

# Papel de la Dipeptidil Peptidasa-4 (DPP4) en la fisiopatología de la COVID-19.

Alba Díaz Yuste<sup>1, a</sup>, Alba Sebastián-Martín<sup>1, b</sup>, Belén G. Sánchez<sup>1, c</sup>, Alicia Bort<sup>2, d</sup>, José M. Mora-Rodríguez<sup>1, e</sup>, Inés Díaz-Laviada<sup>1, f</sup>

1. Departamento de Biología de Sistemas, Universidad de Alcalá. 28871, Alcalá de Henares, Madrid, España. 2. Yale University, School of Medicine, Department of Comparative Medicine, New Haven, CT, 06519, United States.

a. alba.diaz@edu.uah.es b. alba.sebastian@uah.es c. belensg.88@gmail.com d. alicia.bortbueno@yale.edu e. josem.mora@uah.es f. ines.laviada@uah.es

**Palabras clave:** DPP4; CD26; inflamación; SARS-CoV-2; COVID-19; gliptinas

## Resumen

La DPP4/CD26 es una proteína transmembrana con múltiples funciones, entre las que se encuentran la regulación de la glicemia, la migración y proliferación celular además de la regulación del sistema inmune. En los últimos años ha adquirido especial importancia, ligada a su posible actuación como correceptor para el SARS-CoV-2, demostrada anteriormente con otros coronavirus. En esta revisión, analizamos las evidencias existentes sobre el papel de DPP4 en el riesgo y desarrollo clínico de la COVID-19, así como su contribución a la fisiopatología de esta enfermedad. Teniendo en cuenta la respuesta hiperinflamatoria implicada en la patogénesis de la COVID-19 destacando la tormenta de citoquinas que suele producirse en el desarrollo de la enfermedad, profundizamos en las funciones de DPP4 en la regulación del sistema inmune. Mostramos que el amplio espectro de funciones reguladas por DPP4 es debido tanto a su actividad enzimática como proteasa, como a la interacción y asociación con otras moléculas de la superficie celular. Además, proveemos información actualizada acerca de los inhibidores de DPP4 aprobados por la EMA y/o la FDA, junto con la novedosa aprobación de fármacos genéricos (en 2021 y 2022). Esta revisión también cubre los efectos de los inhibidores de DPP4 (p.e., gliptinas) en la progresión de la infección por SARS-CoV-2, mostrando el papel de DPP4 en esta enfermedad.

**Cita:** Díaz Yuste, Alba; Sebastián-Martín, Alba; Sánchez, Belén G.; Bort, Alicia; Mora-Rodríguez, José M.; Díaz-Laviada, Inés (2022) Papel de la Dipeptidil Peptidasa-4 (DPP4) en la fisiopatología de la COVID-19. *dianas* 11 (2): e202209fa01. ISSN 1886-8746 (electronic) [journal.dianas.e202209fa01](http://www3.uah.es/dianas?e202209fa01) <http://www3.uah.es/dianas?e202209fa01>. URI <http://hdl.handle.net/10017/15181>

**Copyright:** © Díaz-Yuste A, Sebastián-Martín A, Sánchez BG, Bort A, Mora-Rodríguez JM, Díaz-Laviada I. Algunos derechos reservados. Este es un artículo open-access distribuido bajo los términos de una licencia de Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-SinObraDerivada 4.0 Internacional. <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>

## Introducción

La dipeptidil peptidasa 4 (DPP4, EC 3.4.14.5) fue descrita por primera vez en 1966 [1]. También es conocida como el antígeno de activación de linfocitos T CD26 [2], o como proteína de unión a adenosina desaminasa (ADBP) [3]. Las funciones de este tipo de proteínas dependen de su localización en el interior o exterior celular, el tipo de célula, su presentación monomérica o dimérica y la concentración de sustratos y ligandos [4]. En el caso de DPP4, sus acciones no solo recaen en su actividad catalítica como peptidasa, sino también en su estructura, ya que puede unirse a diversas proteínas, como adenosina desaminasa (ADA), fibronectina, colágeno, el receptor de citoquinas CXCR4, la tirosina fosfatasa CD45, e incluso algunas proteínas virales como la proteína de la cubierta gp120 del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH). Por otro lado, regula múltiples procesos celulares, participa en la adhesión a la matriz extracelular, la proliferación y la maduración y actividad de los linfocitos T.

Recientemente, DPP4 ha adquirido cierta relevancia en el escenario de la infección por SARS-CoV-2 (síndrome respiratorio agudo producido por coronavirus 2), debido al papel potencial como co-receptor en la entrada del virus a la célula. A pesar de que esta hipótesis necesita mayor aclaración, los datos procedentes de estudios clínicos indican que DPP4 participa en la fisiopatología de la COVID-19 (*coronavirus disease 2019*), y por tanto es una diana terapéutica para la misma. Las comorbilidades más prevalentes en los pacientes infectados por SARS-CoV-2 fueron hipertensión y diabetes, seguido de las enfermedades cardiovasculares y del sistema respiratorio [5]. Es interesante observar que DPP4 participa en todas estas enfermedades, especialmente en la diabetes mellitus tipo 2 (T2DM).

Esta revisión pretende aportar información actualizada en el campo de DPP4 y la COVID-19, tratando de desentrañar los mecanismos por los que esta proteasa juega un papel en el curso de la infección por el SARS-CoV-2. En este sentido, se describirán la estructura y funciones, centrándonos en el control endógeno de la glicemia y el sistema inmunitario, debido a la implicación de ambas en la progresión de la COVID-19. Después, exploraremos los efectos de DPP4 durante la infección por el SARS-CoV-2. Para ello, es interesante analizar previamente la evidencia que existe sobre el papel de DPP4 en la entrada viral

a la célula, no solo para el SARS-CoV-2, sino también en otros coronavirus conocidos con anterioridad. En segundo lugar, se expondrá la llamativa influencia de la inflamación en el contexto de la COVID-19. Para ello, se introducirán ambos aspectos, teniendo en cuenta su relación con DPP4 para conectarlos con la prognosis en pacientes infectados con el virus. Finalmente, ofreceremos información actualizada acerca de los inhibidores de DPP4 aprobados por la Agencia Europea del medicamento, y acabaremos con los efectos que tienen estos inhibidores en pacientes que padecen la COVID-19.

## Materiales y Métodos

Se realizó una revisión sistemática utilizaron los siguientes motores de búsqueda: MEDLINE/PubMed, SCOPUS, Web of Science, y Google Scholar. Se utilizaron términos MeSH (*Medical Subject Headings*) como “COVID-19”, “SARS-CoV-2”, “type 2 diabetes mellitus y COVID-19”, “hyperglycemia y COVID-19”, “dipeptidyl peptidase 4 structure”, “Dipeptidyl peptidase 4 inhibitors”, y “DPP4 inhibitors y COVID-19”.

## Resultados

### Estructura de DPP4

La DPP4 es una glicoproteína de transmembrana tipo II [6] de 766 aminoácidos [7,8] y un peso molecular de 110kDa [9]. Es una serín-exopeptidasa perteneciente al clan SC, familia S9, y específicamente a la subfamilia S9B, en base los criterios jerárquicos y estructurales de la base de datos MEROPS [10]. Las peptidasas del clan SC presentan un orden atípico en la secuencia de los residuos catalíticos, siendo Ser-Arg-His (en el caso de DPP4, en las posiciones 630, 708, y 740), en vez de His-Arg-Ser como es en las clásicas serín-proteasas [7,11,12]. La subfamilia S9B se caracteriza por el motivo Gly-Trp-Ser-Tyr-Gly-Gly-Tyr alrededor de la Ser630 localizada en el lugar activo [13].

La estructura primaria muestra un dominio N-terminal citoplasmático de seis aminoácidos (aa), un fragmento de transmembrana de 22aa, y la parte extracelular formada por 738aa [14-18]. En la zona extracelular se encuentra un fragmento flexible (aa 29-39), una zona rica en glicosilaciones (aa 101-350), región rica en cisteínas (aa 55-100, 351-497), y un dominio catalítico (aa506-766) [19] (Figura 1A). El análisis de la estructura cristalizada de DPP4 revela dos dominios en la parte extracelular: un dominio  $\beta$ -hélice y un dominio  $\alpha/\beta$  hidrolasa [16,20]. El dominio  $\beta$ -hélice es abierto, está formado por ocho láminas [21], y se compone de dos sub-dominios: la región rica en glicosilaciones (láminas II-V) y la región rica en cisteínas (láminas VI a VIII) [8,15,16,22]. Las regiones que constituyen la  $\beta$  podrían servir para interaccionar con otras proteínas y estar implicadas en funciones no enzimáticas [23]. Por ejemplo, ADA se une a la región rica en glicosilaciones de DPP4, y las proteínas de la matriz como el colágeno, se une a la región rica en cisteínas [17,19,20,22,24]. Por otra parte, el dominio  $\alpha/\beta$ -hidrolasa alberga la tríada catalítica (Ser 630/Asp708/His740) necesaria para la actividad de DPP4 [20,25,26]. Se pueden distinguir dos aperturas en el monómero, a través de las cuales se accede al sitio activo, (i) una lateral formada por la  $\beta$ -hélice y el dominio  $\alpha/\beta$ -hidrolasa; y (ii) uno más pequeño constituido por el dominio  $\beta$ -hélice [19,21]. Se ha sugerido que la entrada del sustrato en el sitio activo ocurre a través de la entrada lateral, ya que de esta forma el péptido estaría orientado correctamente para la escisión, y porque la salida del péptido resultante ocurre a través del embudo localizado en el centro del dominio  $\beta$ -hélice [27,28] (Figura 1B).

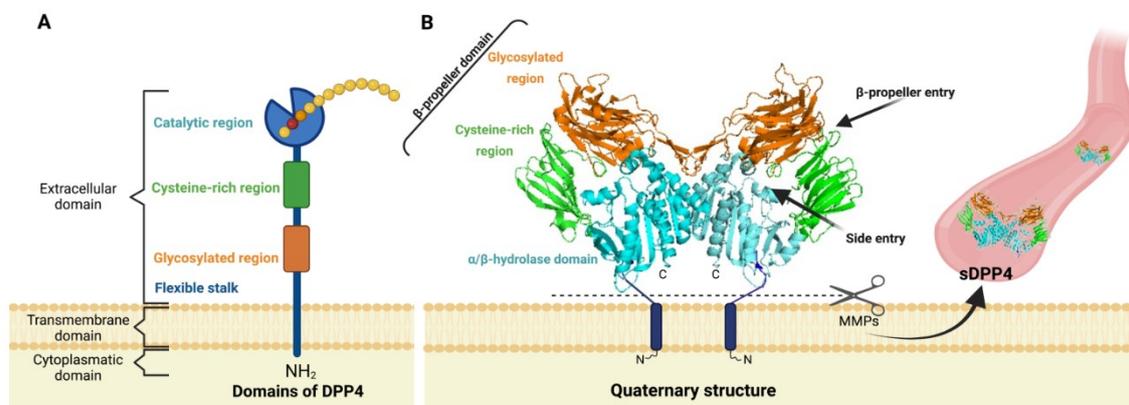


Figura 1.- Estructura de la DPP4. (A) Representación esquemática de la estructura primaria de DPP4. La región glicosilada se muestra en naranja, la región rica en cisteínas en verde, y la región catalítica en azul. (B) Estructura cuaternaria del homodímero de DPP4. Las metaloproteasas (MMPs) están representadas como tijeras grises, y después de la digestión, la forma soluble de DPP4 (sDPP4) se desprende de la membrana, liberándose a fluidos biológicos, como el torrente sanguíneo (a la derecha).

Durante la traslación, el péptido señal que permite que DPP4 sea dirigida al retículo endoplasmático es también necesario para iniciar la traslocación a la membrana y sirve de ancla a la misma [9]. Entonces, DPP4 puede sufrir numerosas modificaciones, como N-glicosilación [9], oxidación [29], sialización, y fosforilación [15]. La N-glicosilación se ha ligado al plegamiento y la estabilidad, mientras que la glicosilación en el extremo N-terminal se ha relacionado al desplazamiento de DPP4 a la membrana apical de la célula [15]. Una vez en la membrana, DPP4 suele formar dímeros, lo cual está considerado un prerrequisito para llevar a cabo su actividad enzimática. [6,9]. Normalmente, dos DPP4 se localizan juntas formando un homodímero en forma de U [20,30]. Los brazos de la U están formados por los dominios de la  $\beta$ -hélice, y se localizan distales a la membrana plasmática. La curva de la U, localizada en la zona proximal a la membrana, está constituida por los dominios  $\alpha/\beta$ -hidrolasa que contienen la tríada catalítica [20] (Figura 1B).

La DPP4 puede ser escindida de la membrana mediante la acción de metaloproteasas (MMPs), desprendiéndose de ella [9,22,23]. (Figura 1B). Como consecuencia, la zona soluble y catalíticamente activa de DPP4 es liberada y migra en los fluidos extracelulares como el suero, la saliva, la bilis, el líquido cefalorraquídeo y el semen [22,23]. La forma soluble de DPP4 (sDPP4) suele circular como un dímero, aunque puede ensamblarse formando complejos de mayor tamaño [24,31]. Esta forma soluble de DPP4 tiene papel inmunomodulador [32], y se piensa que activa vías de señalización intracelulares, aunque los mecanismos por los que esto sucede aún no se conocen [8]. Los niveles séricos de sDPP4 se han relacionado con múltiples enfermedades [22].

La expresión de DPP4 está regulada a nivel molecular. Se ha descrito que la región promotora del gen codificante posee una región rica en guanina y citosina. Esto sirve como sitio de unión para factores de transcripción como NF- $\kappa$ B, EGFR, AP-1, entre otros, que participan en la regulación de la expresión proteica [9,19]. La participación de numerosas citoquinas como IL-12 [19], y otros factores de transcripción como HIF-1 $\alpha$  [9], también participa en esta regulación. Con respecto a la localización, la DPP4 se encuentra ampliamente distribuida por el organismo [7,24]. Se localiza en el epitelio y endotelio de un gran número de órganos [15] como riñón, pulmón, hígado, intestino, cerebro, corazón, próstata, y músculo esquelético [3,9,19,24,32,33]. También es expresada por las células del sistema inmune [15], como se describe más abajo.

#### Papel fisiológico de DPP4

Esta enzima cataliza la digestión de múltiples quimioquinas, neuropéptidos y péptidos de regulación, preferentemente aquellos que poseen prolina como penúltimo aminoácido en el extremo N-terminal, liberando un dipéptido. A pesar de ello, DPP4 también actúa sobre péptidos que presentan residuos alternativos en la posición 2, como hidroxiprolina, dehidroprolina > alanina, glicina, treonina, valina o leucina [8], pero solo son capaces de unirse al sitio activo los aminoácidos en conformación *trans* [13]. La escisión genera péptidos en su forma activa o inactiva, responsables de muchos de los procesos biológicos regulados por DPP4.

Algunos de los sustratos mejor conocidos de DPP4 son las incretinas, sustancia P, neuropéptido Y, factor derivado de células estromales 1 $\alpha/\beta$  (SDF-1 $\alpha/\beta$ ), factor estimulador de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF), CXCL10, péptido natriurético del cerebro (BNP), polipéptido activador de la adenilato-ciclasa de la pituitaria (PACAP) [34]. Sin embargo, las funciones de DPP4 no solo radican en su actividad hidrolítica, sino también en su estructura, mediante la interacción con múltiples factores (Figura 2). De esta forma, DPP4 lleva a cabo múltiples actividades en el metabolismo, sistema cardiovascular, sistema inmunológico, sistema endocrino, fibrosis, y cáncer [35]. Se relaciona con procesos celulares como el control de la glicemia, la migración y proliferación celular, o el sistema inmune y procesos inflamatorios relacionados.

#### Papel fisiológico de DPP4 en el Sistema Inmune

Además de los efectos en la homeostasis de la glucosa mediante su actividad enzimática, DPP4 colabora en la regulación del sistema inmune, en su mayoría mediante su interacción con otras proteínas. De hecho, DPP4 es expresada en numerosos tipos celulares del sistema inmune, incluyendo los linfocitos T y B, linfocitos *natural killers* (NKs), células dendríticas (DCs), y macrófagos [36]. En esta línea, DPP4 puede asociarse con distintas proteínas, implicadas en el sistema inmune y la función de los linfocitos T, como son la adenosina desaminasa (ADA), caveolina-1 (CAV-1), la fosfatasa de tirosina CD45, CXCR4, colágeno (especialmente los tipos 1 y 3), fibronectina, glipican 3, contenedor del dominio reclutador de caspasas 1 (CARMA-1), o el receptor de manosa 6-fosfato/factor de crecimiento similar a la insulina II (M6P/IgFr2) ([22] y las referencias aquí indicadas).

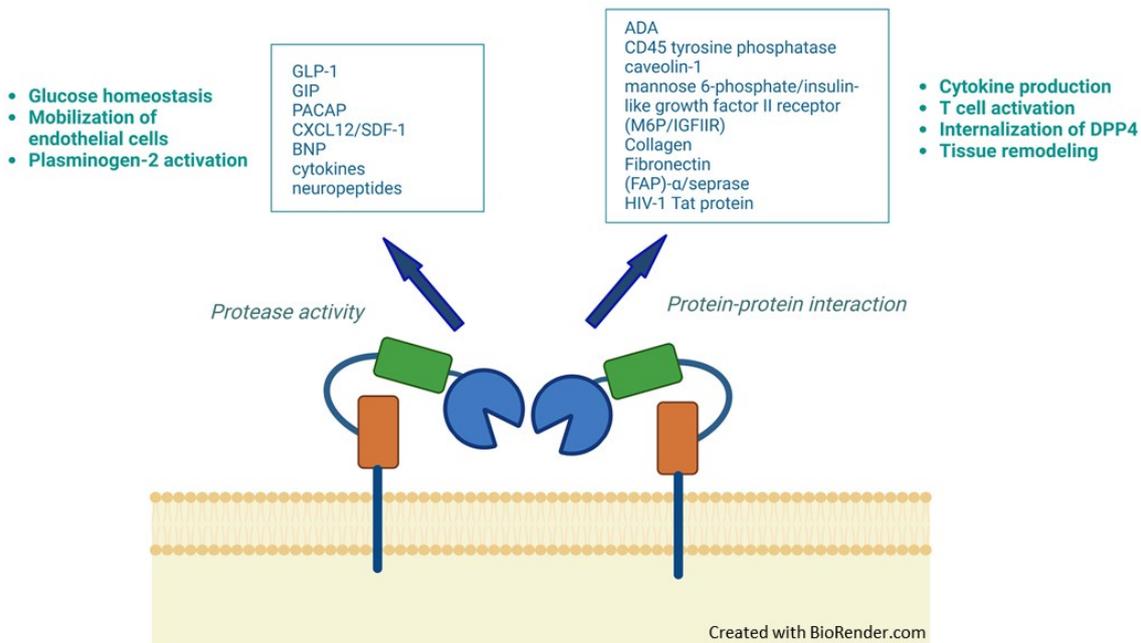


Figura 2.- Representación esquemática de las funciones de DPP4 mediante su actividad proteasa (a la izquierda) o su propia estructura (a la derecha). En el interior de los recuadros, se indican los ligandos o proteínas con las que interacciona, mientras que los procesos fisiológicos en los que están implicados están indicados fuera.

Una de las proteínas asociadas a DPP4 es ADA, una enzima cuya presencia asegura la funcionalidad de los linfocitos T, B y NK, así como una inmunidad celular y humoral adecuada. La presencia de DPP4 en la membrana de las células del sistema inmune permite la acumulación de ADA en la superficie celular, actuando como factor de anclaje. Por otra parte, la interacción de DPP4 con CD45 mediante su dominio intracelular, ocasiona el reclutamiento de ambas enzimas a las balsas lipídicas, facilitando la activación de vías de señalización con roles clave en la activación de los linfocitos T [37]. La activación en sangre periférica de los linfocitos T tiene como consecuencia la fosforilación en la posición 6 de la manosa unida a DPP4. Entonces, DPP4 es capaz de unirse al receptor de M6P/IgFr2, induciendo su internalización, participando así en la co-estimulación de los linfocitos T [38]. DPP4 interacciona también con caveolina-1 en las células presentadoras de antígeno, aumentando la expresión de CD86, la proliferación de los linfocitos T, y la activación del NF-κB. En general, DPP4 es considerada un marcador proteico de la función celular de los linfocitos T [22].

## DPP4 en la COVID-19

### Interacción entre los Coronavirus y DPP4

Los coronavirus con capacidad infectiva para el ser humano utilizan receptores de la superficie celular para unirse e infectar las células. La entrada a la célula depende de la unión de la glicoproteína *spike* (S), a una proteasa específica de la membrana que actúa como receptor, con la consiguiente escisión de la glicoproteína S en dos sitios por distintas proteasas. La proteína S está compuesta de dos dominios: el S1, responsable de reconocer el receptor de unión a la célula hospedadora; y S2, que media la entrada del virus a la célula. El dominio S1 contiene el dominio de unión al receptor (RBD) mientras que la subunidad S2 contiene una proteína de anclaje de transmembrana de un solo paso, y una cola intracelular corta. Cuyo RBD interacciona con su receptor, Furin corta la proteína S en la zona de interacción S1/S2, dividiendo S1 y S2, tras lo cual, la proteasa serina celular de transmembrana tipo II (TMPRSS2), corta el dominio S2. Esta escisión libera a la proteína S2 de la constricción que ejercía S1 sobre ella, permitiendo que su estructura se relaje y forme una proteína de fusión que se inserta en la membrana celular, induciendo la endocitosis de toda la partícula viral. La entrada viral también depende de la actividad de catepsina B/L, que puede ser sustituto de TMPRSS [39,40].

Comparando la proteína S del coronavirus SARS-CoV-2, SARS-CoVs, y MERS-CoV, la más larga se encuentra en MERS-CoV, formada por 80aa más que la proteína S del SARS-CoV-2. La mayoría de las variaciones se encuentran en el dominio S1, especialmente en la fracción N-terminal [41]. Es interesante observar que RBD de SARS-CoV-2, SARS-CoVs y MERS-CoV presentan una arquitectura similar, que consiste en un núcleo de una lámina-β con cinco ramas antiparalelas de láminas-β retorcidas y un bucle interno que interacciona directamente con el receptor [42].

Curiosamente, todos los receptores de superficie identificados hasta ahora para la infección de células humanas por coronavirus son exopeptidasas (p.e. la enzima convertidora de angiotensina 2 (ACE2),

dipeptidilpeptidasa 4 (DPP4), y aminopeptidasa N (APN) [43]), aunque la función exopeptidasa no parece ser requerida para la entrada viral [44]. El principal receptor funcional para SARS-CoV -2 es la proteína ACE, el mismo receptor que SARS-CoV. DPP4 fue identificada como el principal receptor funcional para el coronavirus del síndrome respiratorio del Medio Este (MERSH-CoV) [7] [inicialmente llamado coronavirus humano-Centro Médico Erasmus (hCoV-EMC) [8]]. La interacción entre la proteína S de MERS-CoV y DPP4 fue esencial para la infección viral y estaba correlacionada con la susceptibilidad a la infección de MERS-CoV [45]. Por el contrario, un análisis computacional mostró que, de acuerdo con los valores de energía libre, no había interacciones potenciales entre la proteína S de SARS-CoV y DPP4 (los valores de energía libre fueron  $> 0$  kcal/mol) [46].

No existe todavía demostración experimental de que se produzca interacción entre SARS-CoV-2 y DPP4, y los estudios in vitro no han podido demostrar que el RBD de SARS-CoV-2 se una a las células que expresan DPP4 [47]. A pesar de ello, numerosos descubrimientos sugieren que SARS-CoV-2 no solo utiliza ACE2, sino que puede ayudarse de otros receptores para la entrada en la célula [48]. De hecho, la expresión de ACE2 en el pulmón es relativamente baja, y disminuye con la edad, pero el pulmón es uno de los principales tejidos que sufren daños importantes en la COVID-19 y la edad es uno de los principales factores influyentes en el riesgo y la severidad [49,50]. Recientes descubrimientos sugieren que SARS-CoV-2 podría estar utilizando a DPP4 como co-receptor para entrar en las células [51]. Es más, DPP4 está altamente expresada en las células alveolares de tipo 2 (AT2) de la zona distal del pulmón, así como en la superficie del epitelio, el endotelio vascular, y los fibroblastos de los bronquios, donde participa en diferentes enfermedades pulmonares [52].

Las aproximaciones bioinformáticas de combinación de proteínas humanas y virales, para predecir su interacción y acoplamiento, en base a sus estructuras cristalizadas, revelan la gran afinidad entre la DPP4 humana y el dominio RBS de la proteína S del SARS-CoV-2 [46]. De hecho, DPP4 fue clasificada entre el top 5 de receptores propios de humanos para el SARS-CoV-2 en los análisis predictivos, y tuvo la puntuación más alta en la interacción proteína-proteína. Los residuos cruciales de DPP4, esenciales para la unión a la proteína S del SARS-CoV-2, fueron idénticos a aquellos descritos para la unión de la proteína S de MERS-CoV [66]. El análisis computacional de acoplamiento molecular de la interacción entre la glicoproteína S del SARS-CoV-2 y DPP4 mostraron una gran superficie de comunicación entre las proteínas, sugiriendo la interacción estrecha entre ambas [51]. Es más, este estudio identificó 14 residuos de unión críticos para la interacción de DPP4 y con la glicoproteína S del SARS-CoV-2 [51] (cinco más que con la proteína S de MERS-CoV) [53], sugiriendo una fuerte unión entre estas dos proteínas.

Las estructuras cristalizadas del dominio RBD de la proteína S acoplado con DPP4 demuestran que la interacción no ocurre en el dominio catalítico de la proteasa, sino en el dominio  $\beta$ -hélice, sugiriendo que la interacción virus-receptor es independiente de la actividad peptidasa de DPP4 [54]. Sin embargo, la interacción fue muy similar a la unión de DPP4 con una de sus principales proteínas asociadas (p.e., ADA); y todos los residuos identificados en el acoplamiento del virus con la proteasa también están implicados en su unión con ADA [54,55]. De acuerdo con esto, ADA compite con MERS-CoV por unirse a DPP4, actuando como inhibidor de la unión del virus a la proteasa, y evitando la infección viral [56]. Esta observación induce a pensar que DPP4 podría ser un co-receptor o proteína auxiliar que facilita la entrada viral, como una especie de proteína asociada a ACE2, lo que significa que el SARS-CoV-2 puede que utilice múltiples receptores para entrar en la célula hospedadora [57]. De hecho, el análisis transcriptómico celular de 13 tejidos humanos encontró un perfil de expresión de mRNA similar de ACE2 y DPP4 [58]. Curiosamente, se observó una fuerte correlación positiva entre la localización de DPP4 y la zona pulmonar donde encontraba la inflamación. La búsqueda computacional de las proteínas vecinas más cercanas a DPP4 mostró que DPP4 interacciona con ACE2, visibilizando la colaboración que existe entre ambas proteínas [59]. Sin embargo, serán necesarios más estudios para saber cómo interaccionan DPP4 y ACE2, y como podría ayudar DPP4 en la entrada de SARS-CoV-2 a la célula hospedadora.

Para subrayar la importancia de DPP4 en la COVID-19, se diseñaron dos anticuerpos monoclonales dirigidos contra esta proteasa para tratar a los pacientes de COVID-19. Beigelomab, un anticuerpo monoclonal anti-DPP4 fue eficaz en el tratamiento de las condiciones hematológicas que mimetizaban la hiperinflamación causada por el SARS-CoV-2 [60]. Un nuevo anticuerpo fue diseñado para interaccionar con ACE2 y DPP4, pero su uso en pacientes no ha sido evaluado aún [61]. Aunque no se han desarrollado ensayos clínicos hasta ahora para evaluar su eficacia, los anticuerpos anti-DPP4 podrían ser considerados un enfoque interesante, que merece la pena probar para lidiar con la COVID-19.

## DPP4 y la Respuesta Inmune en pacientes de COVID-19

### DPP4 en la inflamación

En la superficie celular, DPP4 interacciona con numerosas proteínas entre las que se incluye la adenosina desaminasa (ADA). ADA cataliza la desaminación irreversible de adenosina y 2'-desoxiadenosina a inosina y 2'-desoxiinosina, reduciendo los niveles de adenosina y bloqueando sus efectos biológicos,

esencialmente inmunosupresores y antiinflamatorios [62]. Además, se ha descrito recientemente que adenosina tiene un papel clave en los procesos que gobiernan la resolución de la inflamación [63]. Mediante la unión a ADA por su dominio extracelular, DPP4 recluta esta enzima a la superficie de linfocitos. En la superficie celular, ADA y DPP4 también actúan como co-estimuladoras de la señal promotora de la proliferación de linfocitos y producción de citoquinas, desembocando en un marcado aumento (3-34 veces) de la producción de citoquinas pro-inflamatorias IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , e IL-6 [64]. En conjunto, estas observaciones indican que DPP4 es un importante regulador del sistema inmune y por ello puede contribuir a las comorbilidades de la COVID-19.

### Impacto de la DPP4 y la inflamación en la clínica de la COVID-19

Una de las características de la COVID-19 es una respuesta inmune ampliada y aberrante contra el SARS-CoV-2, resultando en una tormenta de citoquinas, potencialmente desencadenando daño agudo en los pulmones, y conduciendo al síndrome respiratorio agudo que dio nombre a esta enfermedad. La respuesta inflamatoria invasiva libera grandes cantidades de citoquinas proinflamatorias, causando una inflamación sistémica descontrolada, que contribuye a la fisiopatología y eventualmente a la fibrosis, ocasionando daños en el tejido y fallo orgánico, además de desestabilización de la placa coronaria, y daño de los cardiomiocitos inducido por hipoxia [65]. El daño cardiovascular y las coagulopatías contribuyen a las complicaciones de la COVID-19.

Además, se relacionó una reducción significativa en suero de los niveles de DPP4 con T2DM, edad, y demencia asociada a la edad [66]. Los autores proponen que los niveles elevados de DPP4 podrían ser protectores frente a la infección viral mediante la inhibición competitiva de la unión del virus a DPP4 en la membrana celular, mientras que los niveles bajos de DPP4 sérica podrían incrementar el riesgo de infección [66].

Se ha demostrado que los glucocorticoides, como dexametasona, mediante su unión al receptor de glucocorticoides, puede inducir la expresión génica de DPP4 ya que, en el promotor de DPP4, hay dos elementos de respuesta a glucocorticoides (GREs). Curiosamente, los glucocorticoides estimulaban en gran medida la migración de macrófagos mediante un mecanismo dependiente de DPP4 [67]. En ratones de experimentación se vio que la región promotora de DPP4 estaba hiperacetilada durante y después de tratarlos con dexametasona [68]. La regulación a lo alto de DPP4 mediante glucocorticoides podría contribuir al efecto hiperglicemiante de estas hormonas esteroideas, pero, a su vez, podría jugar un papel en la fisiopatología de la COVID-19, considerando que los glucocorticoides han sido identificados como agentes terapéuticos contra esta enfermedad, dado sus efectos antiinflamatorios [69].

Nombre comercial	Principio(s) activo(s)	Titular de la autorización comercial	Nº identificación en la EMA	Fecha <sup>1</sup> de aprobación en la EMA
Vipidia	Alogliptina	Takeda Pharma A/S	EMA/H/C/002182	09/18/2013
Vipdomet	Alogliptina y Metformina	Takeda Pharma A/S	EMA/H/C/002654	09/18/2013
Incresync	Alogliptina y pioglitazone	Takeda Pharma A/S	EMA/H/C/002178	09/19/2013
Trajenta	Linagliptina	Boehringer Ingelheim GmbH	EMA/H/C/002110	08/23/2011
Jentaduet o	Linagliptina y Metformina	Boehringer Ingelheim GmbH	EMA/H/C/002279	07/19/2012
Glyxambi	Linagliptina y empagliflozin	Boehringer Ingelheim GmbH	EMA/H/C/003833	11/11/2016
Onglyza	Saxagliptina	AstraZeneca AB	EMA/H/C/001039	09/30/2009
Komboglyze	Saxagliptina y Metformina	AstraZeneca AB	EMA/H/C/002059	11/24/2011
Qtern	Saxagliptina y dapagliflozin	AstraZeneca AB	EMA/H/C/004057	07/15/2016
Januvia	Sitagliptina	Merck Sharp & Dohme B.V.	EMA/H/C/000722	03/20/2007
Xelevia	Sitagliptina	Merck Sharp & Dohme B.V.	EMA/H/C/000762	03/21/2007
Tesavel	Sitagliptina	Merck Sharp & Dohme B.V.	EMA/H/C/000910	01/10/2008
Efficib	Sitagliptina y Metformina	Merck Sharp & Dohme B.V.	EMA/H/C/000896	07/15/2008
Janumet	Sitagliptina y Metformina	Merck Sharp & Dohme B.V.	EMA/H/C/000861	07/16/2008
Velmetia	Sitagliptina y Metformina	Merck Sharp & Dohme B.V.	EMA/H/C/000862	07/16/2008
Ristfor	Sitagliptina y Metformina	Merck Sharp & Dohme B.V.	EMA/H/C/001235	03/15/2010
Ristaban	Sitagliptina	Merck Sharp & Dohme B.V.	EMA/H/C/001234	03/15/2010
Steglujan	Sitagliptina y ertuglifozin	Merck Sharp & Dohme B.V.	EMA/H/C/004313	03/23/2018 (AM)
Galvus	Vildagliptina	Novartis Europharm Limited	EMA/H/C/000771	09/25/2007
Eucreas	Vildagliptina y Metformina	Novartis Europharm Limited	EMA/H/C/000807	11/14/2007
Xiliarx	Vildagliptina	Novartis Europharm Limited	EMA/H/C/001051	11/19/2008
Jalra	Vildagliptina	Novartis Europharm Limited	EMA/H/C/001048	11/19/2008
Zomarist	Vildagliptina y Metformina	Novartis Europharm Limited	EMA/H/C/001049	11/30/2008
Icyra <sup>2</sup>	Vildagliptina y Metformina	Novartis Europharm Limited	EMA/H/C/001050	11/30/2008

Tabla 1.- Lista de inhibidores de DPP4 aprobados por la Agencia Europea del Medicamento (EMA)

<sup>1</sup> Fecha (día/ mes/año) de expedición de la autorización de comercialización válida en toda la Unión Europea. <sup>2</sup> Anteriormente Vildagliptina/clorhidrato de Metformina Novartis. AM, seguimiento adicional. Significa que este fármaco tiene una vigilancia más intensa que otros medicamentos.

## Efecto de los inhibidores de DPP4 en los pacientes de COVID-19

Considerado el papel de DPP4 en la fisiopatología de la COVID-19, se puede especular que la inhibición de DPP4 podría ser protectora frente a la infección por SARS-CoV-2, lo que podría ser beneficioso para el desenlace clínico. Numerosos inhibidores de DPP4 (p.e., gliptinas) están aprobadas mundialmente, como Alogliptina [70], Linagliptina [71], Sitagliptina [72], Saxagliptina [73], y Vildagliptina [74], la última a excepción de Estados Unidos. Aquellos aprobados por la Agencia Europea del Medicamento (EMA) están agrupados en la Tabla 1.

Es importante puntualizar que aún no se ha demostrado un efecto directo de los inhibidores de DPP4 en la prevención de la infección por coronavirus. De todas formas, las pruebas que ilustran que DPP4 tiene efectos beneficiosos en el desenlace clínico, mediante la reducción de las complicaciones de la COVID-19 y la reducción de la mortalidad, van en aumento. En un estudio retrospectivo multinacional de cohortes que incluía 56 grandes organizaciones de cuidado de la salud, se vio que el uso de inhibidores de DPP4 estaba asociado con la reducción de complicaciones respiratorias y el descenso de la mortalidad, basándose en 2264 pacientes tratados solo con inhibidores de DPP4 (p.e., Alogliptina, Linagliptina, Saxagliptina, o Sitagliptina) [74]. De este modo, un estudio clínico prospectivo aleatorizado con 263 pacientes de COVID-19 mostraron que aquellos tratados con Sitagliptina durante 2 días tenían mejores desenlaces de la enfermedad y se reducía la infiltración a los pulmones que en el grupo control [75]. Es más, un estudio prospectivo con 89 pacientes de COVID-19 no diabéticos demostraron que Sitagliptina mejoraba el resultado clínico, la calificación radiológica, y biomarcadores inflamatorios, apuntando al uso potencial de los inhibidores de DPP4 en el control de los pacientes no diabéticos de COVID-19 [76]. Un meta-análisis mostró que el efecto de las gliptinas era independiente de la edad, sexo, raza y localización [77]. De todas formas, en la mayoría de los casos, los usuarios de los inhibidores de DPP4 tienen otras medicaciones para la T2DM como Metformina, inhibidores del sistema renina-angiotensina, tiazolidinedionas, diuréticos, o estatinas, dificultando que se atribuya el efecto beneficioso solo a los inhibidores de DPP4 [78]. Un estudio clínico para evaluar el efecto de la combinación de Linagliptina e insulina en el control metabólico y prognosis de los pacientes hospitalizados con COVID-19 e hiperglicemia reveló que la combinación de tratamientos reducía el riesgo relativo de necesitar ventilación asistida en un 74%, y mejoró aún más los niveles pre y postprandiales de glucosa con menos requerimientos de insulina, sin aumentar el riesgo de hipoglicemia [79]. Otro estudio, acerca del impacto de diferentes agentes antidiabéticos, en pacientes con diabetes y COVID-19 mostró que los inhibidores de DPP4 muy posiblemente redujeron el riesgo de mortalidad por COVID-19 en pacientes diabéticos [80].

A parte, las gliptinas podrían jugar un papel en la prevención de inmunopatogénesis y complicaciones de la COVID-19. De hecho, exhiben un efecto antiinflamatorio notable. En modelos experimentales de inflamación y fibrosis, las gliptinas suprimen la activación de los macrófagos, mejoran la inflamación, reducen la producción de citoquinas, mitigan la respuesta inflamatoria sistémica, y reducen la trombosis microvascular [81-83]. En pacientes de COVID-19 con T2DM, el uso de inhibidores de DPP4 redujo las posibilidades de sufrir deterioro clínico y síndrome hiperinflamatorio [84]. En un meta-análisis reciente encaminado a conocer el impacto potencial de los inhibidores de DPP4 en las muertes relacionadas con la COVID-19, se demostró que cuyo se administraban en el entorno hospitalario, los inhibidores de DPP4 redujeron el riesgo de muerte asociada a la COVID-19 en un 50% [85].

Las reacciones inflamatorias crónicas podrían inducir fibrosis por activación de miofibroblastos, lo que produciría elementos conectivos del tejido, que resultarían en una deposición de componentes de la matriz extracelular que remodelan y destruyen progresivamente la arquitectura del tejido normal. De hecho, la fibrosis pulmonar tiene un papel crucial en la patología de la COVID-19. Se ha visto que la expresión de DPP4 aumenta en la superficie de los miofibroblastos, que se encuentran activados por el factor de crecimiento transformador  $\beta$  (TGF- $\beta$ ) y su nivel de correlación con marcadores de miofibroblastos y deposición de colágeno, sugiere que hay una estrecha relación entre DPP4 y la fibrosis [86]. Es más, la inhibición farmacológica o la inactivación genética de DPP4 exhibió una potente actividad como antifibrótico reduciendo notablemente la migración y proliferación de los fibroblastos, y la expresión de proteínas contráctiles [86]. Por ello, los inhibidores de DPP4 podrían tener un uso potencial para detener la progresión hacia el estado hiperinflamatorio y profibrótico asociado con los casos graves de COVID-19 [87].

Además, las gliptinas reducen la infiltración de macrófagos al riñón y mejoran el daño renal temprano [88], lo que indica que los inhibidores de DPP4 podrían tener un enfoque terapéutico para preservar la función renal, ya que el fallo renal es una complicación habitual en los pacientes de COVID-19. Un estudio clínico llevado a cabo para evaluar los efectos de un potente inhibidor de DPP4 (Gemigliptina) en daño renal, albuminuria, e inflamación vascular entre pacientes con enfermedad renal asociada a la diabetes, demostró que los biomarcadores de calcificación vascular y daño renal mejoraban significativamente en el grupo en tratamiento con Gemigliptina, en comparación con el grupo control, y aún más interesante, no se observaron efectos adversos en el grupo en tratamiento con Gemigliptina durante el estudio [89].

En un Resumen de Expertos reciente se consensuó sobre la efectividad y seguridad de los inhibidores de DPP4 en el tratamiento de pacientes con diabetes y COVID-19 [90], y se concluyó que el uso de inhibidores podría presentar un beneficio específico en la reducción de mortalidad, en particular en su uso dentro del ámbito hospitalario, reduciendo la admisión a las unidades de cuidados intensivos, junto con la necesidad de ventilación asistida, y más importante, el uso de inhibidores de DPP4 parece ser seguro en pacientes con COVID-19. Todos estos datos en conjunto indican que los inhibidores de DPP4 tienen potencial valor terapéutico en el daño multiorgánico causado por la COVID-19.

## Conclusiones

Los datos clínicos obtenidos al utilizar inhibidores de DPP4 mostraron que esta proteasa influye en el riesgo y desenlace clínico de la COVID-19. A pesar de que los experimentos *in silico* que predicen la unión compatible entre DPP4 y la glicoproteína S del SARS-CoV-2 no se han demostrado hasta ahora *in vitro* o *in vivo*, el impacto de DPP4 en la fisiopatología de la COVID-19 va más allá, dadas las múltiples funciones que lleva a cabo la proteasa. En esta línea, el ambiente proinflamatorio que se desarrolla durante el curso de la enfermedad, con la característica tormenta de citoquinas, está también afectado por la regulación por parte de DPP4 sobre el sistema inmune. En resumen, la literatura posiciona los inhibidores de DPP4 como candidatos para colaborar en la lucha contra la respuesta hiperinflamatoria típica de la COVID-19. Además, sería de gran ayuda para diferenciar los efectos de los inhibidores de DPP4 de otros fármacos antidiabéticos, diseñar futuros estudios retrospectivos y epidemiológicos en los que los inhibidores de DPP4 pudieran ser suministrados en solitario, o con suficientes grupos control para diferenciar su impacto en diferentes parámetros de la progresión de la enfermedad y su pronóstico.

## Agradecimientos

Esta investigación se enmarca en el proyecto sobre COVID-19 y diabetes (REACT UE-CM2021-02), financiado por la Comunidad de Madrid en convenio con la Universidad de Alcalá, y cofinanciado con recursos REACT-EU del Fondo Europeo de Desarrollo Regional «A way to make Europe». Los autores también agradecen el apoyo económico del Instituto de Salud Carlos III a través del proyecto "PI20/01327" (Cofinanciado por el Fondo Europeo de Desarrollo Regional "Una forma de hacer Europa"), y de la Fundación Tatiana Pérez de Guzmán el Bueno (Beca Patrocinio 2019-001) y de la Universidad de Alcalá (Beca CCG20/CC-011). B.G.S. es beneficiaria de una beca predoctoral del Ministerio de España de Educación, Cultura y Deporte (FPU17/03380). Los financiadores no tuvieron ningún papel en el diseño de la revisión, la recopilación y análisis de los datos, su interpretación, y la decisión de publicar o preparación del manuscrito.

## Bibliografía

1. Hopsu-Havu, V.K.; Glenner, G.G. A new dipeptide naphthylamidase hydrolyzing glycyl-prolyl-beta-naphthylamide. *Histochemie* **1966**, *7*, 197-201, doi:10.1007/BF00577838.
2. Ulmer, A.J.; Mattern, T.; Feller, A.C.; Heymann, E.; Flad, H.D. CD26 antigen is a surface dipeptidyl peptidase IV (DPPIV) as characterized by monoclonal antibodies clone TII-19-4-7 y 4EL1C7. *Scy J Immunol* **1990**, *31*, 429-435, doi:10.1111/j.1365-3083.1990.tb02789.x.
3. Morrison, M.E.; Vijayaradhi, S.; Engelstein, D.; Albino, A.P.; Houghton, A.N. A marker for neoplastic progression of human melanocytes is a cell surface ectopeptidase. *J Exp Med* **1993**, *177*, 1135-1143, doi:10.1084/jem.177.4.1135.
4. Boonacker, E.; Van Noorden, C.J. The multifunctional or moonlighting protein CD26/DPPIV. *Eur J Cell Biol* **2003**, *82*, 53-73, doi:10.1078/0171-9335-00302.
5. Yang, J.; Zheng, Y.; Gou, X.; Pu, K.; Chen, Z.; Guo, Q.; Ji, R.; Wang, H.; Wang, Y.; Zhou, Y. Prevalence of comorbidities y its effects in patients infected with SARS-CoV-2: a systematic review y meta-analysis. *Int J Infect Dis* **2020**, *94*, 91-95, doi:10.1016/j.ijid.2020.03.017.
6. Li, T.T.; Peng, C.; Wang, J.Q.; Xu, Z.J.; Su, M.B.; Li, J.; Zhu, W.L.; Li, J.Y. Distal mutation V486M disrupts the catalytic activity of DPP4 by affecting the flap of the propeller domain. *Acta Pharmacol Sin* **2021**, doi:10.1038/s41401-021-00818-x.
7. Wagner, L.; Klemann, C.; Stephan, M.; von Horsten, S. Unravelling the immunological roles of dipeptidyl peptidase 4 (DPP4) activity y/or structure homologue (DASH) proteins. *Clin Exp Immunol* **2016**, *184*, 265-283, doi:10.1111/cei.12757.
8. Mulvihill, E.E.; Drucker, D.J. Pharmacology, physiology, y mechanisms of action of dipeptidyl peptidase-4 inhibitors. *Endocr Rev* **2014**, *35*, 992-1019, doi:10.1210/er.2014-1035.

9. Rohrborn, D.; Wronkowitz, N.; Eckel, J. DPP4 in Diabetes. *Front Immunol* **2015**, *6*, 386, doi:10.3389/fimmu.2015.00386.
10. Rawlings, N.D.; Morton, F.R.; Kok, C.Y.; Kong, J.; Barrett, A.J. MEROPS: the peptidase database. *Nucleic Acids Res* **2008**, *36*, D320-325, doi:10.1093/nar/gkm954.
11. Ikehara, Y.; Ogata, S.; Misumi, Y. Dipeptidyl-peptidase IV from rat liver. *Methods Enzymol* **1994**, *244*, 215-227, doi:10.1016/0076-6879(94)44018-2.
12. Thoma, R.; Löffler, B.; Stihle, M.; Huber, W.; Ruf, A.; Hennig, M. Structural basis of proline-specific exopeptidase activity as observed in human dipeptidyl peptidase-IV. *Structure* **2003**, *11*, 947-959, doi:10.1016/s0969-2126(03)00160-6.
13. Matteucci, E.; Giampietro, O. Dipeptidyl peptidase-4 (CD26): knowing the function before inhibiting the enzyme. *Curr Med Chem* **2009**, *16*, 2943-2951, doi:10.2174/092986709788803114.
14. Zhong, J.; Kankanala, S.; Rajagopalan, S. Dipeptidyl peptidase-4 inhibition: insights from the bench y recent clinical studies. *Curr Opin Lipidol* **2016**, *27*, 484-492, doi:10.1097/MOL.0000000000000340.
15. Klemann, C.; Wagner, L.; Stephan, M.; von Horsten, S. Cut to the chase: a review of CD26/dipeptidyl peptidase-4's (DPP4) entanglement in the immune system. *Clin Exp Immunol* **2016**, *185*, 1-21, doi:10.1111/cei.12781.
16. Alaofi, A.L. Exploring structural dynamics of the MERS-CoV receptor DPP4 y mutant DPP4 receptors. *J Biomol Struct Dyn* **2022**, *40*, 752-763, doi:10.1080/07391102.2020.1818626.
17. Oefner, C.; D'Arcy, A.; Mac Sweeney, A.; Pierau, S.; Gardiner, R.; Dale, G.E. High-resolution structure of human apo dipeptidyl peptidase IV/CD26 y its complex with 1-[(2-[(5-iodopyridin-2-yl)amino]-ethyl)amino]-acetyl]-2-cyano-(S)-pyrrolidine. *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr* **2003**, *59*, 1206-1212, doi:10.1107/s0907444903010059.
18. Aliyari Serej, Z.; Ebrahimi Kalan, A.; Mehdipour, A.; Nozad Charoudeh, H. Regulation y roles of CD26/DPP4 in hematopoiesis y diseases. *Biomed Pharmacother* **2017**, *91*, 88-94, doi:10.1016/j.biopha.2017.04.074.
19. Wagner, L. Dipeptidyl peptidase 4. *Encyclopedia of Signaling Molecules* **2018**, 1383-1396, doi:[https://doi.org/10.1007/978-3-319-67199-4\\_101580](https://doi.org/10.1007/978-3-319-67199-4_101580).
20. Weihofen, W.A.; Liu, J.; Reutter, W.; Saenger, W.; Fan, H. Crystal structure of CD26/dipeptidyl-peptidase IV in complex with adenosine deaminase reveals a highly amphiphilic interface. *J Biol Chem* **2004**, *279*, 43330-43335, doi:10.1074/jbc.M405001200.
21. Havre, P.A.; Abe, M.; Urasaki, Y.; Ohnuma, K.; Morimoto, C.; Dang, N.H. The role of CD26/dipeptidyl peptidase IV in cancer. *Front Biosci* **2008**, *13*, 1634-1645, doi:10.2741/2787.
22. Chitadze, G.; Wehkamp, U.; Janssen, O.; Bruggemann, M.; Lettau, M. The Serine Protease CD26/DPP4 in Non-Transformed y Malignant T Cells. *Cancers (Basel)* **2021**, *13*, doi:10.3390/cancers13235947.
23. Proenca, C.; Ribeiro, D.; Freitas, M.; Carvalho, F.; Fernyes, E. A comprehensive review on the antidiabetic activity of flavonoids targeting PTP1B y DPP-4: a structure-activity relationship analysis. *Crit Rev Food Sci Nutr* **2022**, *62*, 4095-4151, doi:10.1080/10408398.2021.1872483.
24. Gong, Q.; Rajagopalan, S.; Zhong, J. Dpp4 inhibition as a therapeutic strategy in cardiometabolic disease: Incretin-dependent y -independent function. *Int J Cardiol* **2015**, *197*, 170-179, doi:10.1016/j.ijcard.2015.06.076.
25. Nistala, R.; Savin, V. Diabetes, hypertension, y chronic kidney disease progression: role of DPP4. *Am J Physiol Renal Physiol* **2017**, *312*, F661-F670, doi:10.1152/ajprenal.00316.2016.
26. Song, W.; Wang, Y.; Wang, N.; Wang, D.; Guo, J.; Fu, L.; Shi, X. Identification of residues on human receptor DPP4 critical for MERS-CoV binding y entry. *Virology* **2014**, *471-473*, 49-53, doi:10.1016/j.virol.2014.10.006.

27. Rasmussen, H.B.; Branner, S.; Wiberg, F.C.; Wagtmann, N. Crystal structure of human dipeptidyl peptidase IV/CD26 in complex with a substrate analog. *Nat Struct Biol* **2003**, *10*, 19-25, doi:10.1038/nsb882.
28. Hiramatsu, H.; Kyono, K.; Higashiyama, Y.; Fukushima, C.; Shima, H.; Sugiyama, S.; Inaka, K.; Yamamoto, A.; Shimizu, R. The structure y function of human dipeptidyl peptidase IV, possessing a unique eight-bladed beta-propeller fold. *Biochem Biophys Res Commun* **2003**, *302*, 849-854, doi:10.1016/s0006-291x(03)00258-4.
29. Trzaskalski, N.A.; Fadzeyeva, E.; Mulvihill, E.E. Dipeptidyl Peptidase-4 at the Interface Between Inflammation y Metabolism. *Clin Med Insights Endocrinol Diabetes* **2020**, *13*, 1179551420912972, doi:10.1177/1179551420912972.
30. Maslov, I.O.; Zinevich, T.V.; Kirichenko, O.G.; Trukhan, M.V.; Shorshnev, S.V.; Tuueva, N.O.; Gureev, M.A.; Dahlen, A.D.; Porozov, Y.B.; Schioth, H.B.; et al. Design, Synthesis y Biological Evaluation of Neoglipatin, a Novel 2-Azabicyclo[2.2.1]heptane-Based Inhibitor of Dipeptidyl Peptidase-4 (DPP-4). *Pharmaceuticals (Basel)* **2022**, *15*, doi:10.3390/ph15030273.
31. Engel, M.; Hoffmann, T.; Wagner, L.; Wermann, M.; Heiser, U.; Kiefersauer, R.; Huber, R.; Bode, W.; Demuth, H.U.; Brystetter, H. The crystal structure of dipeptidyl peptidase IV (CD26) reveals its functional regulation y enzymatic mechanism. *Proc Natl Acad Sci U S A* **2003**, *100*, 5063-5068, doi:10.1073/pnas.0230620100.
32. Gorrell, M.D.; Gysbers, V.; McCaughan, G.W. CD26: a multifunctional integral membrane y secreted protein of activated lymphocytes. *Scy J Immunol* **2001**, *54*, 249-264, doi:10.1046/j.1365-3083.2001.00984.x.
33. Ou, X.; O'Leary, H.A.; Broxmeyer, H.E. Implications of DPP4 modification of proteins that regulate stem/progenitor y more mature cell types. *Blood* **2013**, *122*, 161-169, doi:10.1182/blood-2013-02-487470.
34. Waumans, Y.; Baerts, L.; Kehoe, K.; Lambair, A.M.; De Meester, I. The Dipeptidyl Peptidase Family, Prolyl Oligopeptidase, y Prolyl Carboxypeptidase in the Immune System y Inflammatory Disease, Including Atherosclerosis. *Front Immunol* **2015**, *6*, 387, doi:10.3389/fimmu.2015.00387.
35. Xi, C.R.; Di Fazio, A.; Nadvi, N.A.; Patel, K.; Xiang, M.S.W.; Zhang, H.E.; Deshpye, C.; Low, J.K.K.; Wang, X.T.; Chen, Y.; et al. A Novel Purification Procedure for Active Recombinant Human DPP4 y the Inability of DPP4 to Bind SARS-CoV-2. *Molecules* **2020**, *25*, doi:10.3390/molecules25225392.
36. Huang, J.; Liu, X.; Wei, Y.; Li, X.; Gao, S.; Dong, L.; Rao, X.; Zhong, J. Emerging Role of Dipeptidyl Peptidase-4 in Autoimmune Disease. *Front Immunol* **2022**, *13*, 830863, doi:10.3389/fimmu.2022.830863.
37. Ishii, T.; Ohnuma, K.; Murakami, A.; Takasawa, N.; Kobayashi, S.; Dang, N.H.; Schlossman, S.F.; Morimoto, C. CD26-mediated signaling for T cell activation occurs in lipid rafts through its association with CD45RO. *Proc Natl Acad Sci U S A* **2001**, *98*, 12138-12143, doi:10.1073/pnas.211439098.
38. Ikushima, H.; Munakata, Y.; Ishii, T.; Iwata, S.; Terashima, M.; Tanaka, H.; Schlossman, S.F.; Morimoto, C. Internalization of CD26 by mannose 6-phosphate/insulin-like growth factor II receptor contributes to T cell activation. *Proc Natl Acad Sci U S A* **2000**, *97*, 8439-8444, doi:10.1073/pnas.97.15.8439.
39. Essalmani, R.; Jain, J.; Susan-Resiga, D.; Yreo, U.; Evagelidis, A.; Derbali, R.M.; Huynh, D.N.; Dallaire, F.; Laporte, M.; Delpal, A.; et al. Distinctive Roles of Furin y TMPRSS2 in SARS-CoV-2 Infectivity. *J Virol* **2022**, *96*, e0012822, doi:10.1128/jvi.00128-22.
40. Takeda, M. Proteolytic activation of SARS-CoV-2 spike protein. *Microbiol Immunol* **2022**, *66*, 15-23, doi:10.1111/1348-0421.12945.
41. Trigueiro-Louro, J.; Correia, V.; Figueiredo-Nunes, I.; Giria, M.; Rebelo-de-Yrade, H. Unlocking COVID therapeutic targets: A structure-based rationale against SARS-CoV-2, SARS-CoV y MERS-CoV Spike. *Comput Struct Biotechnol J* **2020**, *18*, 2117-2131,

42. Qiao, S.; Zhang, S.; Ge, J.; Wang, X. The spike glycoprotein of highly pathogenic human coronaviruses: structural insights for understying infection, evolution y inhibition. *FEBS Open Bio* **2022**, doi:10.1002/2211-5463.13454.
43. Bosch, B.J.; Smits, S.L.; Haagmans, B.L. Membrane ectopeptidases targeted by human coronaviruses. *Curr Opin Virol* **2014**, *6*, 55-60, doi:10.1016/j.coviro.2014.03.011.
44. Shatizadeh Malekshahi, S.; Yavarian, J.; Shafiei-Jyaghi, N.Z. Usage of peptidases by SARS-CoV-2 y several human coronaviruses as receptors: A mysterious story. *Biotechnol Appl Biochem* **2022**, *69*, 124-128, doi:10.1002/bab.2087.
45. Raj, V.S.; Mou, H.; Smits, S.L.; Dekkers, D.H.; Muller, M.A.; Dijkman, R.; Muth, D.; Demmers, J.A.; Zaki, A.; Fouchier, R.A.; et al. Dipeptidyl peptidase 4 is a functional receptor for the emerging human coronavirus-EMC. *Nature* **2013**, *495*, 251-254, doi:10.1038/nature12005.
46. Li, Y.; Zhang, Z.; Yang, L.; Lian, X.; Xie, Y.; Li, S.; Xin, S.; Cao, P.; Lu, J. The MERS-CoV Receptor DPP4 as a Cyidate Binding Target of the SARS-CoV-2 Spike. *iScience* **2020**, *23*, 101400, doi:10.1016/j.isci.2020.101400.
47. Tai, W.; He, L.; Zhang, X.; Pu, J.; Voronin, D.; Jiang, S.; Zhou, Y.; Du, L. Characterization of the receptor-binding domain (RBD) of 2019 novel coronavirus: implication for development of RBD protein as a viral attachment inhibitor y vaccine. *Cell Mol Immunol* **2020**, *17*, 613-620, doi:10.1038/s41423-020-0400-4.
48. Alipoor, S.D.; Mirsaeidi, M. SARS-CoV-2 cell entry beyond the ACE2 receptor. *Mol Biol Rep* **2022**, doi:10.1007/s11033-022-07700-x.
49. Hikmet, F.; Mear, L.; Edvinsson, A.; Micke, P.; Uhlen, M.; Lindskog, C. The protein expression profile of ACE2 in human tissues. *Mol Syst Biol* **2020**, *16*, e9610, doi:10.15252/msb.20209610.
50. Romero Starke, K.; Reissig, D.; Petereit-Haack, G.; Schmauder, S.; Nienhaus, A.; Seidler, A. The isolated effect of age on the risk of COVID-19 severe outcomes: a systematic review with meta-analysis. *BMJ Glob Health* **2021**, *6*, doi:10.1136/bmjgh-2021-006434.
51. Vankadari, N.; Wilce, J.A. Emerging WuHan (COVID-19) coronavirus: glycan shield y structure prediction of spike glycoprotein y its interaction with human CD26. *Emerg Microbes Infect* **2020**, *9*, 601-604, doi:10.1080/22221751.2020.1739565.
52. Zhang, T.; Tong, X.; Zhang, S.; Wang, D.; Wang, L.; Wang, Q.; Fan, H. The Roles of Dipeptidyl Peptidase 4 (DPP4) y DPP4 Inhibitors in Different Lung Diseases: New Evidence. *Front Pharmacol* **2021**, *12*, 731453, doi:10.3389/fphar.2021.731453.
53. Wang, N.; Shi, X.; Jiang, L.; Zhang, S.; Wang, D.; Tong, P.; Guo, D.; Fu, L.; Cui, Y.; Liu, X.; et al. Structure of MERS-CoV spike receptor-binding domain complexed with human receptor DPP4. *Cell Res* **2013**, *23*, 986-993, doi:10.1038/cr.2013.92.
54. Lu, G.; Hu, Y.; Wang, Q.; Qi, J.; Gao, F.; Li, Y.; Zhang, Y.; Zhang, W.; Yuan, Y.; Bao, J.; et al. Molecular basis of binding between novel human coronavirus MERS-CoV y its receptor CD26. *Nature* **2013**, *500*, 227-231, doi:10.1038/nature12328.
55. Cameron, K.; Rozano, L.; Falasca, M.; Mancera, R.L. Does the SARS-CoV-2 Spike Protein Receptor Binding Domain Interact Effectively with the DPP4 (CD26) Receptor? A Molecular Docking Study. *Int J Mol Sci* **2021**, *22*, doi:10.3390/ijms22137001.
56. Raj, V.S.; Smits, S.L.; Provacía, L.B.; van den Bry, J.M.; Wiersma, L.; Ouwendijk, W.J.; Bestebroer, T.M.; Spronken, M.I.; van Amerongen, G.; Rottier, P.J.; et al. Adenosine deaminase acts as a natural antagonist for dipeptidyl peptidase 4-mediated entry of the Middle East respiratory syndrome coronavirus. *J Virol* **2014**, *88*, 1834-1838, doi:10.1128/JVI.02935-13.
57. Gadanec, L.K.; McSweeney, K.R.; Qaradakhí, T.; Ali, B.; Zulli, A.; Apostolopoulos, V. Can SARS-CoV-2 Virus Use Multiple Receptors to Enter Host Cells? *Int J Mol Sci* **2021**, *22*, doi:10.3390/ijms22030992.
58. Qi, F.; Qian, S.; Zhang, S.; Zhang, Z. Single cell RNA sequencing of 13 human tissues identify cell types y receptors of human coronaviruses. *Biochem Biophys Res Commun* **2020**, *526*, 135-140, doi:10.1016/j.bbrc.2020.03.044.

59. Bardaweel, S.K.; Hajjo, R.; Sabbah, D.A. Sitagliptina: a potential drug for the treatment of COVID-19? *Acta Pharm* **2021**, *71*, 175-184, doi:10.2478/acph-2021-0013.
60. Galimberti, S.; Baldini, C.; Barate, C.; Ricci, F.; Balducci, S.; Grassi, S.; Ferro, F.; Buda, G.; Benedetti, E.; Fazzi, R.; et al. The CoV-2 outbreak: how hematologists could help to fight Covid-19. *Pharmacol Res* **2020**, *157*, 104866, doi:10.1016/j.phrs.2020.104866.
61. Ojha, R.; Gurjar, K.; Ratnakar, T.S.; Mishra, A.; Prajapati, V.K. Designing of a bispecific antibody against SARS-CoV-2 spike glycoprotein targeting human entry receptors DPP4 y ACE2. *Hum Immunol* **2022**, *83*, 346-355, doi:10.1016/j.humimm.2022.01.004.
62. Antonioli, L.; Pacher, P.; Hasko, G. Adenosine y inflammation: it's time to (re)solve the problem. *Trends Pharmacol Sci* **2022**, *43*, 43-55, doi:10.1016/j.tips.2021.10.010.
63. Pacheco, R.; Martinez-Navio, J.M.; Lejeune, M.; Climent, N.; Oliva, H.; Gatell, J.M.; Gallart, T.; Mallol, J.; Lluís, C.; Franco, R. CD26, adenosine deaminase, y adenosine receptors mediate costimulatory signals in the immunological synapse. *Proc Natl Acad Sci U S A* **2005**, *102*, 9583-9588, doi:10.1073/pnas.0501050102.
64. Babapoor-Farrokhran, S.; Gill, D.; Walker, J.; Rasekhi, R.T.; Bozorgnia, B.; Amanullah, A. Myocardial injury y COVID-19: Possible mechanisms. *Life Sci* **2020**, *253*, 117723, doi:10.1016/j.lfs.2020.117723.
65. Raha, A.A.; Chakraborty, S.; Henderson, J.; Mukaetova-Ladinska, E.; Zaman, S.; Trowsdale, J.; Raha-Chowdhury, R. Investigation of CD26, a potential SARS-CoV-2 receptor, as a biomarker of age y pathology. *Biosci Rep* **2020**, *40*, doi:10.1042/BSR20203092.
66. Diaz-Jimenez, D.; Petrillo, M.G.; Busada, J.T.; Hermoso, M.A.; Cidlowski, J.A. Glucocorticoids mobilize macrophages by transcriptionally up-regulating the exopeptidase DPP4. *J Biol Chem* **2020**, *295*, 3213-3227, doi:10.1074/jbc.RA119.010894.
67. Uto, A.; Miyashita, K.; Endo, S.; Sato, M.; Ryuzaki, M.; Kinouchi, K.; Mitsuishi, M.; Meguro, S.; Itoh, H. Transient Dexamethasone Loading Induces Prolonged Hyperglycemia in Male Mice With Histone Acetylation in Dpp-4 Promoter. *Endocrinology* **2021**, *162*, doi:10.1210/endo/bqab193.
68. NIH. COVID-19 Treatment Guidelines. Available online: <https://www.covid19treatmentguidelines.nih.gov/therapies/immunomodulators/corticosteroids/> (accessed on 15/08/2022).
69. Feng, J.; Zhang, Z.; Wallace, M.B.; Stafford, J.A.; Kaldor, S.W.; Kassel, D.B.; Navre, M.; Shi, L.; Skene, R.J.; Asakawa, T.; et al. Discovery of Alogliptina: a potent, selective, bioavailable, y efficacious inhibitor of dipeptidyl peptidase IV. *J Med Chem* **2007**, *50*, 2297-2300, doi:10.1021/jm070104l.
70. Eckhardt, M.; Langkopf, E.; Mark, M.; Tadayyon, M.; Thomas, L.; Nar, H.; Pfrenge, W.; Guth, B.; Lotz, R.; Sieger, P.; et al. 8-(3-(R)-aminopiperidin-1-yl)-7-but-2-ynyl-3-methyl-1-(4-methylquinazolin-2-ylmethyl)-3,7-dihydropurine-2,6-dione (BI 1356), a highly potent, selective, long-acting, y orally bioavailable DPP-4 inhibitor for the treatment of type 2 diabetes. *J Med Chem* **2007**, *50*, 6450-6453, doi:10.1021/jm701280z.
71. Thornberry, N.A.; Weber, A.E. Discovery of JANUVIA (Sitagliptina), a selective dipeptidyl peptidase IV inhibitor for the treatment of type 2 diabetes. *Curr Top Med Chem* **2007**, *7*, 557-568, doi:10.2174/156802607780091028.
72. Augeri, D.J.; Robl, J.A.; Betebenner, D.A.; Magnin, D.R.; Khanna, A.; Robertson, J.G.; Wang, A.; Simpkins, L.M.; Taunk, P.; Huang, Q.; et al. Discovery y preclinical profile of Saxagliptina (BMS-477118): a highly potent, long-acting, orally active dipeptidyl peptidase IV inhibitor for the treatment of type 2 diabetes. *J Med Chem* **2005**, *48*, 5025-5037, doi:10.1021/jm050261p.
73. Villhauer, E.B.; Brinkman, J.A.; Naderi, G.B.; Burkey, B.F.; Dunning, B.E.; Prasad, K.; Mangold, B.L.; Russell, M.E.; Hughes, T.E. 1-[[[(3-hydroxy-1-adamantyl)amino]acetyl]-2-cyano-(S)-pyrrolidine]: a potent, selective, y orally bioavailable dipeptidyl peptidase IV inhibitor with antihyperglycemic properties. *J Med Chem* **2003**, *46*, 2774-2789, doi:10.1021/jm0300911.

74. Nyly, J.E.; Raja-Khan, N.T.; Bettermann, K.; Haouzi, P.A.; Leslie, D.L.; Kraschnewski, J.L.; Parent, L.J.; Grigson, P.S. Diabetes, Drug Treatment, y Mortality in COVID-19: A Multinational Retrospective Cohort Study. *Diabetes* **2021**, *70*, 2903-2916, doi:10.2337/db21-0385.
75. Abbasi, F.; Adatorwovor, R.; Davarpanah, M.A.; Mansoori, Y.; Hajiani, M.; Azodi, F.; Sefidbakht, S.; Davoudi, S.; Rezaei, F.; Mohammadmoradi, S.; et al. A Randomized Trial of Sitagliptina y Spironolactone With Combination Therapy in Hospitalized Adults With COVID-19. *J Endocr Soc* **2022**, *6*, bvac017, doi:10.1210/endo/bvac017.
76. Al-Kuraishy, H.M.; Al-Gareeb, A.I.; Qusty, N.; Alexiou, A.; Batiha, G.E. Impact of Sitagliptina on Non-diabetic Covid-19 Patients. *Curr Mol Pharmacol* **2022**, *15*, 683-692, doi:10.2174/1874467214666210902115650.
77. Zein, A.; Raffaello, W.M. Dipeptidyl peptidase-4 (DPP-IV) inhibitor was associated with mortality reduction in COVID-19 - A systematic review y meta-analysis. *Prim Care Diabetes* **2022**, *16*, 162-167, doi:10.1016/j.pcd.2021.12.008.
78. Rhee, S.Y.; Lee, J.; Nam, H.; Kyoung, D.S.; Shin, D.W.; Kim, D.J. Effects of a DPP-4 Inhibitor y RAS Blockade on Clinical Outcomes of Patients with Diabetes y COVID-19. *Diabetes Metab J* **2021**, *45*, 251-259, doi:10.4093/dmj.2020.0206.
79. Guardado-Mendoza, R.; Garcia-Magana, M.A.; Martinez-Navarro, L.J.; Macias-Cervantes, H.E.; Aguilar-Guerrero, R.; Suarez-Perez, E.L.; Aguilar-Garcia, A. Effect of Linagliptina plus insulin in comparison to insulin alone on metabolic control y prognosis in hospitalized patients with SARS-CoV-2 infection. *Sci Rep* **2022**, *12*, 536, doi:10.1038/s41598-021-04511-1.
80. Chen, Y.; Lv, X.; Lin, S.; Arshad, M.; Dai, M. The Association Between Antidiabetic Agents y Clinical Outcomes of COVID-19 Patients With Diabetes: A Bayesian Network Meta-Analysis. *Front Endocrinol (Lausanne)* **2022**, *13*, 895458, doi:10.3389/fendo.2022.895458.
81. Wang, S.C.; Wang, X.Y.; Liu, C.T.; Chou, R.H.; Chen, Z.B.; Huang, P.H.; Lin, S.J. The Dipeptidyl Peptidase-4 Inhibitor Linagliptina Ameliorates Endothelial Inflammation y Microvascular Thrombosis in a Sepsis Mouse Model. *Int J Mol Sci* **2022**, *23*, doi:10.3390/ijms23063065.
82. Wang, X.; Hausding, M.; Weng, S.Y.; Kim, Y.O.; Steven, S.; Klein, T.; Daiber, A.; Schuppan, D. Gliptins Suppress Inflammatory Macrophage Activation to Mitigate Inflammation, Fibrosis, Oxidative Stress, y Vascular Dysfunction in Models of Nonalcoholic Steatohepatitis y Liver Fibrosis. *Antioxid Redox Signal* **2018**, *28*, 87-109, doi:10.1089/ars.2016.6953.
83. Hendawy, A.S.; El-Lakkany, N.M.; Mantawy, E.M.; Hammam, O.A.; Botros, S.S.; El-Demerdash, E. Vildagliptina alleviates liver fibrosis in NASH diabetic rats via modulation of insulin resistance, oxidative stress, y inflammatory cascades. *Life Sci* **2022**, *304*, 120695, doi:10.1016/j.lfs.2022.120695.
84. Wong, C.K.H.; Lui, D.T.W.; Lui, A.Y.C.; Kwok, A.C.Y.; Low, M.C.H.; Lau, K.T.K.; Au, I.C.H.; Xiong, X.; Chung, M.S.H.; Lau, E.H.Y.; et al. Use of DPP4i reduced odds of clinical deterioration y hyperinflammatory syndrome in COVID-19 patients with type 2 diabetes: Propensity score analysis of a territory-wide cohort in Hong Kong. *Diabetes Metab* **2022**, *48*, 101307, doi:10.1016/j.diabet.2021.101307.
85. Patoulias, D.; Dumas, M. Dipeptidyl Peptidase-4 Inhibitors y COVID-19-Related Deaths among Patients with Type 2 Diabetes Mellitus: A Meta-Analysis of Observational Studies. *Endocrinol Metab (Seoul)* **2021**, *36*, 904-908, doi:10.3803/EnM.2021.1048.
86. Soare, A.; Gyorfi, H.A.; Matei, A.E.; Dees, C.; Rauber, S.; Wohlfahrt, T.; Chen, C.W.; Ludolph, I.; Horch, R.E.; Bauerle, T.; et al. Dipeptidylpeptidase 4 as a Marker of Activated Fibroblasts y a Potential Target for the Treatment of Fibrosis in Systemic Sclerosis. *Arthritis Rheumatol* **2020**, *72*, 137-149, doi:10.1002/art.41058.
87. Strollo, R.; Pozzilli, P. DPP4 inhibition: Preventing SARS-CoV-2 infection y/or progression of COVID-19? *Diabetes Metab Res Rev* **2020**, *36*, e3330, doi:10.1002/dmrr.3330.
88. Higashijima, Y.; Tanaka, T.; Yamaguchi, J.; Tanaka, S.; Nangaku, M. Anti-inflammatory role of DPP-4 inhibitors in a nondiabetic model of glomerular injury. *Am J Physiol Renal Physiol* **2015**, *308*, F878-887, doi:10.1152/ajprenal.00590.2014.

89. Trakarnvanich, T.; Satirapoj, B.; Suraamornkul, S.; Chiranthavath, T.; Sanpatchayapong, A.; Claimon, T. Effect of Dipeptidyl Peptidase-4 (DPP-4) Inhibition on Biomarkers of Kidney Injury y Vascular Calcification in Diabetic Kidney Disease: A Randomized Controlled Trial. *J Diabetes Res* **2021**, *2021*, 7382620, doi:10.1155/2021/7382620.
90. Carrasco-Sanchez, F.J.; Carretero-Anibarro, E.; Gargallo, M.A.; Gomez-Huelgas, R.; Merino-Torres, J.F.; Orozco-Beltran, D.; Pines Corrales, P.J.; Ruiz Quintero, M.A. Executive Summary from Expert consensus on effectiveness y safety of iDPP-4 in the treatment of patients with diabetes y COVID-19. *Endocrinol Diabetes Nutr (Engl Ed)* **2022**, *69*, 209-218, doi:10.1016/j.endien.2022.02.008.