

## Regulação purinérgica do sistema hematopoético

Kamylla Fernanda Souza de Souza  
Luciana Rocha Costa  
Edgar J. Paredes-Gamero  
Jeandre Augusto dos Santos Jaques

SciELO Books / SciELO Livros / SciELO Libros

SOUZA, K. F. S., COSTA, L. R., PAREDES-GAMERO, E., and JAQUES, J. A. S. Regulação purinérgica do sistema hematopoético. In: CARDOSO, A. M., MANFREDI, L. H., and MACIEL, S. F. V. O., eds. *Sinalização purinérgica: implicações fisiopatológicas* [online]. Chapecó: Editora UFFS, 2021, pp. 190-210. ISBN: 978-65-86545-47-0. <https://doi.org/10.7476/9786586545494.0011>.



All the contents of this work, except where otherwise noted, is licensed under a [Creative Commons Attribution 4.0 International license](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

Todo o conteúdo deste trabalho, exceto quando houver ressalva, é publicado sob a licença [Creative Commons Atribuição 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

Todo el contenido de esta obra, excepto donde se indique lo contrario, está bajo licencia de la licencia [Creative Commons Reconocimiento 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

# REGULAÇÃO PURINÉRGICA DO SISTEMA HEMATOPOÉTICO

*Kamylla Fernanda Souza de Souza*  
*Luciana Rocha Costa*  
*Edgar J. Paredes-Gamero*  
*Jeandre Augusto dos Santos Jaques*

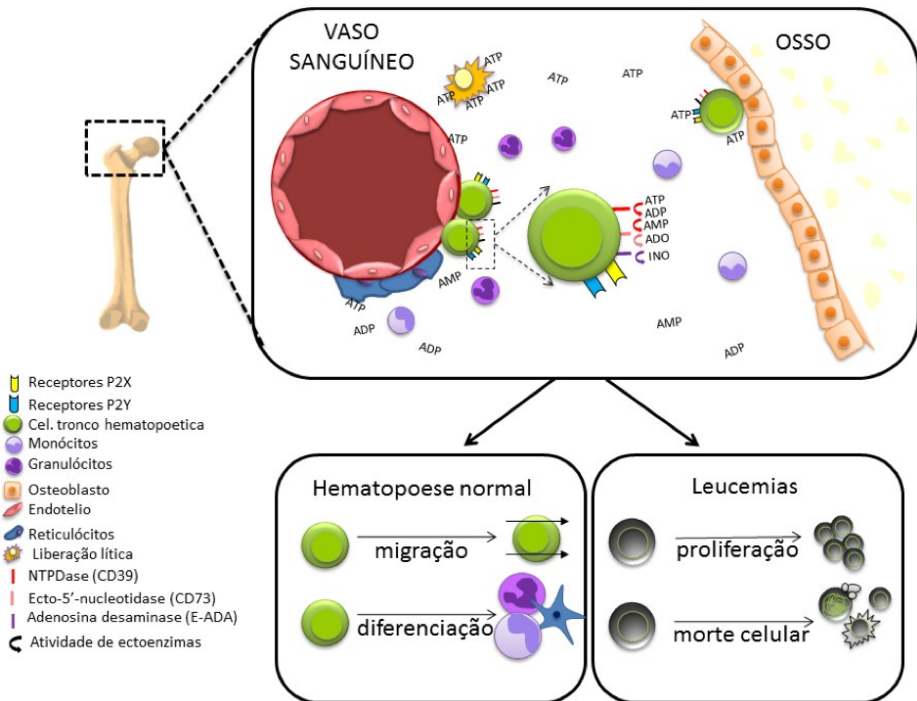
## INTRODUÇÃO

A regulação da quiescência, autorenovação, proliferação, diferenciação, e morte da célula-tronco hematopoética (CTH) é o âmago deste sistema. Este processo, conhecido como hematopoese, é regulado por diversos sinalizadores humorais, principalmente por moléculas conhecidas como citocinas. Entretanto, ademais das citocinas, outros sinalizadores, como o ATP, também são relevantes neste processo. O ATP é um sinalizador importante em diversos sistemas, mas intriga a forma de regulação do sistema hematopoético, porque os receptores de ATP – P2 são expressos desde as células mais primitivas hematopoéticas, até os diferentes tipos de células maduras deste sistema. Além dos receptores P2, enzimas que degradam o ATP em metabólitos como ADP e adenosina fazem parte desta regulação formando um complexo esquema de regulação purinérgica (Figura 1).

Embora o papel mais marcante e investigado dos receptores P2 seja em processos de regulação do sistema imune, recentes trabalhos vêm mostrando o papel fundamental da regulação purinérgica no desenvolvimento hematopoético e as consequências biológicas das alterações na expressão e função dos receptores e enzimas que regulam o sistema purinérgico. Neste capítulo, descreveremos as

funções conhecidas dos receptores P2 e das enzimas CD39 e CD73 no desenvolvimento normal da hematopoese, e as alterações observadas em cânceres hematológicos.

**Figura 1:** Componentes do sistema purinérgico no microambiente hematopoético



Fonte: autores (2019).

- \* Diferentes sinalizadores autócrinos e parácrinos modulam a regulação das CTH. Além dos mecanismos líticos de liberação do ATP, o endotélio dos vasos sanguíneos e os osteoblastos secretam ATP, entre outros sinalizadores. O ATP regula a CTH normal e leucêmica por ativação de receptores P2 que podem ser do tipo ionotrópicos (P2X) e metabotrópicos (P2Y). Entre as principais funções da ativação de receptores pode-se citar a diferenciação e a migração de CTH, bem como a indução de proliferação ou morte celular de células leucêmicas. O ATP pode ser

degradado por ectonucleotidases, como a CD39 e a CD73, gerando ADP, AMP, ADO e INO, que ativam outros receptores, como os receptores P1. Todos os processos que envolvem desde a liberação do ATP, sua degradação e a ativação de diferentes receptores P2 e P1 mostram a presença de uma complexa regulação purinérgica da CTH normal e leucêmica.

### **Função dos receptores P2 na hematopoese**

Entre as primeiras descrições de participação dos receptores purinérgicos em células do sistema hematopoético, pode-se destacar o trabalho de Cockcroft & Gomperts (1980) em mastócitos. Neste estudo, observou-se que o ATP produz a liberação de histamina e secreção de metabólitos (Cockcroft e Gomperts, 1980). Um receptor em particular foi descrito em macrófagos, na linhagem murina J774, chamado inicialmente de receptor P2Z (Steinberg e Silverstein, 1987) e atual receptor P2X7 (Surprenant *et al.*, 1996). A ativação do receptor P2X7 leva à abertura de um canal iônico e à formação de um poro capaz de permitir a passagem de moléculas de até 900 Da (Steinberg e Silverstein, 1987; Surprenant *et al.*, 1996). Posteriormente, o receptor P2X7 foi descrito em monócitos e macrófagos de diversas origens (Naumov *et al.*, 1992; Hickman *et al.*, 1994; Nuttle e Dubyak, 1994; Paredes-Gamero *et al.*, 2004). Porém, não é o único receptor expresso em macrófagos; pelo contrário, é comum que células primárias expressem mais de um receptor P2.

Além dos monócitos/macrófagos, outras células mieloides expressam os receptores P2 como eosinófilos (Idzko *et al.*, 2001; Mohanty *et al.*, 2001; Muller *et al.*, 2010; Wright *et al.*, 2016), granulócitos (Cockcroft e Stutchfield, 1989; Balazovich e Boxer, 1990; Suh *et al.*, 2001; Paredes-Gamero *et al.*, 2007), eritrócitos e eritroblastos (Hoffman *et al.*, 2004; Sluyter *et al.*, 2004; Paredes-Gamero *et al.*, 2006), plaquetas (Hall e Hourani, 1994; Turner *et al.*, 2001), além dos diferentes tipos de linfócitos. Embora este tema tenha sido abordado em revisões anteriores (Di Virgilio *et al.*, 2001; Burnstock, 2015), uma completa caracterização molecular e farmacológica dos receptores P2 nos diferentes tipos de células hematopoéticas ainda é necessária.

Apesar de ser conhecido que as células hematopoéticas expressam receptores P2, seu envolvimento com a hematopoese ainda não foi totalmente elucidado.

Até o momento, a presença destes receptores, mesmo nas células mais indiferenciadas, e a variação da expressão com a diferenciação, indica uma provável participação na hematopoese. As células endoteliais e os osteoblastos, que podem liberar ATP (Orriss *et al.*, 2009; Alvarenga *et al.*, 2010; Lim To *et al.*, 2015), são células presentes nos diferentes nichos medulares nos quais a CTH habita, podendo regular a atividade da CTH por liberação do ATP e outras moléculas sinalizadoras (Nogueira-Pedro *et al.*, 2014).

Mostrou-se que o ATP atuou sinergicamente com citocinas, aumentando o número de células hematopoéticas primitivas humanas CD34<sup>+</sup> em culturas de metilcelulose (Lemoli *et al.*, 2004). Essas células primitivas humanas CD34<sup>+</sup> expressaram vários receptores P2: P2Y1, P2Y2, P2Y12, P2X1-7 (Lemoli 2004, Wang *et al.* 2004). Ademais, o estímulo com UTP aumenta a migração das CTH, inibe a *down-regulation* do receptor de quimiocinas CXC do tipo 4 (CXCR4) e aumenta a adesão à fibronectina de células CD34<sup>+</sup> humanas *in vitro* (Rossi *et al.*, 2007). Em experimentos *in vivo*, utilizando animais imunodeficientes, mostrou-se que o estímulo das células CD34<sup>+</sup> humanas com UTP aumentou a eficiência do *homing* (ROSSI *et al.*, 2007). A modulação direta da diferenciação de células primitivas hematopoéticas pelo ATP também foi reportada. O ATP e seus análogos, diferente das citocinas, produziram grandes aumentos da concentração de cálcio citoplasmático ( $[Ca^{2+}]_{cit}$ ) levando à diferenciação mieloide das células primitivas hematopoéticas em culturas de medula óssea (Paredes-Gamero *et al.*, 2008). Posteriormente, um estudo mostrou que a diferenciação promovida pelo ATP afetou principalmente as populações de CTH e progenitor mieloide comum de granulócitos/monócitos (Barbosa *et al.*, 2011). Também foi descrito que o ATP reduziu o número de células primitivas hematopoéticas aumentando a população mieloide Gr-1<sup>+</sup>Mac-1<sup>+</sup>, diminuiu a expressão do receptor Notch-1 e reduziu a quiescência e a capacidade de enxerto da CTH (Barbosa *et al.*, 2011). Outro aspecto interessante que se observou foi que o aumento da  $[Ca^{2+}]_{cit}$  pelo ATP reduziu-se na presença de citocinas, como interleucina-3 e *stem cell factor* nas CTH, e que estas citocinas inibiram a diferenciação das CTH induzida pelo ATP (Barbosa *et al.*, 2011).

Um receptor P2 descrito na modulação hematopoética é o receptor P2Y14. Em condições normais, a ausência do receptor em animais nocautes P2Y14<sup>-/-</sup> não afetou a biologia das células do sistema hematopoético. Porém, em situações de estresse – radiação, envelhecimento, quimioterapia e transplante –, o padrão

de senescência e morte celular das CTH foram modificados, observando-se aumento de espécies reativas de oxigênio, expressão elevada de p16<sup>INK4a</sup>, além de hipofosforilação da Proteína de Retinoblastoma (Cho *et al.*, 2014).

A participação do receptor P2X7 na hematopoese também foi destacada. A quantificação do receptor P2X7 mostrou baixa expressão em CTHs murinas; entretanto, a superexpressão deste receptor nessa população, por transfecção viral, reduziu o potencial de enxerto, em ensaio *in vivo*, elevou a diminuição da capacidade de formação de colônias, afetando, principalmente, as colônias mais primitivas em ensaios *in vitro*, principalmente da unidade formadora de colônias de granulócitos-eritrócitos-macrófagos-megacariócitos (Feng *et al.*, 2016). A mobilização das CTH é importante em processos de resposta imune por dano às células dos tecidos ou em resposta a fármacos mobilizadores de CTH, como o fator estimulador de colônias de granulócitos, uma citocina fisiológica. A mobilização das CTH foi afetada pela liberação de ATP, via panexina-1, e a formação do seu metabólito adenosina, sendo que animais nocautes P2X7<sup>-/-</sup> apresentaram baixa mobilização (Adamiak *et al.*, 2018).

## Receptores purinérgicos e leucemia

O papel dos receptores purinérgicos na leucemia vem sendo estudado com o objetivo de detectar possíveis alterações que possam ser usadas em diagnósticos, prognósticos e tratamentos. Esses receptores são expressos em linhagens estabelecidas e células primárias leucêmicas, sendo que são encontrados diferentes subtipos ativados por nucleotídeos, dificultando o estudo farmacológico dos mecanismos de ação e do efeito final.

Estudos iniciais mostraram a presença dos receptores P2 em linhagens leucêmicas, como a HL-60 (leucemia promielocítica aguda) e CB1 (leucemia linfoblástica aguda) (Biffen e Alexander, 1994; Montero *et al.*, 1995). A variação da expressão e da resposta funcional de receptores P2 durante a diferenciação mieloide, em células leucêmicas, foi relatada, em especial, usando a linhagem HL-60 (Montero *et al.*, 1995; Adrian *et al.*, 2000; Communi *et al.*, 2000).

A expressão e função do receptor P2X7 são mais avaliadas por suas características únicas e as ferramentas farmacológicas que ele possui. A ativação do receptor P2X7 foi inicialmente correlacionada com a morte celular por sua capacidade de

formar poros na membrana (Steinberg; Silverstein, 1987; Surprenant *et al.*, 1996; Zoetewij *et al.*, 1996; schulze-Lohoff *et al.*, 1998), porém também foi relacionado com a proliferação celular (Yu *et al.*, 2010). Em leucemias, a participação do receptor P2X7 na proliferação e morte celular por apoptose, necrose ou piroptose foi descrita. Em estudos iniciais, constatou-se que o receptor P2X7 foi altamente expresso nas linhagens U-937 (linfoma histocítico) e KG-1 (leucemia mieloide aguda). Nas linhagens HL-60 e J6-1 (leucemia mieloide), o receptor P2X7 teve expressão moderada, enquanto que, nas linhagens K562 (leucemia mieloide crônica) e linhagens de linfoma de Burkitt (Raji e Ramos), a expressão não foi detectada (Zhang *et al.*, 2004). Outro estudo também relatou a expressão funcional do receptor P2X7 em células KG-1 (Gadeock *et al.*, 2012). Na linhagem celular de eritroleucemia murina, o receptor P2X7 foi responsável por induzir morte celular e liberação de micropartículas (Constantinescu *et al.*, 2010).

Em leucemias mieloides, alguns estudos identificaram alterações na expressão gênica de receptores P2. Em células extraídas de pacientes com leucemia mieloide aguda (LMA), os receptores P2X1, P2X4, P2X5 e P2X7 são mais expressos em relação às células normais, enquanto que P2X2, P2X3 e P2X6 não são detectados (Zhang *et al.*, 2004). Dentre os receptores regulados positivamente em casos de LMA, destaca-se o receptor P2X7. A alta expressão do receptor P2X7 foi relacionada com recidiva em leucemias agudas em crianças, enquanto que a diminuição da expressão do receptor foi observada após o tratamento quimioterápico (Chong *et al.*, 2010). Os efeitos antiproliferativos observados em células blásticas e em células-tronco leucêmicas de pacientes LMA, após estímulo com ATP, sem que o mesmo efeito seja observado em células normais, geram expectativas para terapias inovadoras (Salvestrini *et al.*, 2012; Salvestrini *et al.*, 2017).

A leucemia linfocítica crônica de células B (B-LLC) é a leucemia com maior frequência entre os adultos no mundo ocidental. Causada pela expansão clonal de linfócitos B, caracteriza-se pela perda da capacidade apoptótica dos linfócitos leucêmicos CD5+ que se acumulam na circulação. Os sinais clínicos divergem, pois a doença possui duas variantes – a indolente e a progressiva – e dois subtipos, sendo um com mutações somáticas na região variável de cadeia pesada da imunoglobulina e outro não mutado (Hamblin *et al.*, 1999; Di Virgilio; Wiley, 2002). A expressão do receptor P2X7 foi correlacionada com a gravidade da doença em pacientes com B-LLC (Adinolfi *et al.*, 2002). Em casos de pacientes que apresentavam a forma mais agressiva da doença, a expressão do receptor P2X7

foi maior, até mesmo em condições desfavoráveis, como baixa disponibilidade de fatores de crescimento (Adinolfi *et al.*, 2002).

Dentre os numerosos polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) do receptor P2X7, o 1513A->C é muito estudado em relação ao câncer e se caracteriza pela substituição de adenina por citosina na posição 1513, que, em vez de gerar o aminoácido ácido glutâmico na cauda C-terminal do receptor P2X7, gera uma alanina. Alguns estudos investigaram a relação do polimorfismo 1513 A->C com a B-LLC. Inicialmente, foi proposto que a perda de função do receptor causada por essa mutação favoreceria efeitos antiapoptóticos e, consequentemente, aumentaria a patogênese (Wiley *et al.*, 2002). Outro estudo mostrou que este polimorfismo estava correlacionado com a melhora nos resultados clínicos na B-LLC, aumentando a sobrevida dos pacientes (Thunberg *et al.*, 2002). Nos anos seguintes, os estudos correlacionaram pacientes saudáveis e pacientes com B-LLC familiar e/ou esporádica, e a relação do polimorfismo 1513 A->C com essa doença foi invalidada em todos os aspectos estudados anteriormente: patogênese, progressão, diagnóstico e sobrevida (Starczynski *et al.*, 2003; Zhang *et al.*, 2003; Nüchel *et al.*, 2004; Sellick *et al.*, 2004).

### **NTPDase (CD39) e ecto-5'-nucleotidase (CD73) na regulação do sistema hematopoético normal e leucêmico**

O papel de ectonucleotidasas – NTPDase (CD39) e ecto-5'-nucleotidase (CD73), por exemplo – na imunomodulação e nas interações célula-célula vem sendo estudado em diferentes condições clínicas relacionadas às alterações no sistema imunológico.

A atividade ectonucleotidase pode também estar associada com a regulação do estado indiferenciado das CTH. Além do efeito de diferenciação do ATP em CTH murinas, também foi observado que as CTH tinham uma maior expressão de CD39 e CD73 em relação a células hematopoéticas mais maduras, e a população de células primitivas c-Kit<sup>+</sup> exibiu uma maior atividade ectonucleotidase do que as células totais da medula óssea ou células CD45-Ter119- (Barbosa *et al.*, 2011). Um estudo mostrou que uma população de linfócitos T regulatórios são CD150<sup>high</sup> e estão localizados no nicho das CTH da medula óssea (Hirata *et al.*, 2018). A redução de linfócitos regulatórios da medula óssea, obtida por deleção



condicionada de CXCR4 nesta população, aumentou o número de CTH na medula óssea (Hirata *et al.*, 2018). Animais com expressão condicionada de CD39 em linfócitos T regulatórios CD150<sup>high</sup> mostraram que a adenosina extracelular, gerada pela atividade da enzima CD39, protege as CTH do estresse oxidativo e mantém as CTH quiescentes (Hirata *et al.*, 2018). O mesmo grupo mostrou também que esta população de linfócitos T regulatórios convencionais e CD150<sup>high</sup> modulam a CTH via a atividade da enzima CD73 (Hirata *et al.*, 2018). A deleção da enzima CD73 aumentou o número, a frequência de ciclo celular e as espécies reativas de oxigênio das CTH (Hirata *et al.*, 2018). O uso de antioxidantes inibiu o aumento das CTH em animais nocautes para CD73, mantendo as células quiescentes (Hirata *et al.*, 2018). Assim, a atividade das enzimas CD39 e CD73 impediu a diferenciação das células CTH pelo ATP, devido à produção de adenosina que manteria as células quiescentes.

Outras atividades relatadas das enzimas CD39 e CD73 são em doenças leucêmicas, por exemplo, na leucemia linfóide crônica (LLC) e na leucemia linfoblástica aguda (LLA) (Schetinger *et al.*, 2007).

Linfócitos T reguladores de pacientes com LLC apresentaram marcadores, dentre eles, a CD39, associados a um aumento na atividade supressora nestas células (Biancotto *et al.*, 2012). A expressão aumentada de CD39 foi identificada nos linfócitos T de sangue periférico de pacientes com LLC, sendo mais elevada nos estágios mais avançados da doença (Pulte *et al.*, 2007; Abousamra *et al.*, 2015).

A expressão aumentada de linfócitos T CD4<sup>+</sup> CD39<sup>+</sup> no sangue periférico de pacientes com LLC correlaciona-se também com casos em que há necessidade de intervenção terapêutica. No entanto, um aumento ainda maior de linfócitos CD4<sup>+</sup> CD39<sup>+</sup> foi observado na medula óssea desses pacientes, possivelmente devido à exposição dessas células ao ATP, colaborando para a formação de um ambiente imunossupressivo (Perry *et al.*, 2012).

A LLC raramente apresenta trombose como uma de suas complicações, o que pode ser explicado pela presença de CD39 na superfície das células tumorais, nas quais apresenta atividade enzimática alta, promovendo inibição da agregação e recrutamento plaquetário por meio da hidrólise de ADP em AMP (Pulte *et al.*, 2011).

A inibição de CD39 tem sido sugerida principalmente como alvo para uma nova terapia imune para LLC, visto que sua atividade enzimática inibe as respostas

de linfócitos T e células *natural killer* (NK) devido à hidrólise de ATP em ADP, e suprime o sistema imunológico (Mosaad Zaki *et al.*, 2018).

Há uma expressão aumentada de CD73 em casos de LLC em áreas correspondentes ao centro de proliferação e região perivascular ao tumor. Sua atividade enzimática, com conseqüente aumento da adenosina extracelular, propicia uma significativa regulação negativa de respostas quimiotáticas por quimiocinas CXCL12(CXCL12) via ativação de receptores A2A (SERRA *et al.*, 2011). Já a expressão de CD73 em linfócitos T de sangue periférico se encontra diminuída em pacientes com LLC (Pulte *et al.*, 2011). A expressão de CD73 em células de LLC está associada com a agressividade do tumor, evidenciando a importância de seu estudo também como potencial alvo terapêutico (Allard *et al.*, 2016).

Inibir a formação de adenosina e sua sinalização pode ser uma forma de combater as condições locais favoráveis ao tumor. Combinando essa nova terapia com fármacos que atingem diretamente o tumor ou restauram as funções imunes, é possível desenvolver novas estratégias de tratamento para doenças como a LLC (Serra *et al.*, 2016).

Com a realização do perfil transcriptômico em pacientes com LLC com trissomia do cromossomo 12 como a única anomalia citogenética, identificou-se um conjunto único de genes diferencialmente expressos, dos quais se destacaram os genes codificantes da CD73 (Abruzzo *et al.*, 2018).

A expressão de CD73 nas células da medula óssea não influencia o prognóstico de crianças com LLA (Wieten *et al.*, 2011). No entanto, a identificação de CD73 por citometria de fluxo pode ser utilizada como marcador de doença residual mínima em pacientes com LLA de células B. O marcador CD73 foi detectado nestes pacientes antes do tratamento, porém, somente após o início da quimioterapia, se observou uma expressão elevada (Wang *et al.*, 2016).

Uma busca por novos marcadores para detecção de doença residual mínima apresentou CD73 superexpressa em 54,5% de amostras de medula óssea em pacientes com LLA recentemente diagnosticada na infância (Coustan-Smith *et al.*, 2011). A expressão aumentada de CD73 foi detectada em 90,41% dos casos de LLA de células B, indicando que a adição deste marcador como indicador prognóstico pode contribuir na identificação de doença residual mínima (Jain *et al.*, 2018).

CD73 foi o marcador para identificação de doença residual mínima mais estável em estudo com pacientes pediátricos com LLA precursora B, apresentando

expressão estável ou elevada em 95% dos casos após 15 dias do início da terapia (Sedek *et al.*, 2018; Tembhare *et al.*, 2018).

Contudo, pacientes com LMA expressaram quantidades similares de CD73 quando comparados com indivíduos saudáveis, e suas células-tronco mesenquimais derivadas da medula óssea também expressaram marcadores de superfície celular e proteínas de adesão semelhantes ao controle (Huang *et al.*, 2015).

Estudos com clones de linfócitos T leucêmicos resistentes a apoptose (A4) sugerem que o CD73 faz parte de um programa antiapoptótico complexo não específico. Essas células apresentaram expressão de CD73 em sua superfície e atividade enzimática significativa, inibindo a sinalização TRAIL (*TNF-related apoptosis-inducing ligand*) por meio de uma interação com o receptor de morte 5, colocalizado na membrana plasmática (Mikhailov *et al.*, 2008).

Como consequência da expressão de ecto-enzimas como CD39 e CD73, altos níveis de adenosina extracelular são detectados especialmente na LLC. A adenosina extracelular possui influência na progressão da doença por meio da ativação de receptores A2A, dificultando a ação de células do sistema imune e aumentando a sobrevivência das células leucêmicas. A modulação da resposta imune, angiogênese e liberação de citocinas no microambiente tumoral é influenciada pela ampla distribuição desses receptores de adenosina nas células tumorais (Cai *et al.*, 2018).

Estudos clínicos multicêntricos em fase I já avaliam o uso de anticorpos anti-CD73 sozinhos ou em combinação em pacientes com tumores sólidos avançados. Sendo assim, a utilização clínica de terapia anti-CD73 representa um promissor instrumento que poderá ser integrado aos esquemas de quimio-radiação convencionais ou outras novas estratégias imunológicas (Antonioli *et al.*, 2016).

## **Adenosina desaminas**

Desde a década de 1970, a atividade da adenosina desaminase (E-ADA) vem sendo investigada em pacientes com leucemia. A atividade da E-ADA encontra-se diminuída em linfócitos de crianças com LLA (Zimmer *et al.*, 1975) e em linfócitos B de pacientes com LLC (Tung *et al.*, 1976). No entanto, observou-se atividade enzimática aumentada em linfoblastos de células T de pacientes com LLA (Smyth *et al.*, 1978), em células leucêmicas de pacientes com LMA (Mejer;

Nygaard, 1979), e no plasma de pacientes com LLA não tratada e em estágio de remissão (Morisaki *et al.*, 1985).

No soro de pacientes com LLC foi estabelecida uma correlação entre a atividade aumentada da E-ADA e outros marcadores diagnósticos como beta-2-microglobulina, lactato desidrogenase, contagem de leucócitos e velocidade de hemossedimentação (Ghaderi *et al.*, 2016). Já na LLA, a atividade da E-ADA em casos novos e pacientes com recidiva é significativamente maior do que em pacientes em estágio de remissão da doença e controles saudáveis, indicando que esta enzima também pode ser usada como biomarcador no diagnóstico e acompanhamento do tratamento dessa doença (Ebrahimi-Rad *et al.*, 2018).

A inibição da E-ADA foi estudada primeiramente *in vivo*, apresentando importantes implicações na LLA e LLC, como promoção da lise dos linfoblastos e linfócitos T maduros (Mitchell *et al.*, 1985). Diferentes inibidores da E-ADA também foram testados em cultura de células de leucemia monocítica.

A 2'-desoxicoformicina (pentostatina), que consiste em um análogo de purina utilizado como fármaco no tratamento anticâncer, principalmente em casos de leucemia de células pilosas, foi o primeiro a receber aprovação da *Food and Drug Administration (FDA)* nos Estados Unidos (Kane *et al.*, 1992; Grever *et al.*, 2003). O mecanismo de ação proposto inicialmente consiste na potente inibição da adenosina desaminase, que provoca um acúmulo de metabólitos que inibem a nucleotídeo redutase e, conseqüentemente, bloqueiam a síntese de DNA nessas células (Dillman, 2004). Posteriormente, foi sugerido que o acúmulo de adenosina e desoxiadenosina levam à formação desoxiadenosina trifosfato (dATP) nos linfócitos do plasma sanguíneo, que provoca acúmulo de quebras na fita de DNA, resultando na ativação de p53, liberação de citocromo c pela mitocôndria e, conseqüentemente, apoptose (Johnston, 2011).

Apesar de o tratamento com pentostatina combinada a outros fármacos, como a ciclofosfamida, ser eficaz no tratamento de LLC, esses efeitos são atribuídos à sua capacidade de induzir a apoptose e não às alterações nos níveis extracelulares de adenosina (Sauter *et al.*, 2008). Além disso, essa terapia apresenta toxicidade tolerável em longo prazo e nenhum caso relacionado de complicação como LMA e síndrome mielodisplásica (Kay *et al.*, 2018).

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

A presença de receptores de receptores P1 e P2, mesmo nas células mais indiferenciadas, e a variação da expressão com a diferenciação sugerem a participação na hematopoese em diversos aspectos, dependendo do subtipo de receptor ativado. Os principais trabalhos nesta área mostraram que os receptores P2 modulam a capacidade de formar colônias das células progenitoras hematopoéticas e a diferenciação, migração, homing e capacidade de enxerto da CTH. Esses estudos vêm mostrando a presença de um complexo sistema de regulação com a participação das ectonucleotidases (CD39 e CD73), que mostra a interação dos receptores P2 com os receptores P1.

Todos esses estudos revelam um promissor potencial modulatório a partir do estudo da regulação purinérgica no sistema hematopoético. Potencial que se evidencia ao analisar as alterações da regulação purinérgica em leucemias, em que diversas funções dos receptores P2 e das ectonucleotidases mostraram-se alterados. Espera-se que o aprofundamento da regulação purinérgica neste sistema proporcione importantes ferramentas para uso clínico num futuro próximo.

## REFERÊNCIAS

- ABOUSAMRA, N. K. *et al.* Ectonucleoside triphosphate diphosphohydrolase-1 (E-NTPDase1/CD39) as a new prognostic marker in chronic lymphocytic leukemia. *Leuk Lymphoma*, v. 56, n. 1, p. 113-9, Jan 2015. ISSN 1029-2403 (Electronic) 1026-8022 (Linking). Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24684231>.
- ABRUZZO, L. V. *et al.* Trisomy 12 chronic lymphocytic leukemia expresses a unique set of activated and targetable pathways. *Haematologica*, v. 103, n. 12, p. 2069-2078, Jul. 5 2018. ISSN 1592-8721 (Electronic) 0390-6078 (Linking). Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29976738>.
- ADAMIAK, M. *et al.* Novel evidence that extracellular nucleotides and purinergic signaling induce innate immunity-mediated mobilization of hematopoietic stem/progenitor cells. *Leukemia*, v. 32, n. 9, p. 1920-1931, Sep 2018. ISSN 1476-5551 (Electronic)0887-6924 (Linking). Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29725032>.
- ADINOLFI, E. *et al.* P2X7 receptor expression in evolutive and indolent forms of chronic B lymphocytic leukemia. *Blood*, v. 99, n. 2, p. 706-708, 2002. ISSN 0006-4971.
- ADRIAN, K. *et al.* Expression of purinergic receptors (ionotropic P2X1-7 and metabotropic P2Y1-11) during myeloid differentiation of HL60 cells. *Biochim Biophys Acta*, v. 1492, n. 1, p. 127-38, Jun. 21 2000. ISSN 0006-3002 (Print).0006-3002 (Linking). Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11004484>.
- ALLARD, D. *et al.* CD73-adenosine: a next-generation target in immunoncology. *Immunotherapy*, v. 8, n. 2, p. 145-63, Feb. 2016. ISSN 1750-7448 (Electronic) 1750-743X (Linking). Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26808918>.
- ALVARENGA, E. C. *et al.* Low-intensity pulsed ultrasound-dependent osteoblast proliferation occurs by via activation of the P2Y receptor: role of the P2Y1 receptor. *Bone*, v. 46, n. 2, p. 355-62, Feb 2010. ISSN 1873-2763 (Electronic) 1873-2763 (Linking). Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19781676>.
- ANTONIOLI, L. *et al.* Anti-CD73 in cancer immunotherapy: awakening new opportunities. *Trends Cancer*, v. 2, n. 2, p. 95-109, Feb 1 2016. ISSN 2405-8033 (Print) 2405-8025 (Linking). Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27014745>.
- BALAZOVICH, K. J.; BOXER, L. A. Extracellular adenosine nucleotides stimulate protein kinase C activity and human neutrophil activation. *J Immunol*, v. 144, n. 2, p. 631-7, Jan 15 1990. ISSN 0022-1767 (Print) 0022-1767 (Linking). Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2153172>.
- BARBOSA, C. M. *et al.* Differentiation of hematopoietic stem cell and myeloid populations by ATP is modulated by cytokines. *Cell Death Dis*, v. 2, p. e165, Jun 2 2011. ISSN 2041-4889 (Electronic).

Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21633388>.

BIANCOTTO, A. *et al.* Phenotypic complexity of T regulatory subsets in patients with B-chronic lymphocytic leukemia. *Mod Pathol*, v. 25, n. 2, p. 246-59, Feb 2012. ISSN 1530-0285 (Electronic) 0893-3952 (Linking). Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22101351>.

BIFFEN, M.; ALEXANDER, D. R. Mobilization of intracellular Ca<sup>2+</sup> by adenine nucleotides in human T-leukaemia cells: evidence for ADP-specific and P<sub>2</sub> $\gamma$ -purinergic receptors. *Biochemical Journal*, v. 304, n. 3, p. 769-774, 1994. ISSN 0264-6021.

BURNSTOCK, G. Blood cells: an historical account of the roles of purinergic signalling. *Purinergic Signal*, v. 11, n. 4, p. 411-34, Dec 2015. ISSN 1573-9546 (Electronic) 1573-9538 (Linking). Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26260710>.

CAI, Y.; FENG, L.; WANG, X. Targeting the tumor promoting effects of adenosine in chronic lymphocytic leukemia. *Crit Rev Oncol Hematol*, v. 126, p. 24-31, Jun 2018. ISSN 1879-0461 (Electronic) 1040-8428 (Linking). Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29759563>.

CHO, J. *et al.* Purinergic P<sub>2</sub>Y<sub>1</sub>(4) receptor modulates stress-induced hematopoietic stem/progenitor cell senescence. *J Clin Invest*, v. 124, n. 7, p. 3159-71, Jul 2014. ISSN 1558-8238 (Electronic) 0021-9738 (Linking). Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24937426>.

CHONG, J. H. *et al.* Abnormal expression of P<sub>2</sub>X family receptors in Chinese pediatric acute leukemias. *Biochemical and biophysical research communications*, v. 391, n. 1, p. 498-504, 2010. ISSN 0006-291X.

COCKCROFT, S.; GOMPERS, B. D. The ATP<sub>4</sub>- receptor of rat mast cells. *Biochem J*, v. 188, n. 3, p. 789-98, Jun 15 1980. ISSN 0264-6021 (Print) 0264-6021 (Linking). Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6162453>.

COCKCROFT, S.; STUTCHFIELD, J. The receptors for ATP and fMetLeuPhe are independently coupled to phospholipases C and A<sub>2</sub> via G-protein(s). Relationship between phospholipase C and A<sub>2</sub> activation and exocytosis in HL60 cells and human neutrophils. *Biochem J*, v. 263, n. 3, p. 715-23, Nov 1 1989. ISSN 0264-6021 (Print) 0264-6021 (Linking). Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2512911>.

COMMUNI, D. *et al.* Rapid up-regulation of P<sub>2</sub>Y messengers during granulocytic differentiation of HL-60 cells. *FEBS letters*, v. 475, n. 1, p. 39-42, 2000. ISSN 0014-5793.

CONSTANTINESCU, P. *et al.* P<sub>2</sub>X<sub>7</sub> receptor activation induces cell death and microparticle release in murine erythroleukemia cells. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, v. 1798, n. 9, p. 1797-1804, 2010. ISSN 0005-2736.

COUSTAN-SMITH, E. *et al.* New markers for minimal residual disease detection in acute lymphoblastic leukemia. *Blood*, v. 117, n. 23, p. 6267-76, Jun 9 2011. ISSN 1528-0020 (Electronic) 0006-4971

(Linking). Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21487112>.

DI VIRGILIO, F. *et al.* Nucleotide receptors: an emerging family of regulatory molecules in blood cells. *Blood*, v. 97, n. 3, p. 587-600, Feb 1 2001. ISSN 0006-4971 (Print) 0006-4971 (Linking). Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11157473>.

DI VIRGILIO, F.; WILEY, J. S. The P2X7 receptor of CLL lymphocytes-a molecule with a split personality. *The Lancet*, v. 360, n. 9349, p. 1898-1899, 2002. ISSN 0140-6736.

DILLMAN, R. O. Pentostatin (Nipent) in the treatment of chronic lymphocyte leukemia and hairy cell leukemia. *Expert Rev Anticancer Ther*, v. 4, n. 1, p. 27-36, Feb 2004. ISSN 1473-7140 (Print) 1473-7140 (Linking). Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14748654>.

EBRAHIMI-RAD, M. *et al.* Adenosine Deaminase 1 as a Biomarker for Diagnosis and Monitoring of Patients with Acute Lymphoblastic Leukemia. *J Med Biochem*, v. 37, n. 2, p. 128-133, Apr 2018. ISSN 1452-8258 (Print) 1452-8266 (Linking). Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30581348>.

FENG, W. *et al.* High Level P2X7-Mediated Signaling Impairs Function of Hematopoietic Stem/Progenitor Cells. *Stem Cell Rev*, v. 12, n. 3, p. 305-14, Jun 2016. ISSN 1558-6804 (Electronic) 1550-8943 (Linking). Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27059869>.

GADEOCK, S. *et al.* P2X7 receptor activation mediates organic cation uptake into human myeloid leukaemic KG-1 cells.

Purinergic signalling, v. 8, n. 4, p. 669-676, 2012. ISSN 1573-9538.

GHADERI, B. *et al.* Adenosine Deaminase Activity in Chronic Lymphocytic Leukemia and Healthy Subjects. *Iran J Cancer Prev*, v. 9, n. 3, p. e5069, Jun 2016. ISSN 2008-2398 (Print) n2008-2398 (Linking). Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27703646>.

GREVER, M. R.; DOAN, C. A.; KRAUT, E. H. Pentostatin in the treatment of hairy-cell leukemia. *Best Pract Res Clin Haematol*, v. 16, n. 1, p. 91-9, Mar 2003. ISSN 1521-6926 (Print) 1521-6926 (Linking). Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12670468>.

HALL, D. A.; HOURANI, S. M. Effects of suramin on increases in cytosolic calcium and on inhibition of adenylate cyclase induced by adenosine 5'-diphosphate in human platelets. *Biochem Pharmacol*, v. 47, n. 6, p. 1013-8, Mar 15 1994. ISSN 0006-2952 (Print) 0006-2952 (Linking). Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8147900>.

HAMBLIN, T. J. *et al.* Unmutated Ig VH genes are associated with a more aggressive form of chronic lymphocytic leukemia. *Blood*, v. 94, n. 6, p. 1848-1854, 1999. ISSN 0006-4971.

HICKMAN, S. E. *et al.* P2Z adenosine triphosphate receptor activity in cultured human monocyte-derived macrophages. *Blood*, v. 84, n. 8, p. 2452-6, Oct 15 1994. ISSN 0006-4971 (Print) 0006-4971 (Linking). Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7919365>.

HIRATA, Y. *et al.* CD150(high) Bone Marrow Tregs Maintain Hematopoietic



Stem Cell Quiescence and Immune Privilege via Adenosine. *Cell Stem Cell*, v. 22, n. 3, p. 445-453 e5, Mar 1 2018. ISSN 1875-9777 (Electronic) 1875-9777 (Linking). Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29456159>.

HIRATA, Y. *et al.* CD150high CD4 T cells and CD150high Tregs regulate hematopoietic stem cell quiescence via CD73. *Haematologica*, Dec 13 2018. ISSN 1592-8721 (Electronic) 0390-6078 (Linking). Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30545927>.

HOFFMAN, J. F. *et al.* Tetrodotoxin-sensitive Na<sup>+</sup> channels and muscarinic and purinergic receptors identified in human erythroid progenitor cells and red blood cell ghosts. *Proc Natl Acad Sci U S A*, v. 101, n. 33, p. 12370-4, Aug 17 2004. ISSN 0027-8424 (Print) 0027-8424 (Linking). Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15292511>.

HUANG, J. C. *et al.* Mesenchymal stromal cells derived from acute myeloid leukemia bone marrow exhibit aberrant cytogenetics and cytokine elaboration. *Blood Cancer J*, v. 5, p. e302, Apr 10 2015. ISSN 2044-5385 (Electronic) 2044-5385 (Linking). Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25860293>.

IDZKO, M. *et al.* Functional characterization of P2Y and P2X receptors in human eosinophils. *J Cell Physiol*, v. 188, n. 3, p. 329-36, Sep 2001. ISSN 0021-9541 (Print) 0021-9541 (Linking). Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11473359>.

JAIN, S. *et al.* Evaluating New Markers for Minimal Residual Disease Analysis by Flow Cytometry in Precursor B Lymphoblastic Leukemia. *Indian*

*J Hematol Blood Transfus*, v. 34, n. 1, p. 48-53, jan. 2018. ISSN 0971-4502 (Print) 0971-4502 (Linking). Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29398799>.

JOHNSTON, J. B. Mechanism of action of pentostatin and cladribine in hairy cell leukemia. *Leuk Lymphoma*, v. 52 Suppl 2, p. 43-5, Jun. 2011. ISSN 1029-2403 (Electronic) 1026-8022 (Linking). Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21463108>.

KANE, B. J.; KUHN, J. G.; ROUSH, M. K. Pentostatin: an adenosine deaminase inhibitor for the treatment of hairy cell leukemia. *Ann Pharmacother*, v. 26, n. 7-8, p. 939-47, Jul-Aug 1992. ISSN 1060-0280 (Print) 1060-0280 (Linking). Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1504408>.

KAY, N. E. *et al.* Cumulative experience and long term follow-up of pentostatin-based chemoimmunotherapy trials for patients with chronic lymphocytic leukemia. *Expert Rev Hematol*, v. 11, n. 4, p. 337-349, Apr 2018. ISSN 1747-4094 (Electronic) 1747-4094 (Linking). Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29460654>.

LEMOLI, R. M. *et al.* Extracellular nucleotides are potent stimulators of human hematopoietic stem cells in vitro and in vivo. *Blood*, v. 104, n. 6, p. 1662-70, Sep 15 2004. ISSN 0006-4971 (Print) 0006-4971 (Linking). Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15161674>.

LIM TO, W. K.; KUMAR, P.; MARSHALL, J. M. Hypoxia is an effective stimulus for vesicular release of ATP from human umbilical vein endothelial cells.

Placenta, v. 36, n. 7, p. 759-66, Jul 2015. ISSN 1532-3102 (Electronic) 0143-4004 (Linking). Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25956988>.

MEJER, J.; NYGAARD, P. Adenosine deaminase and purine nucleoside phosphorylase levels in acute myeloblastic leukemia cells. Relationship to diagnosis and clinical course. *Leuk Res*, v. 3, n. 4, p. 211-6, 1979. ISSN 0145-2126 (Print) 0145-2126 (Linking). Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/118308>.

MIKHAILOV, A. *et al.* CD73 participates in cellular multiresistance program and protects against TRAIL-induced apoptosis. *J Immunol*, v. 181, n. 1, p. 464-75, Jul 1 2008. ISSN 0022-1767 (Print) 0022-1767 (Linking). Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18566412>.

MITCHELL, B. S. *et al.* Biochemical consequences of adenosine deaminase inhibition in vivo. Differential effects in acute and chronic T cell leukemia. *Ann N Y Acad Sci*, v. 451, p. 129-37, 1985. ISSN 0077-8923 (Print) 0077-8923 (Linking). Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3878114>.

MOHANTY, J. G. *et al.* Effects of purine and pyrimidine nucleotides on intracellular Ca<sup>2+</sup> in human eosinophils: activation of purinergic P2Y receptors. *J Allergy Clin Immunol*, v. 107, n. 5, p. 849-55, May 2001. ISSN 0091-6749 (Print) 0091-6749 (Linking). Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11344352>.

MONTERO, M.; GARCIA-SANCHO, J.; ALVAREZ, J. Biphasic and differential modulation of Ca<sup>2+</sup> entry by ATP and UTP in promyelocytic leukaemia HL60

cells. *Biochemical Journal*, v. 305, n. 3, p. 879-887, 1995. ISSN 0264-6021.

MORISAKI, T.; FUJII, H.; MIWA, S. Adenosine deaminase (ADA) in leukemia: clinical value of plasma ADA activity and characterization of leukemic cell ADA. *Am J Hematol*, v. 19, n. 1, p. 37-45, May 1985. ISSN 0361-8609 (Print) 0361-8609 (Linking). Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3985005>.

MOSAAD ZAKI, E. *et al.* Impact of CD39 expression on CD4+ T lymphocytes and 6q deletion on outcome of patients with chronic lymphocytic leukemia. *Hematol Oncol Stem Cell Ther*, Oct 11 2018. ISSN 1658-3876 (Print). Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30336122>.

MULLER, T. *et al.* The purinergic receptor P2Y2 receptor mediates chemotaxis of dendritic cells and eosinophils in allergic lung inflammation. *Allergy*, v. 65, n. 12, p. 1545-53, Dec 2010. ISSN 1398-9995 (Electronic) 0105-4538 (Linking). Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20880147>.

NAUMOV, A. P. *et al.* ATP-activated Ca(2+)-permeable channels in rat peritoneal macrophages. *FEBS Lett*, v. 313, n. 3, p. 285-7, Nov 30 1992. ISSN 0014-5793 (Print) 0014-5793 (Linking). Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1332883>.

NOGUEIRA-PEDRO, A. *et al.* Nitric oxide-induced murine hematopoietic stem cell fate involves multiple signaling proteins, gene expression, and redox modulation. *Stem Cells*, v. 32, n. 11, p. 2949-60, Nov 2014. ISSN 1549-4918 (Electronic) 1066-5099 (Linking).

Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24964894>.

NÜCKEL, H. *et al.* 1513A/C polymorphism in the P2X7 receptor gene in chronic lymphocytic leukemia: absence of correlation with clinical outcome. *European journal of haematology*, v. 72, n. 4, p. 259-263, 2004. ISSN 0902-4441.

NUTTLE, L. C.; DUBYAK, G. R. Differential activation of cation channels and non-selective pores by macrophage P2z purinergic receptors expressed in *Xenopus* oocytes. *J Biol Chem*, v. 269, n. 19, p. 13988-96, May 13 1994. ISSN 0021-9258 (Print) 0021-9258 (Linking). Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7514597>.

ORRISS, I. R. *et al.* Hypoxia stimulates vesicular ATP release from rat osteoblasts. *J Cell Physiol*, v. 220, n. 1, p. 155-62, Jul 2009. ISSN 1097-4652 (Electronic) 0021-9541 (Linking). Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19259945>.

PAREDES-GAMERO, E. J. *et al.* Activation of P2Y1 receptor triggers two calcium signaling pathways in bone marrow erythroblasts. *Eur J Pharmacol*, v. 534, n. 1-3, p. 30-8, mar. 18 2006. ISSN 0014-2999 (Print) 0014-2999 (Linking). Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16487961>.

PAREDES-GAMERO, E. J. *et al.* P2X7-induced apoptosis decreases by aging in mice myeloblasts. *Exp Gerontol*, v. 42, n. 4, p. 320-6, Apr 2007. ISSN 0531-5565 (Print) 0531-5565 (Linking). Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17188441>.

PAREDES-GAMERO, E. J. *et al.* Problems caused by high concentration of

ATP on activation of the P2X7 receptor in bone marrow cells loaded with the Ca<sup>2+</sup> fluorophore fura-2. *J Fluoresc*, v. 14, n. 6, p. 711-22, Nov 2004. ISSN 1053-0509 (Print) 1053-0509 (Linking). Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15649023>.

PAREDES-GAMERO, E. J. *et al.* Changes in intracellular Ca<sup>2+</sup> levels induced by cytokines and P2 agonists differentially modulate proliferation or commitment with macrophage differentiation in murine hematopoietic cells. *J Biol Chem*, v. 283, n. 46, p. 31909-19, Nov 14 2008. ISSN 0021-9258 (Print) 0021-9258 (Linking). Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18775989>.

PERRY, C. *et al.* Increased CD39 expression on CD4(+) T lymphocytes has clinical and prognostic significance in chronic lymphocytic leukemia. *Ann Hematol*, v. 91, n. 8, p. 1271-9, Aug 2012. ISSN 1432-0584 (Electronic) 0939-5555 (Linking). Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22349724>.

PULTE, D. *et al.* CD39 expression on T lymphocytes correlates with severity of disease in patients with chronic lymphocytic leukemia. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk*, v. 11, n. 4, p. 367-72, Aug 2011. ISSN 2152-2669 (Electronic) 2152-2669 (Linking). Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21816376>.

PULTE, D. *et al.* CD39 activity correlates with stage and inhibits platelet reactivity in chronic lymphocytic leukemia. *J Transl Med*, v. 5, p. 23, May 4 2007. ISSN 1479-5876 (Electronic) 1479-5876

(Linking). Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17480228>.

ROSSI, L. *et al.* The extracellular nucleotide UTP is a potent inducer of hematopoietic stem cell migration. *Blood*, v. 109, n. 2, p. 533-42, Jan 15 2007. ISSN 0006-4971 (Print) 0006-4971 (Linking). Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17008551>.

SALVESTRINI, V. *et al.* Extracellular ATP induces apoptosis through P2X7R activation in acute myeloid leukemia cells but not in normal hematopoietic stem cells. *Oncotarget*, v. 8, n. 4, p. 5895-5908, Jan 2017. ISSN 1949-2553. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27980223>.

SALVESTRINI, V. *et al.* Purinergic signaling inhibits human acute myeloblastic leukemia cell proliferation, migration, and engraftment in immunodeficient mice. *Blood*, v. 119, n. 1, p. 217-226, 2012. ISSN 0006-4971.

SAUTER, C.; LAMANNA, N.; WEISS, M. A. Pentostatin in chronic lymphocytic leukemia. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*, v. 4, n. 9, p. 1217-22, Sep 2008. ISSN 1742-5255 (Print) 1742-5255 (Linking). Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18721115>.

SCHETINGER, M. R. *et al.* NTPDase and 5'-nucleotidase activities in physiological and disease conditions: new perspectives for human health. *Biofactors*, v. 31, n. 2, p. 77-98, 2007. ISSN 0951-6433 (Print) 0951-6433 (Linking). Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18806312>.

SCHULZE-LOHOFF, E. *et al.* Extracellular ATP causes apoptosis and

necrosis of cultured mesangial cells via P2Z/P2X7 receptors. *Am J Physiol*, v. 275, n. 6, p. F962-71, Dec 1998. ISSN 0002-9513 (Print) 0002-9513 (Linking). Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9843914>.

SEDEK, L. *et al.* Differential expression of CD73, CD86 and CD304 in normal vs. leukemic B-cell precursors and their utility as stable minimal residual disease markers in childhood B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia. *J Immunol Methods*, Mar 9 2018. ISSN 1872-7905 (Electronic) 0022-1759 (Linking). Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29530508>.

SELLICK, G. S. *et al.* The P2X7 receptor gene A1513C polymorphism does not contribute to risk of familial or sporadic chronic lymphocytic leukemia. *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers*, v. 13, n. 6, p. 1065-1067, 2004. ISSN 1055-9965.

SERRA, S. *et al.* CD73-generated extracellular adenosine in chronic lymphocytic leukemia creates local conditions counteracting drug-induced cell death. *Blood*, v. 118, n. 23, p. 6141-52, Dec 1 2011. ISSN 1528-0020 (Electronic) 0006-4971 (Linking). Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21998208>.

SERRA, S. *et al.* Adenosine signaling mediates hypoxic responses in the chronic lymphocytic leukemia microenvironment. *Blood Adv*, v. 1, n. 1, p. 47-61, Nov 29 2016. ISSN 2473-9529 (Print) 2473-9529 (Linking). Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29296695>.

SLUYTER, R. *et al.* Extracellular ATP increases cation fluxes in human

erythrocytes by activation of the P2X7 receptor. *J Biol Chem*, v. 279, n. 43, p. 44749-55, Oct 22 2004. ISSN 0021-9258 (Print) 0021-9258 (Linking). Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15304508>.

SMYTH, J. F. *et al.* Correlation of adenosine deaminase activity with cell surface markers in acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Invest*, v. 62, n. 3, p. 710-2, Sep 1978. ISSN 0021-9738 (Print) 0021-9738 (Linking). Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/308513>.

STARCZYNSKI, J. *et al.* The P2X7 receptor gene polymorphism 1513 A→C has no effect on clinical prognostic markers, in vitro sensitivity to fludarabine, Bcl-2 family protein expression or survival in B-cell chronic lymphocytic leukaemia. *British journal of haematology*, v. 123, n. 1, p. 66-71, 2003. ISSN 0007-1048.

STEINBERG, T. H.; SILVERSTEIN, S. C. Extracellular ATP4- promotes cation fluxes in the J774 mouse macrophage cell line. *J Biol Chem*, v. 262, n. 7, p. 3118-22, Mar 5 1987. ISSN 0021-9258 (Print) 0021-9258 (Linking). Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2950094>.

SUH, B. C. *et al.* P2X7 nucleotide receptor mediation of membrane pore formation and superoxide generation in human promyelocytes and neutrophils. *J Immunol*, v. 166, n. 11, p. 6754-63, Jun 1 2001. ISSN 0022-1767 (Print) 0022-1767 (Linking). Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11359833>.

SURPRENANT, A. *et al.* The cytolitic P2Z receptor for extracellular ATP identified as a P2X receptor (P2X7). *Science*, v. 272, n. 5262, p. 735-8, May 3 1996. ISSN 0036-8075 (Print) 0036-8075

(Linking). Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8614837>.

TEMBHARE, P. R. *et al.* Evaluation of new markers for minimal residual disease monitoring in B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia: CD73 and CD86 are the most relevant new markers to increase the efficacy of MRD 2016; 00B: 000-000. *Cytometry B Clin Cytom*, v. 94, n. 1, p. 100-111, Jan 2018. ISSN 1552-4957 (Electronic) 1552-4949 (Linking). Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27718302>.

THUNBERG, U. *et al.* Polymorphism in the P2X7 receptor gene and survival in chronic lymphocytic leukaemia. *The Lancet*, v. 360, n. 9349, p. 1935-1939, 2002. ISSN 0140-6736.

TUNG, R. *et al.* Adenosine deaminase activity in chronic lymphocytic leukemia. Relationship to B- and T-cell subpopulations. *J Clin Invest*, v. 57, n. 3, p. 756-61, Mar 1976. ISSN 0021-9738 (Print) 0021-9738 (Linking). Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1082452>.

TURNER, N. A.; MOAKE, J. L.; MCINTIRE, L. V. Blockade of adenosine diphosphate receptors P2Y(12) and P2Y(1) is required to inhibit platelet aggregation in whole blood under flow. *Blood*, v. 98, n. 12, p. 3340-5, Dec 1 2001. ISSN 0006-4971 (Print) 0006-4971 (Linking). Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11719372>.

WANG, W. *et al.* The application of CD73 in minimal residual disease monitoring using flow cytometry in B-cell acute lymphoblastic leukemia. *Leuk Lymphoma*, v. 57, n. 5, p. 1174-81, May 2016. ISSN 1029-2403 (Electronic)

1026-8022 (Linking). Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26436205>.

WIETEN, E. *et al.* CD73 (5'-nucleotidase) expression has no prognostic value in children with acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia*, v. 25, n. 8, p. 1374-6, Aug 2011. ISSN 1476-5551 (Electronic) 0887-6924 (Linking). Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21760591>.

WILEY, J. S. *et al.* A loss-of-function polymorphic mutation in the cytolytic P2X7 receptor gene and chronic lymphocytic leukaemia: a molecular study. *The Lancet*, v. 359, n. 9312, p. 1114-1119, 2002. ISSN 0140-6736.

WRIGHT, A. *et al.* Impaired P2X1 Receptor-Mediated Adhesion in Eosinophils from Asthmatic Patients. *J Immunol*, v. 196, n. 12, p. 4877-84, Jun 15 2016. ISSN 1550-6606 (Electronic) 0022-1767 (Linking). Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27183585>.

YU, T. *et al.* Shockwaves increase T-cell proliferation and IL-2 expression through ATP release, P2X7 receptors, and FAK activation. *Am J Physiol Cell Physiol*, v. 298, n. 3, p. C457-64, Mar 2010. ISSN 1522-1563 (Electronic) 0363-6143 (Linking). Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19889958>.

ZHANG, L. *et al.* P2X7 polymorphism and chronic lymphocytic leukaemia: lack of correlation with incidence, survival and abnormalities of chromosome 12. *Leukemia*, v. 17, n. 11, p. 2097, 2003. ISSN 1476-5551.

ZHANG, X.-J. *et al.* Expression of P2X7 in human hematopoietic cell lines and leukemia patients. *Leukemia research*, v. 28, n. 12, p. 1313-1322, 2004. ISSN 0145-2126.

ZIMMER, J.; KHALIFA, A. S.; LIGHTBODY, J. J. Decreased lymphocyte adenosine deaminase activity in acute lymphocytic leukemia children and their parents. *Cancer Research*, v. 35, n. 1, p. 68-70, Jan 1975. ISSN 0008-5472 (Print) 0008-5472 (Linking). Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1053696>.

ZOETEWIJ, J. P. *et al.* The role of a purinergic P2z receptor in calcium-dependent cell killing of isolated rat hepatocytes by extracellular adenosine triphosphate. *Hepatology*, v. 23, n. 4, p. 858-65, Apr 1996. ISSN 0270-9139 (Print) 0270-9139 (Linking). Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8666342>.