

AÇÃO DO ATP E DA MELATONINA NA TEMPESTADE DE CITOCINAS E OS RECEPTORES PURINÉRGICOS P2X1R NO PROGNÓSTICO DA COVID-19

JOANA BORTOLANZA DALAZEN^{1,2*}, JOANA VITÓRIA CASSOL³, JÚLIA LEÃO BATISTA SIMÕES⁴, ALANA PATRÍCIA DA SILVA⁵, MARGARETE DULCE BAGATINI^{2,6}

1 Introdução

O novo coronavírus além de um grande desafio para a humanidade atual, mostra-se muito presente na temática da saúde mental, como a ansiedade e a depressão. O mecanismo de ação desse vírus envolve a infecção de células no pulmão, ativando uma resposta inflamatória exacerbada que resulta em uma cascata de reações, com o aumento da produção de citocinas, fator de necrose tumoral (TNF- α), e interferon do tipo 1 (IFN-1) (PROMPETCHARA, 2020). Diversos estudos têm relacionado o papel imunomodulatório do ATP e seu efeito anti-inflamatório (HUANG et al., 2020). No sistema purinérgico, a adenosina, produto da decomposição do ATP tem ação imunossupressora primária pela inibição da proliferação de células T e da liberação de citocinas pró-inflamatórias (LAI et al., 2020). Isso ocorre devido à hidrólise do ATP no meio extracelular pela ação da ectonucleotidases NTPDase em adenosina 5'-difosfato (ADP) e ADP em adenosina monofosfato (AMP) (BAGATINI et al., 2019). Por conseguinte, a ecto-5'-nucleotidase converte AMP em adenosina, que por fim é degradada à inosina pela ação da adenosina desaminase (ADA). Dessa forma, o ATP e a imunomodulação provocada pelo sistema purinérgico podem contribuir para reduzir os danos provocados pela SARS ou impedir a sua progressão na COVID-19 (PINTO et al., 2020). Assim, o sistema purinérgico está envolvido nessa resposta imune, pois as células produzem ATP como resposta ao estresse celular, e as espécies reativas de oxigênio (EROs) são aumentadas com a ligação ao receptor da enzima conversora de angiotensina (ECA2) e a proteína Spike do vírus. Em situações normais, a ECA2 é responsável pela conversão da Angiotensina II em Angiotensina 1-7, tendo uma função anti-inflamatória (ZHOU et al., 2020). No entanto, quando a ECA2 se liga à proteína S, essa conversão é inibida, aumentando os níveis de Angiotensina II (AngII) e, consequentemente, a produção de EROs (HUANG et al., 2020). Concomitantemente, a



inflamação e a ação do sistema purinérgico, especificamente o receptor P2Y1, a melatonina pode controlar partes da inflamação (PROMPETCHARA, 2020). Vários estudos indicam que certos níveis de melatonina inibiram o P2Y1R, evitando os estímulos para a adesão e rolamento de monócitos em células endoteliais de ratos.

2 Objetivo

O objetivo geral deste manuscrito foi avaliar a ação adjuvante de um novo tratamento para a COVID-19, através do uso de um hormônio humano natural, a melatonina, com ação moduladora sobre a infecção causada pelo SARS-CoV-2. Além disso, avaliar a ação do ATP sobre a viabilidade celular.

3 Metodologia

Este trabalho consiste inicialmente em uma revisão de literatura, sendo desenvolvido através da busca de artigos, principalmente, na plataforma "*Pubmed*", por intermédio do uso das palavras-chaves: estresse oxidativo; COVID-19; Saúde Mental; Sinalização Purinérgica; Sistema Purinérgico; Melatonina; P2Y1R. Os artigos foram selecionados e lidos de forma integral, focando-se na ideia central da revisão: a ação moduladora da melatonina na inflamação e sua atividade sobre o sistema purinérgico.

Em concomitância foi realizado o cultivo celular em estufa de CO₂ à 37C°, com meio de cultura Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM), suplementado com 10% de Soro Fetal Bovino (SFB), 1% de antibiótico penicilina/estreptomicina e antifúngico anfotericina B, conforme Peres e Curi (2005) e as instruções do Banco de Células do Rio de Janeiro (BCRJ). Após incubação, verificou-se a confluência celular, correspondente a 10⁵ células/campo e procedeu-se o tratamento utilizando adenosina trifosfato (ATP). As amostras foram incubadas por 24 horas com o tratamento para posterior avaliação da viabilidade celular.

4 Resultados e Discussão

A melatonina apresenta um potencial antiviral contra diversas infecções devido às suas propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias, imunorreguladoras, e aos seus efeitos neuroprotetores (WONGCHITRAT et al., 2021). Como mencionado, o receptor ECA2 é crucial para a fisiopatologia da COVID-19. Nesse contexto, demonstrou-se que níveis

elevados de melatonina inibem a *downregulation* do ECA2, prevenindo a geração da tempestade de citocinas, evento caracterizado pelo aumento massivo de citocinas inflamatórias e EROs (CARDINALI et al., 2020). Outro evento no agravamento da COVID-19 é a permeabilidade aumentada do endotélio vascular (MULLER, 2016), estimulada inclusive pela liberação de ATP extracelular, resultante dos danos celulares que a invasão viral causa. Essa molécula atua nos receptores purinérgicos P2, sendo o P2Y1R de destaque no fenômeno da inflamação endotelial (POBER, SESSA, 2007; HECHLER, GACHET, 2015; ZERR et al., 2011). Diante disso, a melatonina atua como inibidor do receptor P2Y1R, evitando a inflamação endotelial e, conseqüentemente, evitando a migração leucocitária e a maciça liberação de moléculas pró-inflamatórias (MARÇOLA et al., 2013).

No estudo experimental, foi possível analisar a viabilidade do cultivo celular no tratamento com ATP em diferentes concentrações. Assim, foram encontrados resultados com significância nas células do grupo A tratadas com ATP em todas as concentrações, exceto em 500 $\mu\text{M/mL}$, enquanto os valores no grupo B seguiram ordem crescente mas sem significância entre os resultados, conforme a figura 1A e 1B.

Fig. 1A

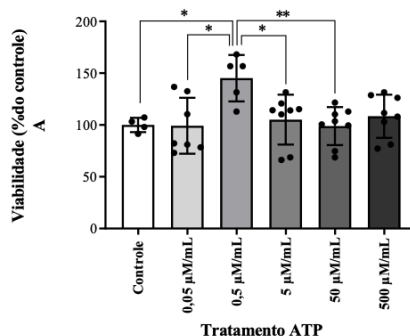


Fig. 1B

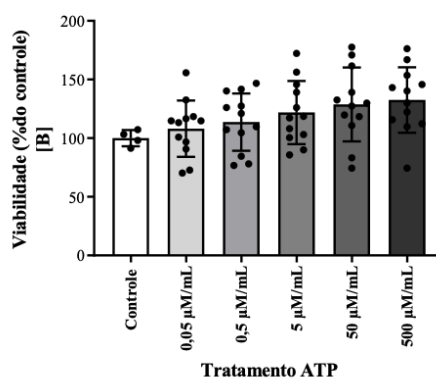




Figura 1. Viabilidade celular, em % do controle, dividido em grupo A (inflamadas) e grupo B (não inflamadas) no tratamento com o ATP, no qual (*) indica o nível de significância do resultado.

5 Conclusão

Considerando os efeitos positivos que a melatonina apresenta na modulação do sistema purinérgico, através de mecanismos expressivos no processo patológico da COVID-19, este trabalho mostra como esse hormônio natural pode ajudar a evitar efeitos adversos e graves. Portanto, a melatonina poderia ser um tratamento adjuvante alternativo à COVID-19, em concomitância com uma possível melhora na saúde mental devido às suas múltiplas vias de ação. Da mesma forma, o ATP atua na melhora da viabilidade celular de células inflamadas.

Referências Bibliográficas

- BAGATINI, M. D. et al. 1α , 25-Dihydroxyvitamin D3 alters ectonucleotidase expression and activity in human cutaneous melanoma cells. **Journal of Cellular Biochemistry**, v. 120, n. 6, p. 9992–10000, 2019.
- CARDINALI, Daniel P.; BROWN, Gregory M.; REITER, Russel J.; *et al.* Elderly as a High-risk Group during COVID-19 Pandemic: Effect of Circadian Misalignment, Sleep Dysregulation and Melatonin Administration. **Sleep and Vigilance**, v. 4, n. 2, p. 81–87, 2020.
- HECHLER, Béatrice; GACHET, Christian, Purinergic Receptors in Thrombosis and Inflammation, **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 35, n. 11, p. 2307–2315, 2015. doi: 10.1161/ATVBAHA.115.303395.
- HUANG, Zhao; XIE, Na; ILLES, Peter; *et al.* From purines to purinergic signalling: molecular functions and human diseases. **Signal Transduction and Targeted Therapy**, v. 6, n. 1, p. 1–20, 2021. doi: 10.1038/s41392-021-00553-z
- LAI, C.-C. et al. Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) and coronavirus disease-2019 (COVID-19): The epidemic and the challenges. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 55, n. 3, p. 105924, 2020.
- MARÇOLA, Marina; DA SILVEIRA CRUZ-MACHADO, Sanseray; FERNANDES, Pedro Augusto Carlos Magno; *et al.* Endothelial cell adhesiveness is a function of environmental lighting and melatonin level. **Journal of Pineal Research**, v. 54, n. 2, p. 162–169, 2013. doi: 10.1111/j.1600-079X.2012.01025.x.

MULLER, William A., Transendothelial Migration: Unifying Principles from the Endothelial Perspective, **Immunological reviews**, v. 273, n. 1, p. 61–75, 2016 doi: 10.2174/138161212803582504

PINTO, B. G. et al. **ACE2 Expression is Increased in the Lungs of Patients with Comorbidities Associated with Severe COVID-19.** [s.l.] Genetic and Genomic Medicine, 27 mar. 2020. Disponível em: <<http://medrxiv.org/lookup/doi/10.1101/2020.03.21.20040261>>. Acesso em: 8 abr. 2020.

POBER, Jordan S.; SESSA, William C., Evolving functions of endothelial cells in inflammation, **Nature Reviews. Immunology**, v. 7, n. 10, p. 803–815, 2007. doi: 10.1038/nri2171.

PROMPETCHARA, Eakachai; KETLOY, Chutitorn; PALAGA, Tanapat. Immune responses in COVID-19 and potential vaccines: Lessons learned from SARS and MERS epidemic. **Asian Pacific Journal of Allergy and Immunology**, v. 38, n. 1, p. 1–9, 2020. doi: <https://doi.org/10.12932/ap-200220-0772>

WONGCHITRAT, Prapimpun; SHUKLA, Mayuri; SHARMA, Ramaswamy; *et al.* Role of Melatonin on Virus-Induced Neuropathogenesis-A Concomitant Therapeutic Strategy to Understand SARS-CoV-2 Infection. **Antioxidants (Basel, Switzerland)**, v. 10, n. 1, p. E47, 2021. doi: 10.3390/antiox10010047.

ZERR, Murielle; HECHLER, Béatrice; FREUND, Monique; *et al.* Major contribution of the P2Y₁ receptor in purinergic regulation of TNF α -induced vascular inflammation. **Circulation**, v. 123, n. 21, p. 2404–2413, 2011. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.110.002139.

ZHOU, F. et al. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. **The Lancet**, v. 395, n. 10229, p. 1054–1062, 2020a.

Palavras-chave: Melatonina; Estresse oxidativo; COVID-19; Saúde Mental; Sinalização Purinérgica.

Nº de Registro no sistema Prisma: PES-2021-0195.

Financiamento: UFFS e CNPq