi; KORNFELD, Hardy; WEISSMAN, Drew; BISSON, Gregory P. Tuberculosis and lung damage: from epidemiology to pathophysiology. **European Respiratory Review**, v. 27, n. 147, p. 170077, 28 Feb2018.

REILEY, W. W.; SHAFIANI, S.; WITTMER, S. T.; TUCKER-HEARD, G.; MOON, J. J.; JENKINS, M. K.; URDAHL, K. B.; WINSLOW, G. M.; WOODLAND, D. L. Distinct functions of antigen-specific CD4 T cells during murine Mycobacterium tuberculosis infection. **Proceedings ff the National Academy of Sciences**, v. 107, n. 45, p. 19408-19413, Oct 2010.

RIBEIRO, S. C. M.; GOMES, L. L.; AMARAL, E. P.; ANDRADE, M. R. M.; ALMEIDA, F. M.; REZENDE, A. L.; LANES, V. R.; CARVALHO, E. C. Q.; SUFFYS, P. N.; MOKROUSOV, I. Mycobacterium tuberculosis Strains of the Modern Sublineage of the Beijing Family Are More Likely to Display Increased Virulence than Strains of the Ancient Sublineage. **Journal Of Clinical Microbiology**, v. 52, n. 7, p. 2615-2624, 14 May 2014.

RICHMOND, I; PRITCHARD, G e; ASHCROFT, T; A AVERY; A CORRIS, P; WALTERS, E H. Bronchus associated lymphoid tissue (BALT) in human lung: its distribution in smokers and non-smokers. **Thorax**, v. 48, n. 11, p. 1130-1134, Nov 1993.

RIVAS-YÁÑEZ, Elizabeth; BARRERA-AVALOS, Carlos; PARRA-TELLO, Brian; BRICEÑO, Pedro; ROSEMBLATT, Mariana V.; SAAVEDRA-ALMARZA, Juan; ROSEMBLATT, Mario; ACUÑA-CASTILLO, Claudio; BONO, María Rosa; SAUMA, Daniela. P2X7 Receptor at the Crossroads of T Cell Fate. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 14, p. 4937, Jul 2020.

ROY, Michelle G.; LIVRAGHI-BUTRICO, Alessandra; FLETCHER, Ashley A.; MCELWEE, Melissa M.; EVANS, Scott E.; BOERNER, Ryan M.; ALEXANDER, Samantha N.; BELLINGHAUSEN, Lindsey K.; SONG, Alfred S.; PETROVA, Youlia M. Muc5b is required for airway defence. **Nature**, v. 505, n. 7483, p. 412-416, Dec. 2013.

SAKAI, Shunsuke; KAUFFMAN, Keith D.; SCHENKEL, Jason M.; MCBERRY, Cortez C.; MAYER-BARBER, Katrin D.; MASOPUST, David; BARBER, Daniel L. Cutting Edge: control of mycobacterium tuberculosis infection by a subset of lung parenchyma⁝homing cd4 t cells. **The Journal of Immunology**, v. 192, n. 7, p. 2965-2969, Mar 2014.

SALLES, Érika Machado de; MENEZES, Maria Nogueira de; SIQUEIRA, Renan; SILVA, Henrique Borges da; AMARAL, Eduardo Pinheiro; CASTILLO-MÉNDEZ, Sheyla Inés; CUNHA, Isabela; CASSADO, Alexandra dos Anjos; VIEIRA, Flávia Sarmento; OLIVIERI, David Nicholas. P2X7 receptor drives Th1 cell differentiation and controls the follicular helper T cell population to protect against Plasmodium chabaudi malaria. **Plos Pathogens**, v. 13, n. 8, p. e1006595, 31 Aug. 2017.

SALLIN, Michelle A.; SAKAI, Shunsuke; KAUFFMAN, Keith D.; YOUNG, Howard A.; ZHU, Jinfang; BARBER, Daniel L. Th1 Differentiation Drives the Accumulation of Intravascular, Non-protective CD4 T Cells during Tuberculosis. **Cell Reports**, v. 18, n. 13, p. 3091-3104, Mar 2017.

SAUNDERS; FRANK; ORME. Granuloma formation is required to contain bacillus growth and delay mortality in mice chronically infected with Mycobacterium tuberculosis. **Immunology**, v. 98, n. 3, p. 324-328, Nov 1999.

SAUTTO, Giuseppe A.; KIRCHENBAUM, Greg A.; ROSS, Ted M. Towards a universal influenza vaccine: different approaches for one goal. **Virology Journal**, v. 15, n. 1, p. 17, Jan 2018.

SATO, A.T.; Basic and clinical aspects of bronchus-associated lymphoid tissue. Nihon Kokyuki Gakkai Zasshi. **The Journal of the Japanese Respiratory Society**. V. 1, n.38, p. 3-11, Jan 2000.

SATO, Sachiko; ST-PIERRE, Christian; BHAUMIK, Pampa; NIEMINEN, Julie. Galectins in innate immunity: dual functions of host soluble β-galactoside-binding lectins as damage-associated molecular patterns (damps) and as receptors for pathogen-associated molecular patterns (pamps). **Immunological Reviews**, v. 230, n. 1, p. 172-187, Jul 2009.

SCHENK, Ursula; FRASCOLI, Michela; PROIETTI, Michele; GEFFERS, Robert; TRAGGIAI, Elisabetta; BUER, Jan; RICORDI, Camillo; WESTENDORF, Astrid M.; GRASSI, Fabio. ATP Inhibits the Generation and Function of Regulatory T Cells Through the Activation of Purinergic P2X Receptors. **Science Signaling**, v. 4, n. 162, p. ra12-ra12, Mar 2011.

SCHENK, Ursula; WESTENDORF, Astrid M.; RADAELLI, Enrico; CASATI, Anna; FERRO, Micol; FUMAGALLI, Marta; VERDERIO, Claudia; BUER, Jan; SCANZIANI, Eugenio; GRASSI, Fabio. Purinergic Control of T Cell Activation by ATP Released Through Pannexin-1 Hemichannels. **Science Signaling**, v. 1, n. 39, p. 6, Sep 2008.

SEIBERT, C. W.; RAHMAT, S.; KRAUSE, J. C.; EGGINK, D.; ALBRECHT, R. A.; GOFF, P. H.; KRAMMER, F.; DUTY, J. A.; BOUVIER, N. M.; GARCIA-SASTRE, A. Recombinant IgA Is Sufficient to Prevent Influenza Virus Transmission in Guinea Pigs. **Journal of Virology**, v. 87, n. 14, p. 7793-7804, May 2013.

SEMAN, Michel; ADRIOUCH, Sahil; SCHEUPLEIN, Felix; KREBS, Christian; FREESE, Dunja; GLOWACKI, Gustavo; DETERRE, Phillipe; HAAG, Friedrich; KOCH-NOLTE, Friedrich. NAD-Induced T Cell Death. **Immunity**, v. 19, n. 4, p. 571-582, Oct 2003.

SHARMA, Ashish K.; CHARLES, Eric J.; ZHAO, Yunge; NARAHARI, Adishesh K.; BADERDINNI, Pranav K.; GOOD, Miranda E.; LORENZ, Ulrike M.; KRON, Irving L.; BAYLISS, Douglas A.; RAVICHANDRAN, Kodi S. Pannexin-1 channels on endothelial cells mediate vascular inflammation during lung ischemia-reperfusion injury. **American Journal of Physiology-Lung Cellular And Molecular Physiology**, v. 315, n. 2, p. 301-312, 1 ago. 2018.

SIA, Jonathan Kevin; RENGARAJAN, Jyothi. Immunology of Mycobacterium tuberculosis Infections. **Microbiology Spectrum**, v. 7, n. 4, p. 4-7, Ago 2019. American Society for Microbiology.

SON, Young Min; CHEON, In Su; WU, Yue; LI, Chaofan; WANG, Zheng; GAO, Xiaochen; CHEN, Yao; TAKAHASHI, Yoshimasa; FU, Yang-Xin; DENT, Alexander L. Tissue-resident CD4+ T helper cells assist the development of protective respiratory B and CD8+ T cell memory responses. **Science Immunology**, v. 6, n. 55, p. eabb6852, Jan 2021.

SUN, Xiangjie; WHITTAKER, Gary R. Entry of Influenza Virus. **Viral Entry into Host Cells**, p. 72-82, 2006.

SUN, Jie; MADAN, Rajat; KARP, Christopher L; BRACIALE, Thomas J. Effector T cells control lung inflammation during acute influenza virus infection by producing IL-10. **Nature Medicine**, v. 15, n. 3, p. 277-284, Feb 2009.

SWARNALEKHA, Nivedya; SCHREINER, David; LITZLER, Ludivine C.; IFTIKHAR, Saadia; KIRCHMEIER, Daniel; KÜNZLI, Marco; SON, Young Min; SUN, Jie; MOREIRA, Etori Aguiar; KING, Carolyn G. T resident helper cells promote humoral responses in the lung. **Science Immunology**, v. 6, n. 55, p. eabb6808, Jan 2021.

TAKESHITA, Fumihiko; TANAKA, Toshiyuki; MATSUDA, Tomoko; TOZUKA, Miyuki; KOBIYAMA, Kouji; SAHA, Sukumar; MATSUI, Kiyohiko; ISHII, Ken J.; COBAN, Cevayir; AKIRA, Shizuo. Toll-Like Receptor Adaptor Molecules Enhance DNA-Raised Adaptive Immune Responses against Influenza and Tumors through Activation of Innate Immunity. **Journal of Virology**, v. 80, n. 13, p. 6218-6224, Jul 2006.

TAYLOR, Simon R. J.; GONZALEZ-BEGNE, Mireya; DEWHURST, Stephen; CHIMINI, Giovanna; HIGGINS, Christopher F.; MELVIN, James E.; ELLIOTT, James I. Sequential Shrinkage and Swelling Underlie P2X7-Stimulated Lymphocyte Phosphatidylserine Exposure and Death. **The Journal of Immunology**, v. 180, n. 1, p. 300-308, Dec 2007.

THOMPSON, William W.; SHAY, David K.; WEINTRAUB, Eric; BRAMMER, Lynnette; COX, Nancy; ANDERSON, Larry J.; FUKUDA, Keiji. Mortality Associated with Influenza and Respiratory Syncytial Virus in the United States. **Jama**, v. 289, n. 2, p. 179, Jan 2003.

THÜSEN, Jan von Der; EERDEN, Menno. Histopathology and genetic susceptibility in COVID-19 pneumonia. **European Journal of Clinical Investigation**, v. 50, n. 7, p. e13259, Jun 2020.

TORRADO, Egídio; ROBINSON, Richard T.; COOPER, Andrea M. Cellular response to mycobacteria: balancing protection and pathology. **Trends In Immunology**, v. 32, n. 2, p. 66-72, Feb 2011.

TORTORA, G. J. Princípios de Anatomia e Fisiologia Humana. 14 ed. **Rio de Janeiro: Guanabara Koogan**, 2018.

TUMPEY, Terrence M.; GARCÍA-SASTRE, Adolfo; TAUBENBERGER, Jeffery K.; PALESE, Peter; SWAYNE, David E.; PANTIN-JACKWOOD, Mary J.; SCHULTZ-CHERRY, Stacey; SOLÓRZANO, Alicia; VAN ROOIJEN, Nico; KATZ, Jacqueline M. Pathogenicity of Influenza Viruses with Genes from the 1918 Pandemic Virus: functional roles of alveolar macrophages and neutrophils in limiting virus replication and mortality in mice. **Journal of Virology**, v. 79, n. 23, p. 14933-14944, Dec 2005.

TRABULSI, L.R. 5ª edição. **Microbiologia Atheneu,** 2008.

TRIPP, Ralph A., SALLY R. SARAWAR, and PETER C. Doherty. "Characteristics of the influenza virus-specific CD8+ T cell response in mice homozygous for disruption of the H-2lAb gene." **The Journal of Immunology**, v. 155, n. 6, p. 2955-2959, Sep 1995.
TOPHAM, David J.; DOHERTY, Peter C. Clearance of an Influenza A Virus by CD4 + T Cells Is Inefficient in the Absence of B Cells. **Journal of Virology**, v. 72, n. 1, p. 882-885, Jan 1998.

VAN CREVEL, Reinout; OTTENHOFF, Tom H. M.; MEER, Jos W. M. van Der. Innate Immunity to Mycobacterium tuberculosis. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 15, n. 2, p. 294-309, Apr 2002.

VAN DOMSELAAR, Robert; BOVENSCHEN, Niels. Cell death-independent functions of granzymes: hit viruses where it hurts. **Reviews in Medical Virology**, v. 21, n. 5, p. 301-314, Jun 2011.

VIGNALI, Dario A. A.; COLLISON, Lauren W.; WORKMAN, Creg J. How regulatory T cells work. **Nature Reviews Immunology**, v. 8, n. 7, p. 523-532, Jul 2008.

XIE, Q.W.; KASHIWABARA, Y.; NATHAN, C. Role of transcription factor NF-kappa B/Rel in induction of nitric oxide synthase. **Journal of Biological Chemistry**, v. 269, n. 7, p. 4705-4708, Feb 1994.

XU, Rui; MCBRIDE, Ryan; PAULSON, James C.; BASLER, Christopher F.; WILSON, Ian A. Structure, Receptor Binding, and Antigenicity of Influenza Virus Hemagglutinins from the 1957 H2N2 Pandemic. **Journal of Virology**, v. 84, n. 4, p. 1715-1721, Feb 2010.

ZHANG, Ying; POST-MARTENS, Katrin; DENKIN, Steven. New drug candidates and therapeutic targets for tuberculosis therapy. **Drug Discovery Today**, v. 11, n. 1-2, p. 21-27, Jan 2006.

ZHANG, Chengfei; HE, Hongwang; WANG, Li; ZHANG, Na; HUANG, Hongjun; XIONG, Qingqing; YAN, Yan; WU, Nannan; REN, Hua; HAN, Honghui. Virus-Triggered

ATP Release Limits Viral Replication through Facilitating IFN-β Production in a P2X7-Dependent Manner. **The Journal of Immunology**, v. 199, n. 4, p. 1372-1381, Jul 2017.

ZHAO, Yan; ZHANG, Yong-Hong; DENNEY, Laura; YOUNG, Duncan; POWELL, Tim J.; PENG, Yan-Chun; LI, Ning; YAN, Hui-Ping; WANG, Da-Yan; SHU, Yue-Long. High Levels of Virus-Specific CD4+T Cells Predict Severe Pandemic Influenza A Virus Infection. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 186, n. 12, p. 1292-1297, Dec 2012.

ZENS, Kyra D.; FARBER, Donna L. Memory CD4 T Cells in Influenza. **Current Topics in Microbiology and Immunology**, v. 2, p. 399-421, 2014.

WANG, Chiuhui Mary; PLOIA, Cristina; ANSELMI, Fabio; SARUKHAN, Adelaida; VIOLA, Antonella. Adenosine triphosphate acts as a paracrine signaling molecule to reduce the motility of T cells. **The Embo Journal**, v. 33, n. 12, p. 1354-1364, May 2014.

WAKIM, L M; SMITH, J; CAMINSCHI, I; LAHOUD, M H; A VILLADANGOS, J. Antibody-targeted vaccination to lung dendritic cells generates tissue-resident memory CD8 T cells that are highly protective against influenza virus infection. **Mucosal Immunology**, v. 8, n. 5, p. 1060-1071, Jan 2015.

WEI, Haitao; WANG, Song; CHEN, Qinghuang; CHEN, Yuhai; CHI, Xiaojuan; ZHANG, Lianfeng; HUANG, Shile; GAO, George F.; CHEN, Ji-Long. Suppression of Interferon Lambda Signaling by SOCS-1 Results in Their Excessive Production during Influenza Virus Infection. **Plos Pathogens**, v. 10, n. 1, p. e1003845, Jan 2014.

WHITMIRE, Jason K.; TAN, Joyce T.; WHITTON, J. Lindsay. Interferon-γ acts directly on CD8+ T cells to increase their abundance during virus infection. **Journal of Experimental Medicine**, v. 201, n. 7, p. 1053-1059, Apr 2005.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (2021) Global Tuberculosis Report 2020.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (2020) Global Tuberculosis Report 2019.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (2019) Global Tuberculosis Report 2018.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (2015) Global Tuberculosis Report 2014.

YEGUTKIN, Gennady G. Nucleotide- and nucleoside-converting ectoenzymes: Important modulators of purinergic signalling cascade. Biochimica Et Biophysica Acta (bba) - **Molecular Cell Research,** v. 1783, n. 5, p.673-694, May 2008.