



Armadilhas extracelulares dos neutrófilos: descrição e envolvimento em processos autoimunes

Neutrophil extracellular traps: description and autoimmune disease involvement

Jonatha Leonel Ernesto Da-Silva¹, Laura Fontes Tomaz Finotti¹

RESUMO

Somando a maioria dos leucócitos presentes na corrente sanguínea, os neutrófilos são células polimorfonucleares e especializadas no combate a infecções através da fagocitose do patógeno e liberação de seus conteúdos granulares. Também são capazes de liberar armadilhas extracelulares (*neutrophil extracellular traps*, NETs), que são estruturas constituídas de componentes intracelulares, como fibras de cromatina e proteínas derivadas de grânulos citoplasmáticos. As NETs são liberadas em resposta a vários estímulos, como de microrganismos, citocinas e complexos antígeno-anticorpo, e possuem o papel de capturar microrganismos e até mesmo matá-los. Porém, quando essas estruturas não são completamente eliminadas pelo organismo, elas podem gerar danos à saúde, pois podem ser produzidos anticorpos contra as estruturas que as compõem. Neste artigo, é feita uma revisão dos acontecimentos que levam à liberação de NETs pelos neutrófilos, a importância disso para a saúde e o envolvimento dessas estruturas em processos de autoimunidade, utilizando artigos publicados desde a descoberta das NETs, que ocorreu em 2004.

Descritores: Armadilhas extracelulares, morte celular, doenças autoimunes.

Os neutrófilos são os leucócitos mais frequentemente presentes no sangue periférico de um indivíduo em condições normais de saúde, e participam ativamente da defesa inata do organismo contra patógenos¹, utilizando diversos mecanismos para a eliminação dos mesmos, que incluem a fagocitose, geração espécies reativas de oxigênio (EROS), liberação de enzimas líticas presentes em seus diversos

ABSTRACT

Accounting for most leukocytes present in the bloodstream, neutrophils are polymorphonuclear cells that specialize in dealing with microorganisms through phagocytosis and release of granule contents. They are also able to release extracellular traps (NETs), which are structures consisting of intracellular components such as chromatin fibers and proteins derived from cytoplasmic granules. NETs are released in response to various stimuli, such as to microorganisms, cytokines and immune complexes, and their role is to capture microorganisms and kill them. However, when these structures are not properly eliminated by the body, they may generate health damage because antibodies can be produced against them. This article provides a review of the events triggering the release of NETs, their importance for health and the involvement of these structures in autoimmune processes, using articles published since the discovery of NETs in 2004.

Keywords: Extracellular traps, cell death, autoimmune diseases.

grânulos citoplasmáticos^{2,3} e além disso, ainda são capazes de formar armadilhas extracelulares (*neutrophil extracellular traps* - NETs) para capturar e matar microrganismos⁴.

Estas NETs são um tipo de armadilha liberadas pelos neutrófilos em um processo de morte celular denominado netose⁵. Sua estrutura consiste basicamente por fibras de cromatina descondensadas de

1. UNIPAC, Curso de Biomedicina - Uberlândia, MG, Brasil.

Submetido em: 30/11/2018, aceito em: 12/02/2019.

Arq Asma Alerg Imunol. 2019;3(1):18-24.

aproximadamente 15–17 nm de diâmetro e histonas⁴, porém estudos com espectrometria de massa identificaram a presença de outras proteínas, que estão presentes nos grânulos citoplasmáticos quando a célula está íntegra. Exemplos de tais proteínas são α -defensinas, azurocidina e lactoferrina⁶.

Este trabalho pretende revisar os acontecimentos desde os estímulos celulares responsáveis por desencadear a netose e sua subsequente liberação de NETs, dando ênfase no impacto que tais estruturas podem causar no organismo, tanto na saúde quanto seu envolvimento em processos autoimunes.

Fatores desencadeadores e eventos seguintes à ativação

As NETs podem ser induzidas por diversos fatores, que incluem microrganismos como fungos⁷⁻¹¹, bactérias^{4,12-16}, protozoários^{17,18} e vírus¹⁹⁻²¹, citocinas pró-inflamatórias (TNF- α , IL-8)²² e vários autoanticorpos^{22,23}.

Após receber um estímulo de um ou mais fatores desencadeadores, o neutrófilo perde seu formato arredondado, se tornando mais plano e se adere firmemente ao endotélio. O núcleo celular perde seus lóbulos característicos²⁴. Enzimas granulares, como elastase neutrofílica e mieloperoxidase, são conduzidas para o núcleo⁴. A elastase neutrofílica é responsável por deteriorar a histona de ligação H1 e modificar as histonas matrizes, levando à descondensação da cromatina nuclear. A mieloperoxidase se mostrou útil em elevar o índice de deterioração ligado à elastase neutrofílica^{25,26}. A histona H3 sofre citrulinização, que é a conversão de arginina carregada positivamente em citrulina, que é necessário para a descondensação da cromatina celular. Esta citrulinização se mostrou ser catalisada pela peptidilarginina deiminase 4 (PAD4), uma enzima que é expressa em leucócitos e possui funções imunomodulatórias^{27,28}. Estudos de Li e colaboradores, em que ratos tiveram o gene que codifica tal enzima deletados, tais perderam a habilidade de formar NETs²⁹.

Após estimulado e ativado, o neutrófilo ativa seu complexo enzimático NADPH oxidase e inicia um processo denominado de explosão respiratória, e levará à redução do oxigênio molecular O₂ em O₂⁻ e ulterior transformação deste, com ou sem envolvimento enzimático da superóxido dismutase, em peróxido de hidrogênio (H₂O₂)^{24,30}.

O envolvimento e importância de tais radicais livres foram descritas em estudos de Bianchi e

colaboradores (2009), onde neutrófilos de indivíduos portadores da doença denominada Doença Granulomatosa Crônica, uma doença onde ocorrem mutações nos genes responsáveis por codificar o complexo enzimático NADPH oxidase^{31,32} não eram capazes de formar NETs em condições normais. Como as espécies reativas de oxigênio são importantes também no processo de digestão de microrganismos fagocitados por neutrófilos e macrófagos, indivíduos com esta doença apresentarão infecções recorrentes durante toda a vida^{30,32}.

Compostos que constituem as NETs.

As NETs são compostas basicamente por cromatina nuclear descondensada juntamente com proteínas, onde a maioria delas vem dos grânulos dos neutrófilos e as outras proteínas são citoplasmáticas e nucleares (histonas).

As moléculas presentes nas NETs são moléculas oriundas de diversas partes da célula, como do núcleo, citoplasma e grande quantidade das moléculas presentes nos grânulos. Fisiologicamente, as moléculas presentes nos grânulos neutrofílicos possuem atividade antimicrobiana, e estas são liberadas durante o processo de degranulação dos neutrófilos e também por se misturar ao fagossomo, quando os neutrófilos realizam o processo de fagocitose de microrganismos³³.

Apesar de terem função na captação e aniquilação de microrganismos, os compostos que constituem as NETs são estruturas intracelulares, e o fato de elas serem liberadas para o meio extracelular pode gerar danos ao organismo, caso elas não sejam eliminadas de forma eficiente, podendo servir como alvo para produção de anticorpos³⁴⁻³⁶.

Diferenças entre apoptose e netose

Apoptose é o tipo mais bem estudado de morte celular, sendo um tipo de morte celular não inflamatório³⁷. Este tipo de morte celular pode ser iniciado por dois modos, o modo extrínseco e o modo intrínseco. O modo extrínseco de início da apoptose ocorre quando há ativação dos receptores de morte celular por algum de seus ligantes específicos, isto fará com que as caspases iniciadoras (caspase-8 ou a caspase-10) iniciem a apoptose, clivando e ativando diretamente as caspases efetoras da apoptose^{38,39}. O modo intrínseco de início da apoptose ocorre quando há algum tipo de dano no DNA, hipóxia ou estresse celular, que

levará à liberação do citocromo-c da mitocôndria, que irá formar um complexo com a caspase-9 e o fator de ativação da apoptose-1 (APAF-1), denominado complexo apoptossomo. O papel do apoptossomo na inicialização da apoptose intrínseca é similar ao papel das caspases iniciadoras no modo extrínseco de inicialização da apoptose, que é clivar e ativar a caspase-3, uma caspase efetora³⁷⁻³⁹.

Após a ativação das caspases a apoptose se inicia. A célula se contrai e perde sua conexão com a matriz extracelular, a cromatina se condensa e ocorre fragmentação do DNA e da membrana celular e posterior formação de vesículas apoptóticas, compostas por fragmentos de DNA envolvidos pela membrana celular^{37,40}. Após serem formadas as vesículas apoptóticas, que deixará a célula com uma aparência vulgarmente denominada de “cacho de uva”⁴¹ e esta célula irá liberar e expor moléculas em sua superfície para que possa ser fagocitada e degradada pelos fagócitos^{42,43}. Primeiramente, sinais de “me encontre” são liberados, para que esta célula possa ser encontrada pelos fagócitos⁴³. Em seguida, moléculas de “me fagocite” serão expostas na superfície da célula em apoptose, para que os fagócitos possam então englobar e degradar estas vesículas⁴⁴. Logo em seguida o fagócito libera citocinas anti-inflamatórias, para que respostas imunes sejam suprimidas e não haja dano tecidual^{45,46}.

As diferenças entre os processos de apoptose e netose são claramente vistas durante todos os processos. Primeiramente, estudos de Remijsen e colaboradores (2010)⁴⁷ mostraram que as caspases não estão ativas durante o processo de morte celular por netose. As membranas dos grânulos dos neutrófilos são desintegradas durante a netose, para que os seus componentes possam se misturar com a cromatina, porém o citoplasma se mantém intacto, o que não ocorre na apoptose, uma vez que uma grande desorganização durante tal processo acontece^{14,47}. A cromatina durante a netose se apresenta descondensada, contrariamente à apoptose, que ocorre uma condensação nuclear e consequente picnose nuclear e ulterior fragmentação do mesmo^{14,48}. A formação de vesículas apoptóticas também não pode ser observada na netose¹⁴. Outra diferença é que a célula que está em um processo de apoptose tende a se desagregar da matriz extracelular, porém a célula que está em processo de netose se fixa na matriz e apresenta sinais de contração, provavelmente para que as NETs possam ser liberadas com mais eficácia^{5,49}.

Relações entre microrganismos e as NETs

A liberação das NETs é induzida por uma grande variedade de fatores, e dentre esses fatores, podem ser citados várias estruturas microbianas, como estruturas das paredes celulares de bactérias (tanto Gram-positivas quanto Gram-negativas) ou até mesmo os microrganismos completos, como bactérias^{4,12-16}, vírus¹⁹⁻²¹, fungos^{7-11,50,51}, e protozoários^{17,18}. As NETs em tais situações, possuem um papel de contenção do microrganismo, pois elas são capazes de prender os microrganismos, evitando que os mesmos se espalhem pelo organismo⁴. Elas ainda são capazes de inativar fatores de virulência⁵² ou até mesmo matar tais microrganismos, devido às proteínas presentes nas NETs, que entram em contato com os mesmos, quando são liberadas pelos neutrófilos.

Bactérias

Yipp e colaboradores (2012)¹⁵ realizaram um estudo onde ratos foram contaminados com cepas de *Staphylococcus aureus* e depois divididos em dois grupos. Para um grupo foi administrado uma enzima capaz de clivar as NETs (DNase), e para outro não. O grupo ao qual foi administrado DNase apresentou número bastante elevado de bactérias na corrente sanguínea comparado ao grupo que não recebeu DNase.

De acordo com estudos de Brinkmann e colaboradores (2004)⁴, os fatores de virulência da *Salmonella typhimurium* (Invasina IpaB e adesina IcsA) e *Staphylococcus aureus* (α toxina) estavam significativamente diminuídos quando estes patógenos estavam “presos” às NETs, comparados às bactérias que não estavam, mostrando que as proteínas presentes nas NETs podem ser responsáveis por degradar estes fatores de virulência.

Protozoários

Em estudos realizados por Guimarães-Costa e colaboradores, em 2009¹⁸, as NETs demonstraram ser capazes de capturar *Leishmania amazonensis*, e tais parasitas quando capturados por estas estruturas apresentavam um sinal de dano celular e morte do parasita. Ainda no mesmo estudo, a adição de um anticorpo anti-histona foi capaz de aumentar a sobrevivência de tais parasitas capturados pelas NETs em até 42%, e o efeito letal das histonas sobre os parasitas foi confirmado incubando histonas purificadas e promastigotas de *Leishmania amazonensis*, onde apenas 38% dos parasitas continuaram vivos.

Fungos

Os fungos são também responsáveis por induzir a formação de NETs, e seu efeito no controle do crescimento fúngico pode ser observado em experimentos realizados com *Candida albicans*⁵⁰, e foi evidenciado que a calprotectina, uma proteína quelante de zinco⁵¹, que está presente nas NETs, consegue suprimir o crescimento de *C. albicans* competindo pelo zinco com o fungo.

Estudos de Rocha e colaboradores, de 2014, mostraram que cepas de *Cryptococcus neoformans* que não possuem cápsula são capazes de induzir a formação e liberação de NETs pelos neutrófilos, porém cepas providas de cápsulas não conseguem induzir a formação de NETs. No estudo, uma provável causa para o mesmo seria que proteínas capsulares podem inibir a explosão respiratória, diminuindo a presença de espécies reativas de oxigênio. Ainda no mesmo estudo, quando estas cepas fúngicas são incubadas com NETs, elas se tornam inviáveis, tanto cepas que conseguem induzir NETs (cepas desprovidas de cápsula) quanto cepas que não são capazes (cepas capsuladas)⁵³.

Vírus

Além das bactérias, fungos e parasitas, as NETs ainda podem ser induzidas por vírus, que incluem o vírus HIV-1 e Influenza-A^{19,20}. Porém, para que o neutrófilo possa produzir e liberar suas armadilhas, neste caso é necessário que o neutrófilo reconheça as partículas virais via receptores tipo toll 7 e 8 (*toll-like receptors*, TLR-7 e TLR-8). Os neutrófilos têm a capacidade de distinguir as células infectadas das células normais do organismo pelos antígenos virais expressos na superfície da célula, fazendo com que mesmo quando não seja possível a interação da partícula viral com os receptores de reconhecimento padrão, ainda sim é possível a síntese e liberação de NETs¹⁹⁻²¹.

O papel das NETs no processo viral seria se ligar à partícula viral e a neutralizar. As partículas virais são capturadas pelas NETs, isso faz com que elas não mais consigam chegar e/ou se ligar a sua célula-alvo^{19,54}. A neutralização das partículas virais ocorre por meio das enzimas granulares (mieloperoxidase e α -defensinas) associadas às armadilhas, que pode ser associado aos resultados obtidos nas pesquisas de Saitoh e colaboradores, em 2012²⁰, que mostraram que o tratamento de neutrófilos com inibidores de mieloperoxidase e anticorpos anti- α -

defensinas diminuiu a taxa em que as partículas virais foram neutralizadas.

Apesar de tudo, os microrganismos já possuem formas de evadir do alvo de destruição das NETs. Em alguns estudos, como os de Beiter e colaboradores (2006)¹² e Buchanan e colaboradores (2006)¹³, *Streptococcus pneumoniae* e outros estreptococos do grupo A são capazes de produzir endonucleases, que são enzimas capazes de clivar moléculas de DNA, para que assim possam evitar a captura pelas NETs ou até mesmo se livrar das mesmas, caso já tenham sido capturadas, embora outros estudos já mostrem formas de driblar essa degradação, como os estudos de Neuman e colaboradores (2014), que mostraram que a catelicidina (LL-37) é muito eficaz na prevenção da degradação das NETs por endonucleases produzidas por *Staphylococcus aureus*⁵⁵.

Pseudomonas aeruginosa evadem das NETs de forma diferente. Elas são capazes de absorver moléculas de sialoglicanos, que são presente na maioria das células de mamíferos, confundindo os neutrófilos, desta forma os neutrófilos passam a secretar citocinas anti-inflamatórias, como IL-10, que inibem a liberação de NETs por outros neutrófilos, para evitar um ataque a estruturas do “próprio organismo”⁵⁶.

Outro modo de evasão dos microrganismos contra as NETs é visto por espécies de *Aspergillus*, que produzem uma hidrofobina (RodA), que é capaz de envolver a superfície dos conídios (mas não de hifas), evitando o contato e reconhecimento de tais estruturas pelos neutrófilos e consequente não liberação de NETs pelos mesmos⁵⁷.

Relações entre desordens autoimunes e as NETs

Apesar das NETs terem uma relação direta com os microrganismos e sua morte/neutralização, a sua produção em excesso ou o seu acúmulo pode resultar em processos inflamatórios, doenças vasculares como trombose e aterosclerose, e também processos autoimunes^{22,58,60}.

As doenças autoimunes se caracterizam por uma desordem imunológica, onde as células de defesa do organismo reconhecem tecidos do próprio organismo como invasores e os atacam, causando vários tipos de danos, dependendo do tecido que está sob ataque⁶¹. O processo de desenvolvimento de uma doença autoimune é muito complexo, porém vários estudos admitem que a exposição de antígenos intracelulares seja

de muita importância para a inicialização do processo de produção de autoanticorpos pelos plasmócitos⁶¹, e durante a liberação de NETs pelos neutrófilos, uma gama de estruturas intracelulares são liberada para o meio extracelular, que pode ser o necessário para que seja desencadeado uma resposta imune contra tais estruturas, em pessoas que têm uma predisposição⁶¹⁻⁶³. Ainda admitem-se hipóteses que infecções possam estar ligadas a processos autoimunes⁶². Admitindo-se que microrganismos levam à formação de NETs, corrobora-se a hipótese de que as NETs também sejam fontes de autoantígenos em processos autoimunes, uma vez que a liberação de NETs está aumentada em processos infecciosos⁶²⁻⁶⁴.

Lúpus eritematoso sistêmico

Lúpus eritematoso sistêmico (LES) é uma doença autoimune, onde o sistema imune perde a tolerância às estruturas do próprio organismo e passa a produzir anticorpos contra eles, principalmente anticorpos anti-DNA, anti-cromatina e anticorpos contra proteínas relacionadas ao núcleo⁶⁵. Os anticorpos que são presentes no lúpus eritematoso sistêmico são reativos à moléculas liberadas pelas NETs.

Estudos de Hakkim e colaboradores (2007) mostraram que pacientes com LES têm uma atividade menor da DNase I, o que faz com que as NETs sejam degradadas com mais dificuldade, ou até mesmo não sejam degradadas, e um título maior de anticorpos anti-DNA foi encontrado em tais pacientes³⁶.

O complemento 1q (C1q) é uma proteína que faz parte do sistema complemento. Sua função é se ligar a anticorpos que já se ligaram a algum antígeno, ou mesmo em estruturas bacterianas ou virais, como cápsulas e envelopes, respectivamente. Esta ligação forma o complexo C1, que dará início à via de ativação clássica do sistema complemento⁶⁶. Estudos feitos por Leffler e colaboradores (2012)⁶⁷ revelaram que a proteína C1q se liga às NETs com grande afinidade, fazendo com que a cascata do sistema complemento seja ativada pela via clássica, e ocorrendo uma queda nas proteínas do sistema complemento. A ligação entre a C1q e as NETs também contribuiu para que a DNase perdesse sua efetividade em degradar as NETs, pois a C1q age como um envoltório protetor para as mesmas⁶⁷.

Outro ponto interessante do estudo de Leffler e colaboradores (2012)⁶⁷ é que anticorpos anti-DNA comumente encontrados em pacientes com LES podem reagir de forma cruzada com a enzima DNase, inativando-a⁶⁷. Isso gera um *loop*, podendo ser expli-

cado da seguinte maneira: pacientes com LES têm uma atividade menor da enzima DNase, responsável por clivar as NETs; as NETs quando não clivadas servem de fonte de autoantígenos para a produção de anticorpos; anticorpos anti-DNA são produzidos; a proteína C1q liga-se às NETs dificultando ainda mais a ação da DNase; anticorpos anti-DNA reagem com a DNase, fazendo o seu nível funcional cair ainda mais; menos NETs serão degradadas; mais anticorpos serão produzidos⁶⁷.

Vasculite de pequenos vasos

Vasculite de pequenos vasos é uma doença autoimune, caracterizada pela inflamação necrosante de vasos sanguíneos em diversas partes do organismo, dentre as mais comuns a pele e os pulmões²³. Pacientes com vasculite de pequenos vasos geralmente possuem anticorpos anti-citoplasma de neutrófilos, também chamado de ANCA, com grande reatividade com a proteinase-3 (PR3) ou mieloperoxidase (MPO)²³, ambas moléculas presentes nas NETs.

Estudo de Nakazawa e colaboradores (2012) mostra que uma droga denominada propiltiouracil, utilizada no tratamento de hipertireoidismo, mostrou que quando os neutrófilos são induzidos a liberar NETs *in vitro* na presença de tal droga, as NETs que em situações normais são uma rede frouxa de cromatina susceptíveis à degradação por DNases, passam a ter uma conformação aberrante, condensada e globosa resistente à degradação por DNase^{34,35}. Nakazawa e colaboradores (2012) também mostram em seus estudos que as estruturas aberrantes formadas na presença da droga propiltiouracil, quando instilada em ratos, levaram estes a desenvolver anticorpos anti-mieloperoxidase e também lesões nos capilares pulmonares semelhantes aos encontrados em vasculite de pequenos vasos em humanos³⁴.

LL-37 é uma molécula presente nas NETs que consegue inibir a degradação dos filamentos de cromatina pelas nucleases, como diz os estudos de Neumann e colaboradores, de 2014. A presença de LL-37 em pacientes com vasculite de pequenos vasos foi descrita nos estudos de Zhang e colaboradores, em 2013. Neste estudos, a presença de LL-37 circulante estava aumentada, gerando uma hipótese de que este peptídeo possa estar relacionado com a falha na degradação das fibras de cromatina liberada pelas NETs, facilitando para as células dendríticas o seu transporte e possível fonte de autoanticorpos^{68,69}.

Considerações finais

As armadilhas extracelulares produzida por neutrófilos fazem parte da imunidade do organismo contra agentes patogênicos, onde os defeitos na sua função, assim como em qualquer outro ponto da imunidade inata ou adaptativa, podem gerar problemas para a saúde no indivíduo, pois elas são importantes para que haja a contenção de microrganismos no local da infecção, prevenindo que estes sejam disseminados, levando a mais danos ao organismo e maior dificuldade na sua eliminação. Também se demonstraram importantes em enfraquecer bactérias, destruindo seus fatores de virulência, ou até mesmo matando microrganismos diretamente. Porém, além de ser tão importante para combate às infecções, quando não eliminadas corretamente ou sua produção for aumentada de forma anormal, estas NETs deixam de efetuar seu papel com eficácia e passam a ser mais um problema para o organismo do que uma solução, sendo uma provável causa da perda da autotolerância do sistema imune à estruturas do próprio organismo, podendo levar a desordens autoimunes em pessoas predispostas e também servir de uma fonte constante e inesgotável de autoantígenos para produção de autoanticorpos, que leva a danos e perda de função de vários tecidos corporais.

Ainda há muito a se saber sobre as NETs, pois esta é uma estrutura relativamente desconhecida, mas há grande potencial para novas e grandes descobertas utilizando-as como alvo, indo desde possíveis marcadores para doenças que sejam relacionadas com as NETs, até mesmo para o tratamento de tais doenças.

Referências

- Kobayashi SD, DeLeo FR. Role of neutrophils in innate immunity: a systems biology-level approach. *Wiley Interdiscip Rev Syst Biol Med.* 2009;1(3):309-33.
- Segal AW. How neutrophils kills microbes. *Annu Rev Immunol.* 2005;23:197-223.
- Kaplan MJ, Radic M. Neutrophil extracellular traps (NETs): double-edged swords of innate immunity. *J Immunol.* 2012;189(6):2689-95.
- Brinkmann V, Reichard U, Goosman C, Fauler B, Uhlemann Y, Weiss DS, et al. Neutrophil extracellular traps kills bacteria. *Science.* 2004;303:1532-5.
- Zawrotniak M, Rapala-Kozik M. Neutrophil extracellular traps (NETs)-formation and implications. *Acta Biochim Pol.* 2013;60:277-84.
- Borregaard N. Neutrophils, from marrow to microbes. *Immunity.* 2010;33:657-70.
- Bruns S, Kniemeyer O, Hasenberg M, Aimaniananda V, Nietzsche S, Thywissen A, et al. Production of extracellular traps against *Aspergillus fumigatus* in vitro and in infected lung tissue is dependent on invading neutrophils and influenced by hydrophobin RodA. *PLoS Pathog.* 2010;6:e1000873.
- Ermer D, Urban CF, Laube B, Goosmann C, Zychlinsky A, Brinkmann V. Mouse neutrophil extracellular traps in microbial infections. *J Innate Immun.* 2009;1:181-93.
- Jaillon S, Peri G, Delneste Y, Fremaux I, Doni A, Moalli F, et al. The humoral pattern recognition receptor PTX3 is stored in neutrophil granules and localizes in extracellular traps. *J Exp Med.* 2007;204:793-804.
- McCormick A, Heesemann L, Wagener J, Marcos V, Hartl D, Loeffler J, et al. NETs formed by human neutrophils inhibit growth of the pathogenic mold *Aspergillus fumigatus*. *Microbes Infect.* 2010;12:928-36.
- Urban CF, Reichard U, Brinkmann V, Zychlinsky A. Neutrophil extracellular traps capture and kill *Candida albicans* yeast and hyphal forms. *Cell Microbiol.* 2006;8:668-76.
- Beiter K, Wartha F, Albiger B, Normark S, Zychlinsky A, Henriques-Normark B. An endonuclease allows *Streptococcus pneumoniae* to escape from neutrophil extracellular traps. *Curr Biol.* 2006;16:401-7.
- Buchanan JT, Simpson AJ, Aziz RK, Liu GY, Kristian SA, Kotb M, et al. DNase expression allows the pathogen group A *Streptococcus* to escape killing in neutrophil extracellular traps. *Curr Biol.* 2006;16:396-400.
- Fuchs TA, Abed U, Goosmann C, Hurwitz R, Schulze I, Wahn V, et al. Novel cell death program leads to neutrophil extracellular traps. *J Cell Biol.* 2007;176:231-41.
- Yipp BG, Petri B, Salina D, Jenne CN, Scott BN, Zbytnik LD, et al. Dynamic NETosis is Carried Out by Live Neutrophils in Human and Mouse Bacterial Abscesses and During Severe Gram-Positive Infection. *Nat Med.* 2012;18(9):1386-93.
- Ramos-Kichik V, Mondragon-Flores R, Mondragon-Castelan M, Gonzalez-Pozos S, Muniz-Hernandez S, Rojas-Espinosa O, et al. Neutrophil extracellular traps are induced by *Mycobacterium tuberculosis*. *Tuberculosis (Edinb).* 2009;89:29-37.
- Baker VS, Imade GE, Molta NB, Tawde P, Pam SD, Obadofin MO, et al. Cytokine-associated neutrophil extracellular traps and antinuclear antibodies in *Plasmodium falciparum* infected children under six years of age. *Malar.* 2008;7:41.
- Guimaraes-Costa AB, Nascimento T, Froment GS, Soares P, Morgado FN, Conceicao-Silva F, et al. *Leishmania amazonensis* promastigotes induce and are killed by neutrophil extracellular traps. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2009;106:6748-53.
- Narasaraju T, Yang E, Samy RP, Ng HH, Poh WP, et al. Excessive neutrophils and neutrophil extracellular traps contribute to acute lung injury of influenza pneumonitis. *Am J Pathol.* 2011;179:199-210.
- Saitoh T, Komano J, Saitoh Y, Misawa T, Takahama M, et al. Neutrophil extracellular traps mediate a host defense response to human immunodeficiency virus-1. *Cell Host Microbe.* 2012;12:109-16.
- Jenne CN, Wong CH, Zemp FJ, McDonald B, Rahman MM, et al. Neutrophils recruited to sites of infection protect from virus challenge by releasing neutrophil extracellular traps. *Cell Host Microbe.* 2013;13:169-80.
- Garcia-Romo GS, Caielli S, Vega B, Connolly J, Allantaz F, Punaro M, et al. Netting neutrophils are major inducers of type I IFN production in pediatric systemic lupus erythematosus. *Sci Transl Med.* 2011;3:73ra20.
- Kessenbrock K, Krumbholz M, Schönnermarck U, Back W, Gross WL, Werb Z, et al. Netting neutrophils in autoimmune small-vessel vasculitis. *Nat Med.* 2009;15(6):623-5.
- Vorobjeva NV, Pinegin BV. Neutrophil extracellular traps: Mechanisms of formation and role in health and disease. *Biokhimiya.* 2014;79(12):1580-91.
- Papayannopoulos V, Metzler KD, Hakkim A, Zychlinsky A. Neutrophil elastase and myeloperoxidase regulate the formation of neutrophil extracellular traps. *J Cell Biol.* 2010;191(3):677-91.
- Metzler KD, Fuchs T, Nauseef WM, Reumax D, Roesler J, Schulz I, et al. Myeloperoxidase is required for neutrophil extracellular trap formation: implications for innate immunity. *Blood.* 2011;117:953-9.
- Chang X, Yamada R, Suzuki A, Sawada T, Yoshino S, Tokuihoro S, et al. Localization of peptidylarginine deiminase 4 (PADI4) and citrullinated protein in synovial tissue of rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford).* 2005;44:40-50.

28. Asaga H, Nakashima K, Senshu T, Ishigami A, Yamada M. Immunocytochemical localization of peptidylarginine deiminase in human eosinophils and neutrophils. *J Leukoc Biol.* 2001;70:46-51.
29. Li P, Li M, Lindberg MR, Kennett MJ, Xiong N, Wang Y. PAD4 is essential for antibacterial innate immunity mediated by neutrophil extracellular traps. *J Exp Med.* 2010;207:1853-62.
30. Nordenfelt P, Tapper H. Phagosome dynamics during phagocytosis by neutrophils *Journal of Leukocyte Biology.* 2011;90(2):271-84.
31. Pinegin BV, Mayansky AN. Neutrophils: structure and function. *Immunologiya.* 2007;6:374-82.
32. Bianchi M, Hakkim A, Brinkmann V, Siler U, Seger RA, Zychlinsky A, Reichenbach J. Restoration of NET formation by gene therapy in CGD controls aspergillosis. *Blood.* 2009;114:2619-22.
33. Nordenfelt P, Tapper H. Phagosome dynamics during phagocytosis by neutrophils. *Journal of Leukocyte Biology.* 2011;90(2):271-84.
34. Nakazawa D, Tomaru U, Suzuki A, Masuda S, Hasegawa R, Kobayashi T, et al. Abnormal conformation and impaired degradation of NETs induced by propylthiouracil: implication of disordered NETs in MPO-ANCA-associated vasculitis. *Arthritis Rheum.* 2012;64:3779-87.
35. Sangaletti S, Tripodo C, Chiodoni C, Guarnotta C, Cappetti B, Casalini P, et al. Neutrophil extracellular traps mediate transfer of cytoplasmic neutrophil antigens to myeloid dendritic cells towards ANCA induction and associated autoimmunity. *Blood.* 2012;120:3007-18.
36. Hakkim A, Fürnrohr BG, Amann K, Laube B, Abed UA, et al. Impairment of neutrophil extracellular trap degradation is associated with lupus nephritis. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2010;107:9813-8.
37. Fink SL, Cookson BT. Apoptosis, Pyroptosis, and Necrosis: Mechanistic description of dead and dying eukaryotic cells. *Infection and Immunity.* 2005;73(4):1907-16.
38. Sperandio S, Poksay K, Belle I, Lafuente M J, Liu B, Nasir J, Bredezen DE. Paraptosis mediated by MAP kinases and inhibition by AIP-1/Alix. *Cell Death Differ.* 2004;11(10):1066-75.
39. McIlwain DR, Berger T, Mak TW. Caspase function in cell death and disease. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2011;5(4):a008656.
40. Ziegler U, Groscurth P. Morphological features of cell death. *News Physiol Sci.* 2004;19:124-8.
41. Radic M. Clearance of Apoptotic Bodies, NETs, and Biofilm DNA: Implications for Autoimmunity. *Front Immunol.* 2014;5:365.
42. Ravichandran KS. Find-me and eat-me signals in apoptotic cell clearance: progress and conundrums. *J Exp Med.* 2010(9):1807-17.
43. Gregory C. Cell biology: Sent by the scent of death. *Nature.* 2009;461:181-2.
44. Grimsley C, Ravichandran KS. Cues for apoptotic cell engulfment: eat-me, don't eat-me and come-get-me signals. *Trends Cell Biol.* 2003;13:648-56.
45. Henson PM. Dampening inflammation. *Nat Immunol.* 2005;6:1179-81.
46. Ravishankar B, Shinde R, Liu H, Chaudhary K, Bradley J, Lemos HP, et al. Marginal zone CD169+ macrophages coordinate apoptotic cell-driven cellular recruitment and tolerance. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2014;111:4215-20.
47. Remijsen Q, Vanden-Berghe T, Virawan E, Asselbergh B, Parthoens E, De Rycke R, et al. Neutrophil extracellular trap cell death requires both autophagy and superoxide generation. *Cell Res.* 2010;21(2):290-304.
48. Elmore S. Apoptosis: A Review of Programmed Cell Death. *Toxicol Pathol.* 2007;35(4):495-516.
49. Grivichich I, Regner A, da Rocha AB. Morte celular por apoptose. *Rev Bras Cancerologia.* 2007;53(3):335-43.
50. Urban CF, Ermert D, Schmid M, Abu-Abed U, Goosmann C, Nacken W, et al. Neutrophil extracellular traps contain calprotectin, a cytosolic protein complex involved in host defense against *Candida albicans*. *PLoS Pathog.* 2009;5(10):e1000639.
51. Santhanagopalan V, Hahn BL, Sohnle, PG. Resistance of zinc-supplemented *Candida albicans* cells to the growth inhibitory effect of calprotectin. *J Infect Dis.* 1995;171(5):1289-94.
52. Weinrauch Y, Drujan D, Shapiro SD, Weiss J, Zychlinsky A. Neutrophil elastase targets virulence factors of enterobacteria. *Nature.* 2002;417:91-4.
53. Rocha JDB, Nascimento MTC, Decote-Ricardo D, Córte-Real S, Alexandre Morrot A, Heise N, et al. Capsular polysaccharides from *Cryptococcus neoformans* modulate production of neutrophil extracellular traps (NETs) by human neutrophils. *Scientific Reports.* 2015; 5:Artigo número 8008.
54. Schoen P, Corver J, Meijer DK, Wilschut J, Swart PJ. Inhibition of influenza virus fusion by polyanionic proteins. *Biochem Pharmacol.* 1997;53:995-1003.
55. Neumann A, Völlger L, Evelien TM, Berends E, Molhoek M, Daphne AC, et al. Novel role of the antimicrobial peptide LL-37 in the protection of Neutrophil Extracellular Traps against degradation by bacterial nucleases. *J Innate Immun.* 2014;6(6):860-8.
56. Khatua B, et al. Sialoglycoproteins adsorbed by *Pseudomonas aeruginosa* facilitate their survival by impeding neutrophil extracellular trap through siglec-9. *J Leukoc Biol.* 2012;91:641-55.
57. Bruns S, et al. Production of extracellular traps against *Aspergillus fumigatus* in vitro and in infected lung tissue is dependent on invading neutrophils and influenced by hydrophobin RodA. *PLoS pathogens.* 2010;6:e1000873.
58. Kolaczowska F, Kubes P. Neutrophil recruitment and function in health and inflammation. *Nature Rev. Immunol.* 2013;13:159-75.
59. Brill A, Fuchs TA, Savchenko A, Thomas GM, Martinod K, De Meyer SF, Bhandari AA, Wagner DD. Neutrophil Extracellular Traps Promote Deep Vein Thrombosis in Mice. *J Thromb Haemost.* 2012;10(1):136-44.
60. Fuchs TA, Brill A, Duerschmied D, Schatzberg D, Monestier M, Myers DD Jr, et al. Extracellular DNA traps promote thrombosis. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2010;107:15880-5.
61. Villanueva E, Yalavarthi S, Berthier CC, Hodgins JB, Khandpur R, Lin AM, et al. Netting neutrophils induce endothelial damage, infiltrate tissues, and expose immunostimulatory molecules in systemic lupus erythematosus. *J Immunol.* 2011;187:538-52.
62. Grayson PC, Kaplan MJ. At the Bench: Neutrophil extracellular traps (NETs) highlight novel aspects of innate immune system involvement in autoimmune diseases. *J Leukoc Biol.* 2016;99:253-64.
63. Khandpur R, Carmona-Rivera C, Vivekanandan-Giri A, Gizinski A, Yalavarthi S, Knight JS, et al. NETs are a source of citrullinated autoantigens and stimulate inflammatory responses in rheumatoid arthritis. *Sci Transl Med.* 2013;5(178):178ra40.
64. Ercolini AM, Miller SD. The role of infections in autoimmune disease. *Clin Exp Immunol.* 2009;155(1):1-15.
65. Yildirim-Toruner C, Diamond B. Current and Novel Therapeutics in Treatment of SLE. *J Allergy Clin Immunol.* 2011;127(2):303-14.
66. Wouters D, Voskuyl AE, Molenaar ETH, Dijkman BAC, Erik Hack E. Evaluation of classical complement pathway activation in rheumatoid arthritis: Measurement of C1q-C4 complexes as novel activation products. *Arthritis & Rheumatism.* 2006;54(4):1143-50.
67. Leffler J, Martin M, Gullstrand B, Tyden H, Lood C, et al. Neutrophil extracellular traps that are not degraded in systemic lupus erythematosus activate complement exacerbating the disease. *J Immunol.* 2012;188:3522-31.
68. Zhang Y, Shi W, Tang S, et al. The influence of cathelicidin LL37 in human anti-neutrophils cytoplasmic antibody (ANCA)-associated vasculitis. *Arthritis Res Ther.* 2013;15(5):R161.
69. Kahlenberg JM, Kaplan MJ. Little peptide, big effects: the role of LL-37 in inflammation and autoimmune disease. *J Immunol.* 2013;191(10):4895-901.

Não foram declarados conflitos de interesse associados à publicação deste artigo.

Correspondência:
Jonatha Leonel Ernesto Da-Silva
E-mail: jonathalesilva@gmail.com