GASTROENTEROLOGIA E HEPATOLOGIA

Edição XVI

Capítulo 3

PAPEL PROGNÓSTICO DAS ARMADILHAS EXTRACELULARES DE NEUTRÓFILOS NAS DOENÇAS INFLAMATÓRIAS INTESTINAIS

ISAAC ALEF BARBOSA GOMES[1]
RAFAELA MARIA DA SILVA RIBEIRO[1]
SABRINE VITÓRIA DOS SANTOS RAMOS[1]
HENRIQUE COSTA VERAS[2]
SARAH MARIA BELO TEIXEIRA[3]
GIRLENO NUNES VIEIRA[1]
LAÍS REGINA DA SILVA MEDEIROS[4]
TIMÓTEO MENEZES NOGUEIRA[1]
MARINARA DE ABREU DOS REIS[1]
VICTORIA VIEIRA DE CARVALHO[1]
DAKSON DOUGLAS ARAÚJO[5]
JOSIVAN LOPES FERREIRA[6]
RUAN BRITO DE OLIVEIRA[2]
DANYELA MARIA LEAL HOLANDA[1]
ANTÔNIO VINICIUS VIEIRA ARAÚJO[6]

[1]Discente – Mestrado em Biotecnologia pelo Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal do Delta do Parnaíba (UFDPar).
[2]Discente – Bacharelado em Biomedicina pela Universidade Federal do Delta do Parnaíba (UFDPar).
[3]Discente – Licenciatura em Ciências Biológicas pela Universidade Federal do Delta do Parnaíba (UFDPar).
[4]Discente – Bacharelado em Odontologia pela Universidade Estadual do Piauí.
[5]Doutor em Biotecnologia pela Universidade Federal do Delta do Parnaíba.
[6]Discente – Doutorado em Biotecnologia pelo Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal do Delta do Parnaíba (UFDPar).

Palavras-chave: *Doenças Inflamatórias Intestinais; Armadilhas Extracelulares de Neutrófilos; Prognóstico.*

EDITORA PASTEUR

DOI 10.59290/9093528620

INTRODUÇÃO

Doença inflamatória intestinal (DIIs) é um termo que designa um conjunto heterogêneo de doenças crônicas, progressivas, incapacitantes caracterizadas pela cronicidade e curso recidivante (HAFEZ *et al*., 2025). As DIIs incluem principalmente a retocolite ulcerativa (RCU) e a doença de Crohn (DC) e demais tipos inespecíficos de colites. Embora a patogênese não seja completamente compreendida, acredita-se que o desenvolvimento das DIIs seja resultado de uma resposta imune exacerbada em resposta a fatores ambientais e/ou à microbiota intestinal em indivíduos geneticamente predispostos (DIEZ-MARTIN *et al*., 2024).

O tratamento farmacológico com imunomoduladores tem como finalidade induzir a remissão da doença, prevenindo complicações e restaurando a qualidade de vida dos pacientes (DIEZ-MARTIN *et al*., 2024). No entanto, apesar de uma terapia médica eficaz com imunossupressores que poderia garantir a remissão clínica, um grau de inflamação subclínica persistente na mucosa intestinal pode contribuir para um risco de recidiva "sintomática", que ocorre quando o processo inflamatório atinge uma intensidade crítica (LIVERANI *et al*., 2016).

A endoscopia é atualmente o padrão-ouro para o diagnóstico das DIIs, bem como para distinção entre a RCU e DC e o monitoramento da resposta ao tratamento farmacológico (OMORI *et al*., 2025). No entanto, é uma técnica invasiva, causando desconfortos e riscos potenciais. Nesse sentido, em razão da natureza recorrente das DIIs e a invasividade da técnica convencional, métodos alternativos devem ser considerados, como a utilização de biomarcadores (OMORI *et al*., 2025; LU *et al*., 2025).

As armadilhas extracelulares de neutrófilos (*NETs*) são um mecanismo efetor pelo qual os neutrófilos ativados promovem a captura e a lise de patógenos extracelulares. As *NETs* são estruturas semelhantes às teias compostas de fibras de DNA descondensadas associadas a histonas citrulinadas (*H3Cit*) e enzimas granulares, como a mieloperoxidase (*MPO*) e a elastase neutrofílica (NE) (WANG *et al*., 2024). Apesar de ser um importante mecanismo efetor da resposta antimicrobiana, a formação desregulada ou degradação prejudicada contribui para o desenvolvimento e manejo de diversas doenças, incluindo a DII (WANG *et al*., 2024). Nas DIIs, estudos demonstram que as *NETs* desempenham papel crucial na patogênese, contribuindo tanto nos eventos iniciais da doença, como a ruptura da barreira epitelial intestinal, dano tecidual e infiltração leucocitária, bem como complicações, por exemplo, a carcinogênese e fibrose tecidual (ORTEGA-ZAPERO *et al*., 2025; WU *et al*., 2026).

Além disso, marcadores relacionados às *NETs* nas DIIs não apenas refletem processos patogênicos, mas também podem servir como ferramentas eficientes para prever desfechos clínicos, como extensão da doença e a resposta ao tratamento (EL HAFEZ *et al*., 2020; LU *et al*., 2025). Dessa forma, a correlação da presença de proteínas associadas às *NETs* nas DIIs pode contribuir para uma melhor estratificação de risco nesses pacientes. No entanto, a aplicabilidade clínica desses biomarcadores ainda permanece em investigação, especialmente no que se refere ao seu valor prognóstico. Com isso, o presente estudo tem como objetivo a realização de uma revisão integrativa acerca do potencial das *NETs* no prognóstico de pacientes com DIIs.

METODOLOGIA

A revisão integrativa foi conduzida nas bases de dados Embase, Scopus e PubMed, utilizando os seguintes descritores e operadores booleanos: ("*NETs" OR "Neutrophil Extracellu-*

lar Traps") AND "Inflammatory Bowel Disease" AND "Prognosis". Foram incluídos artigos clínicos que avaliaram a associação da presença de marcadores de *NETs* com o prognóstico das DIIs, com pacientes adultos, publicados entre 2020-2025, em inglês e disponibilizados na íntegra. Foram excluídas revisões de literatura, relatos de caso, resumos de congressos, teses, editoriais, estudos experimentais pré-clínicos, duplicados e em idioma diferente do inglês, artigos com pacientes pediátricos, bem como aqueles sem relação com o tema do estudo e que não estavam no eixo temático da pesquisa.

Para otimizar o processo de seleção e identificação dos artigos, utilizou-se o *Parsifal*, que auxiliou na sistematização da triagem dos estudos conforme os critérios estabelecidos. Inicialmente, a busca resultou em um total de 63 registros identificados nas bases de dados consultadas. Em seguida, foram aplicados os critérios de inclusão e exclusão, seguidos da leitura dos textos completos para confirmação da elegibilidade. De todos os artigos selecionados, foram extraídos o nome dos autores, ano de publicação e achados sobre o papel prognóstico das *NETs* nas DIIs.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A busca inicial resultou na identificação de 12 artigos no PubMed, 23 no Scopus e 28 na EMBASE. A avaliação foi conduzida em duas etapas: inicialmente, os títulos e resumos foram analisados com base nos critérios de elegibilidade, resultando em 8 artigos potencialmente elegíveis, entre os quais 4 publicações foram identificadas no PubMed, 3 na EMBASE e 1 no Scopus. Contudo, 1 artigo encontrado era comum entre as plataformas; além disso, 1 artigo foi identificado no PubMed e na Scopus. Dessa forma, após a remoção das duplicatas, apenas 5 artigos foram analisados na íntegra; porém, 1 artigo não estava disponível na íntegra e outro não especificou a faixa etária, sendo excluídos. No final, apenas 3 artigos foram selecionados para a presente revisão **(Tabela 3.1)**.

Tabela 3.1 Estudos referentes às *NETs* no prognóstico das DIIs

Autor, ano	Desenho experimental	Achados
Abd El Hafez *et al*., 2020	Coorte retrospectivo observacional	O aumento do nível de expressão de *PAD4* foi associado ao aumento do grau histopatológico, extensão anatômica da doença, falta de resposta à terapia e submissão à cirurgia radical em pacientes com RCU.
Cao *et al*., 2023	Coorte prospectivo observacional	Os componentes das *NETs* (*MPO*/NE/*H3Cit*) foram detectáveis nas fístulas de pacientes com DC e estavam paralelos aos níveis de *PAD4*, sendo os níveis maiores em pacientes com fístulas não cicatrizadas
Lu *et al*., 2025	Caso-controle	Pacientes com DII ativa apresentaram níveis elevados de *cfDNA*, *MPO-DNA* e *H3Cit*, que se correlacionaram com citocinas inflamatórias; esses marcadores foram fatores de risco independentes, mostraram bom desempenho diagnóstico e, em escore combinado, previram maior risco de recidiva em pacientes em remissão.

De acordo com os estudos identificados, as abordagens experimentais de visualização basearam-se principalmente na coloração por imunofluorescência, imagens de microscopia confocal e análise de colocalização de marcadores específicos (CAO *et al*., 2023), bem como na técnica de imuno-histoquímica (*IHQ*) para análise da imunorreatividade de enzimas, além da reação em cadeia da polimerase (*PCR*) para mensuração da expressão gênica (EL HAFEZ *et al*., 2020; CAO *et al*., 2023). Ademais, a dosagem bioquímica de marcadores circulantes

por meio de kits comerciais foi realizada em um dos estudos incluídos (LU *et al*., 2025).

Os marcadores utilizados para a visualização e quantificação de *NETs* consistiram em proteínas críticas associadas aos eventos iniciais ou à própria estrutura dessas redes. A formação de *NETs* depende da enzima peptidilarginina deiminase 4 (*PAD4*), responsável por converter resíduos de arginina em citrulina nas histonas, resultando em histonas citrulinadas, como a *H3Cit* (Wang *et al*., 2023). Em dois dos estudos analisados, a expressão de *PAD4* foi avaliada por *PCR* e *IHQ* (Abd El Hafez *et al*., 2020; CAO *et al*., 2023). Como consequência da ação da *PAD4*, a *H3Cit*, principal proteína associada à estrutura das *NETs*, tem sido utilizada como marcador confiável da formação de *NETs*, tendo sido identificada em dois artigos incluídos nesta revisão (CAO *et al*., 2023; LU *et al*., 2025).

Após a citrulinação das histonas, ocorre a neutralização das cargas positivas das fibras de DNA, promovendo a descondensação, etapa inicial e essencial para a formação de *NETs* (WANG *et al*., 2024). O DNA é considerado a espinha dorsal dessas estruturas, sendo posteriormente decorado por enzimas granulares e externalizado pelos neutrófilos durante a etapa final da NETose. A quantificação de fibras de DNA circulante tem sido utilizada como estratégia de monitoramento de *NETs* em pesquisas experimentais; entretanto, esse marcador apresenta baixa especificidade, uma vez que o DNA livre também pode derivar de apoptose ou necrose celular (HU *et al*., 2021; GILLOT *et al*., 2026). Nos artigos incluídos nesta revisão, apenas um estudo avaliou o DNA livre circulante (LU *et al*., 2025). Por outro lado, uma alternativa mais específica é a quantificação de complexos *MPO/DNA*, que reflete a associação entre o DNA extracelular e proteínas granulares dos neutrófilos, permitindo um monitoramento mais direcionado da formação de *NETs*. A detecção da presença de *MPO/DNA* foi realizada em dois dos estudos selecionados na presente revisão (CAO *et al*., 2023; LU *et al*., 2025).

A *PAD4* tem sido implicada como crucial na patogênese da DII, de acordo com evidências obtidas em modelos experimentais de colite, nos quais a inibição farmacológica ou a deleção gênica da enzima promoveu redução do índice de atividade da doença, melhora do dano tecidual e atenuação do recrutamento de células imunes (YASUDA *et al*., 2024¬; WANG *et al*., 2023). Corroborando esses achados pré-clínicos, Abd El Hafez *et al*. (2020) analisaram por *IHQ* a imunorreatividade para *PAD4* na mucosa colônica de pacientes com colite, bem como seu valor preditivo. Os autores observaram que a expressão de *PAD4* correlaciona-se positivamente com a gravidade histopatológica, incluindo ulceração epitelial e infiltração de células imunes. A análise histopatológica tem papel fundamental na prática clínica, auxiliando no monitoramento da gravidade, da resposta ao tratamento e do prognóstico (LEONG *et al*., 2025). Assim, Abd El Hafez *et al*. (2020) sugerem que a *IHQ* de *PAD4* associada à histopatologia pode ser útil no acompanhamento prognóstico dos pacientes.

As estratégias de tratamento da DII visam alcançar remissão profunda, que inclui remissão clínica, alívio dos sintomas (como diarreia e dor abdominal) e cicatrização da mucosa (AKIYAMA *et al*., 2024). No entanto, como apontado por Liverani *et al*. (2016), a inflamação persistente pode contribuir para episódios de recidiva e falha terapêutica. Nesse contexto, a persistência de infiltrado neutrofílico na mucosa intestinal, mesmo em pacientes com remissão clínica ou endoscópica, tem sido associada a maior risco de recidiva, especialmente na retocolite ulcerativa (GONZÁLEZ-PARTIDA *et al*., 2021; PARIGI *et al*., 2023; LIU *et al*.,

2024). Estudos também demonstram que a presença de neutrófilos no epitélio e na lâmina própria pode predizer reativação da doença, reforçando a atividade neutrofílica residual como marcador de inflamação histológica e possível indicador prognóstico (BRENNAN *et al*., 2017; GONZÁLEZ-PARTIDA *et al*., 2021).

Assim, Lu *et al*. (2025) demonstraram que níveis de *cfDNA*, *H3Cit* e complexos *MPO*/DNA correlacionam-se positivamente com marcadores inflamatórios na mucosa inflamada, como IL-1β, IL-6, proteína C reativa e *VEGF*. Ademais, observaram que os níveis de *NETs* são maiores em pacientes com doença ativa do que em remissão, e que, entre os pacientes acompanhados por 1 a 2 anos, níveis mais elevados estavam associados a maior risco de recidiva. Nos pacientes com colite, Abd El Hafez *et al*. (2020) também observaram que a imunorreatividade para *PAD4* pode atuar como biomarcador de falha terapêutica. Segundo os autores, a expressão moderada a forte da enzima esteve associada a casos de pancolite e à falha do tratamento, sendo necessária a realização de cirurgia radical. Esses achados indicam que o monitoramento da resposta terapêutica e da gravidade da doença pode ser realizado não apenas a partir do conteúdo das *NETs* já formadas, mas também por enzimas envolvidas em etapas anteriores da sua formação.

Considerada uma das manifestações mais incapacitantes em pacientes com DC, a DC fistulizante perianal (DCfp) afeta até 43% dos pacientes, resultando em complicações que comprometem a qualidade de vida dos pacientes, como incontinência fecal e estenose anorretal (GECSE *et al*., 2014; KOTZE *et al*., 2018). A presença de *NETs* tem sido implicada na cicatrização retardada de feridas em diferentes condições patológicas, como em casos de diabetes mellitus (Xue *et al*., 2026). Nesse sentido, Cao *et al*. (2023) relataram o papel das *NETs* no prognóstico de pacientes com DCfp submetidos à cirurgia: os autores observaram que os níveis de marcadores de *NETs* foram maiores em pacientes com fístulas não cicatrizadas, indicando um papel preditivo das *NETs* no pós-operatório.

Apesar de os achados disponíveis evidenciarem o potencial das *NETs* como biomarcadores prognósticos da DII, os estudos apresentam limitações que restringem a robustez das evidências. Em comum, destacam-se os tamanhos amostrais reduzidos, muitas vezes decorrentes da dificuldade de obtenção de espécimes e do delineamento unicêntrico ou retrospectivo. Ademais, protocolos clínicos heterogêneos e a baixa representatividade populacional contribuem para esses vieses. Essas restrições limitam a generalização dos resultados e reforçam a necessidade de investigações multicêntricas, prospectivas e com amostras ampliadas para consolidar a aplicabilidade clínica desses biomarcadores.

CONCLUSÃO

Em síntese, as evidências disponíveis indicam que a *PAD4* e diferentes componentes associados às *NETs* apresentam potencial como biomarcadores prognósticos nas doenças inflamatórias intestinais, relacionando-se à atividade inflamatória, gravidade histopatológica, resposta terapêutica, cicatrização de fístulas e risco de recidiva. Entretanto, o reduzido número de estudos, os pequenos tamanhos amostrais e a heterogeneidade dos métodos empregados ainda limitam a aplicação clínica desses marcadores. Dessa forma, embora os achados sustentem a relevância das *NETs* na estratificação prognóstica das DII, estudos prospectivos, multicêntricos e com protocolos padronizados são necessários para confirmar sua capacidade preditiva e estabelecer pontos de corte aplicáveis à prática clínica.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABD EL HAFEZ, A.; MOHAMED, A. S.; SHEHTA, A.*et al*. Neutrophil Extracellular Traps-Associated Protein Peptidyl Arginine Deaminase 4 Immunohistochemical Expression in Ulcerative Colitis and Its Association With the Prognostic Predictors. Pathology - Research and Practice, v. 216, n. 10, p. 153102, 2020. DOI: 10.1016/j.prp.2020.153102.

AKIYAMA, S.; MIYATANI, Y.; RUBIN, D. T. The Evolving Understanding of Histology as an Endpoint in Ulcerative Colitis. Intestinal Research, v. 22, n. 4, p. 389-396, 2024. DOI: 10.5217/ir.2023.00120.

BRENNAN, G. T.; MELTON, S. D.; SPECHLER, S. J.*et al*. Clinical Implications of Histologic Abnormalities in Ileocolonic Biopsies of Patients With Crohn's Disease in Remission. Journal of Clinical Gastroenterology, v. 51, n. 1, p. 43-48, 2017. DOI: 10.1097/MCG.0000000000000507.

CAO, D.; QIAN, K.; ZHAO, Y.*et al*. Association of Neutrophil Extracellular Traps With Fistula Healing in Patients With Complex Perianal Fistulizing Crohn's Disease. Journal of Crohn's and Colitis, v. 17, n. 4, p. 580-592, 2023. DOI: 10.1093/ecco-jcc/jjac171.

DIEZ-MARTIN, E.; HERNANDEZ-SUAREZ, L.; MUÑOZ-VILLAFRANCA, C.*et al*. Inflammatory Bowel Disease: A Comprehensive Analysis of Molecular Bases, Predictive Biomarkers, Diagnostic Methods, and Therapeutic Options. International Journal of Molecular Sciences, v. 25, n. 13, p. 7062, 2024. DOI: 10.3390/ijms25137062.

GECSE, K. B.*et al*. A Global Consensus on the Classification, Diagnosis and Multidisciplinary Treatment of Perianal Fistulising Crohn's Disease. Gut, v. 63, n. 9, p. 1381-1392, 2014. DOI: 10.1136/gutjnl-2013-306709.

GILLOT, C.; BOUARROUDJ, H.; DECARPENTRIE, J.*et al*. Techniques for Measuring NETosis: A Critical Literature Review and Outlook for Standardization. Thrombosis Research, v. 262, p. 109697, 2026. DOI: 10.1016/j.thromres.2026.109697.

GONZÁLEZ-PARTIDA, I.; MARTÍNEZ-LOZANO, H.; GONZÁLEZ-LOIS, C.*et al*. Histological Inflammatory Activity Can Predict Endoscopic Relapse in Patients With Ulcerative Colitis Who Have Achieved Mucosal Healing. European Journal of Gastroenterology and Hepatology, v. 33, n. 1, suplemento 1, p. e796-e802, 2021. DOI: 10.1097/MEG.0000000000002258.

HAFEZ, M. M.; BAHCECIoglu, I. H.; YALNIZ, M.*et al*. Future of Inflammatory Bowel Disease Treatment: A Review of Novel Treatments Beyond Guidelines. World Journal of Methodology, v. 15, n. 4, p. 107643, 2025. DOI: 10.5662/wjm.v15.i4.107643.

HU, Z.; CHEN, H.; LONG, Y.*et al*. The Main Sources of Circulating Cell-Free DNA: Apoptosis, Necrosis and Active Secretion. Critical Reviews in Oncology/Hematology, v. 157, p. 103166, 2021. DOI: 10.1016/j.critrevonc.2020.103166.

KOTZE, P. G.*et al*. Modern Management of Perianal Fistulas in Crohn's Disease: Future Directions. Gut, v. 67, n. 6, p. 1181-1194, 2018. DOI: 10.1136/gutjnl-2017-314918.

LEONG, R. W.; CHAEMSUPAPHAN, T.; LIN, H.*et al*. Asia Pacific Association of Gastroenterology Consensus Statements on Histopathological Evaluation of Inflammatory Bowel Diseases. Therapeutic Advances in Gastroenterology, v. 18, p. 17562848251363703, 2025. DOI: 10.1177/17562848251363703.

LIU, M.; YAO, Y.; YE, J. X.*et al*. Value of Histological Activity in Predicting Endoscopic Relapse Among Patients of Ulcerative Colitis in Endoscopic Remission. Zhonghua Bing Li Xue Za Zhi, v. 53, n. 7, p. 709-715, 2024. DOI: 10.3760/cma.j.cn112151-20231111-00352.

LIVERANI, E.; SCAIOLI, E.; DIGBY, R. J.*et al*. How to Predict Clinical Relapse in Inflammatory Bowel Disease Patients. World Journal of Gastroenterology, v. 22, n. 3, p. 1017-1033, 2016. DOI: 10.3748/wjg.v22.i3.1017.

LU, F. Y.; HUANG, X.; ZHANG, K.*et al*. Circulating Neutrophil Extracellular Traps as Diagnostic and Prognostic Markers for Inflammatory Bowel Disease: A Case-Control Study. Journal of Inflammation Research, v. 18, p. 7867-7877, 2025. DOI: 10.2147/JIR.S519545.

OMORI, T.; WADA, H.; MITSUI, T.*et al*. Capsule Endoscopy in Inflammatory Bowel Disease: Current Status and Issues in Clinical Practice. DEN Open, v. 6, n. 1, p. e70166, 2025. DOI: 10.1002/deo2.70166.

ORTEGA-ZAPERO, M.*et al*. Neutrophils and NETs in Pathophysiology and Treatment of Inflammatory Bowel Disease. International Journal of Molecular Sciences, v. 26, n. 15, p. 7098, 2025. DOI: 10.3390/ijms26157098.

PARIGI, T. L.; CANNATELLI, R.; NARDONE, O. M.*et al*. Neutrophil-Only Histological Assessment of Ulcerative Colitis Correlates With Endoscopic Activity and Predicts Long-Term Outcomes in a Multicentre Study. Journal of Crohn's and Colitis, v. 17, n. 12, p. 1931-1938, 2023. DOI: 10.1093/ecco-jcc/jjad110.

WANG, H.; KIM, S. J.; LEI, Y.*et al*. Neutrophil Extracellular Traps in Homeostasis and Disease. Signal Transduction and Targeted Therapy, v. 9, n. 1, p. 235, 2024. DOI: 10.1038/s41392-024-01933-x.

WANG, P.; LIU, D.; ZHOU, Z.*et al*. The Role of Protein Arginine Deiminase 4-Dependent Neutrophil Extracellular Traps Formation in Ulcerative Colitis. Frontiers in Immunology, v. 14, p. 1144976, 2023. DOI: 10.3389/fimmu.2023.1144976.

WU, Y. J.*et al*. Neutrophil Extracellular Traps as a Potential Therapeutic Target in Inflammatory Bowel Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis. Frontiers in Immunology, v. 17, p. 1935261, 2026. DOI: 10.3389/fimmu.2026.1935261.

XUE, J.; WANG, Z.; QI, W. Neutrophil Extracellular Traps in Wound Healing of Diabetes: Mechanisms, Inducers, and Therapeutic Implications. Mediators of Inflammation, v. 2026, n. 1, p. e5525755, 2026. DOI: 10.1155/mi/5525755.

YASUDA, H.; UNO, A.; TANAKA, Y.*et al*. Neutrophil Extracellular Trap Induction Through Peptidylarginine Deiminase 4 Activity Is Involved in 2,4,6-Trinitrobenzenesulfonic Acid-Induced Colitis. Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology, v. 397, n. 5, p. 3127-3140, 2024. DOI: 10.1007/s00210-023-02800-2.