

DÉBORA FELÍCIA VIEIRA RAMOS

**ARMADILHAS EXTRACELULARES DE NEUTRÓFILOS, EM
MIELOMA MÚLTIPLO**

Trabalho de conclusão de curso apresentada à
Academia de Ciências e Tecnologia para obtenção
do título de Especialista em Hematologia Clínica e
Laboratorial.

São José do Rio Preto/SP
2023



ACADEMIA DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA

**DEPARTAMENTO DE HEMATOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO LATO SENSU
(HEMATOLOGIA CLÍNICA E LABORATORIAL)**

**ARMADILHAS EXTRACELULARES DE NEUTRÓFILOS, EM
MIELOMA MÚLTIPLO**

Autora: Débora Felícia Vieira Ramos

Trabalho de conclusão de curso apresentada à
Academia de Ciências e Tecnologia para obtenção
do título de Especialista em Hematologia Clínica e
Laboratorial.

Orientadora: Prof. Dr. Flávio Augusto Naum

São José do Rio Preto/SP
2023

Ramos, Débora

ARMADILHAS EXTRACELULARES DE NEUTRÓFILOS, EM MIELOMA MÚLTIPLO. / Débora Ramos. – São José do Rio Preto, 2023.

Trabalho de conclusão de curso (Especialista) – Academia de Ciências e Tecnologia.

Programa de Pós-Graduação Lato Sensu (Hematologia Clínica e Laboratorial)

Extracellular Traps of Neutrophils in multiple myeloma..

1.Neutrophils, 2.NETs, 3. Multiple Myeloma.

Dedico este trabalho primeiramente a Deus, meu maior orientador, por ser essencial na minha vida.

Aos meus pais, Paulo Ramos e Sônia Ramos, às minhas irmãs, ao meu esposo Fernando Batista, à minha filha Marcela Stefanne, pelo carinho e apoio.

Agradecimentos

Minha gratidão ao Prof. Dr. Flávio Augusto Naum, por aceitar ser meu orientador, pela paciência e dedicação na orientação do trabalho de conclusão de curso, por compartilhar seus conhecimentos e sua amizade.

Estendo minha gratidão ao Prof. Dr. Paulo Cesar Naum, por suas aulas alegres, sua forma de transmitir conhecimento é uma inspiração para minha vida profissional.

Ao programa de Pós-Graduação Lato Sensu (Hematologia Clínica e Laboratorial) da Academia de Ciências e Tecnologia e as pessoas com quem convivi na Academia de Ciências ao longo desse tempo.

À Magaly Moretti, por toda ajuda desde o processo seletivo para ingressar na pós-graduação, sua delicadeza, carinho e disposição são características marcantes.

À Victória Sposina, mais que uma colega, posso chamar de valorosa companhia. A sua amizade, dentro e fora da Academia de Ciências foi muito agradável.

Agradeço também aos colegas da turma 22° de Hematologia. A amizade e os momentos de comunhão ficarão guardados entre minhas melhores lembranças.

“Consagre ao Senhor tudo o que
você faz, e os seus planos serão
bem-sucedidos”
Provérbios 16:3

RESUMO

A produção de neutrófilos inicia nas células-tronco hematopoiéticas na medula óssea, alcançando a diferenciação e amadurecimento, e culminando na liberação dessas células na corrente sanguínea. Esse processo é regulado por citocinas, fatores de crescimento e outros sinais químicos.

Os neutrófilos podem danificar os tecidos do hospedeiro, sua implantação é regulada por três processos indispensáveis: fagocitose, degranulação e liberação de armadilhas extracelulares de neutrófilos (NETs).

As NETs são formadas quando os neutrófilos são ativados por diferentes estímulos, como bactérias, vírus, fungos, mas também foram implicadas em doenças autoimunes e inflamatórias. Durante esse processo, o núcleo da célula se desintegra, liberando o DNA, que estende-se para fora da célula, formando uma armadilha tridimensional.

As NETs podem estar presentes no mieloma múltiplo, sua formação pode estar associada a algumas características da doença, como inflamação, ativação imunológica e resposta pró-tumoral.

Esta revisão abordará a produção dos neutrófilos, aspectos relevantes das NETs, o que se sabe das NETs na doença hematológica do Mieloma Múltiplo.

As armadilhas extracelulares de neutrófilos tem um papel crucial na defesa do organismo contra o hospedeiro. Entender sua mudança de formação e suas funções biológicas é essencial para desenvolver estratégias terapêuticas inovadoras. Ao mesmo tempo, é importante considerar o equilíbrio entre suas funções protetoras e suas instruções patológicas em doenças hematológicas, abrindo caminho para pesquisas futuras em busca de terapias mais direcionadas e efetivas.

Palavras-chave: Neutrófilos, NETs, Mieloma Múltiplo.

ABSTRACT

The production of neutrophils begins with the hematopoietic stem cells in the bone marrow, reaching differentiation and maturation, and culminating in the release of these cells into the bloodstream. This process is regulated by cytokines, growth factors, and other chemical signals.

Neutrophils can damage host tissues, their implantation is regulated by three indispensable processes: phagocytosis, degranulation and release of extracellular neutrophil traps (NETs).

NETs are formed when neutrophils are activated by different stimuli, such as bacteria, viruses, fungi, but have also been implicated in autoimmune and inflammatory diseases. During this process, the nucleus of the cell disintegrates, releasing DNA, which spreads out of the cell, forming a three-dimensional trap.

NETs may be present in multiple myeloma; their formation may be associated with some features of the disease, such as inflammation, immune activation and pro-tumor response.

This review will address the production of neutrophils, relevant aspects of NETs, current knowledge of NETs in the hematological disease of Multiple Myeloma. Extracellular neutrophil traps play a crucial role in defending the body against the host.

Understanding their changing formation and biological functions is essential to develop innovative therapeutic strategies. Concomitantly, the evaluation of the balance between their protective functions and their pathological instructions in hematological diseases is important, paving the way for future research in the search for more targeted and effective therapies.

Keywords: Neutrophils, NETs, Multiple Myeloma.

LISTA DE ABREVIACÕES

NETs - armadilhas extracelulares de neutrófilos

HSCs -células-tronco hematopoiéticas

BLASTO – mieloblasto

PROMIELO – promielócito

MIELO - mielócito

META -metamielócito

BAST – bastonete

SEG – neutrófilos segmentados

G-CSF - fator estimulador de colônias de granulócitos

GM-CSF – fator estimulador de colônias de granulócitos e macrófagos

LES - lúpus eritematoso sistêmico

PTI - púrpura trombocitopênica idiopática

MM - mieloma múltiplo

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO-----	12
ESTUDOS DAS NETs FORAM RELATADAS EM VÁRIAS DOENÇAS--	15
ESTUDOS DAS NETs EM DOENÇA HEMATOLÓGICA-----	16
MIELOMA MÚLTIPLO E AS NETs-----	18
CONCLUSÃO-----	19
REFERÊNCIAS-----	21

OBJETIVO

Elucidar as armadilhas extracelulares de neutrófilos no envolvimento da doença hematológica do mieloma múltiplo como possíveis estratégias terapêuticas inovadoras.

METODOLOGIA

A metodologia empregada foi baseada em uma revisão bibliográfica de artigos relevantes sobre armadilhas extracelulares de neutrófilos e associar sua relação com a doença hematológica do mieloma múltiplo.

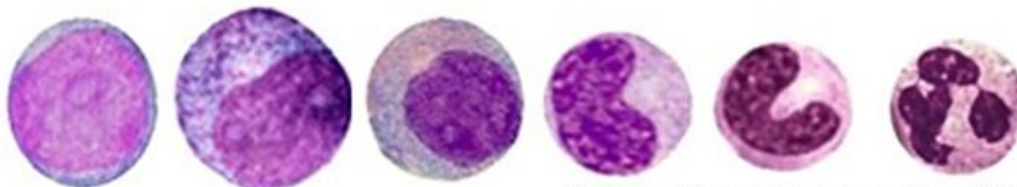
REVISÃO DE LITERATURA

INTRODUÇÃO

Os neutrófilos são leucócitos que desempenham um papel crucial na resposta imunológica do corpo(1). A produção de neutrófilos, assim como de outros tipos de células sanguíneas, ocorre na medula óssea(2). Esse processo é conhecido como hematopoiese e envolve uma série de diferenciação das células-tronco hematopoiéticas em células maduras especializadas(3). Na produção de neutrófilo estão envolvidos alguns passos principais: a hematopoiese começa nas células-tronco hematopoiéticas (HSCs), que são células multipotentes presentes na medula óssea(4). Essas células têm a capacidade de se diferenciar em vários tipos de células sanguíneas, incluindo neutrófilos(4). Sob a influência de várias citocinas e fatores de crescimento, como o fator estimulador de colônias de granulócitos (G-CSF) e fator estimulador de colônias de granulócitos e macrófagos (GM-CSF), esses precursores passam por várias etapas de diferenciação, tornando-se cada vez mais especializados para a função dos neutrófilos(5).

Durante a diferenciação, os precursores de neutrófilos são conhecidos como mieloblastos, promielócitos, mielócitos, metamielócitos, bastonete e finalmente neutrófilos segmentados(6). Essa diferenciação está associada na forma celular, na expressão de proteínas e nas características funcionais.

Mieloblasto Promielócito Mielócito Metamielócito Bastonete Neutrófilo



MacQueen, B C et al. Journal of perinatology (2016)

À medida que os neutrófilos segmentados amadurecem, eles são liberados da medula óssea e entram na corrente sanguínea(7). Esse processo é regulado por citocinas e fatores de crescimento(7), incluindo o G-CSF, que estimulam a liberação de neutrófilos da medula óssea para a circulação(8).

Uma vez na circulação sanguínea, os neutrófilos circulam até que sejam recrutados para os locais de infecção ou inflamação por meio de sinais químicos liberados por células inflamatórias(9). Assim, eles exercem sua função de combate por meio da fagocitose de patógenos e da liberação de substâncias bactericidas(10).

Os neutrófilos têm uma vida útil relativamente curta, geralmente de apenas alguns dias, após cumprir sua função, eles podem morrer por apoptose ou serem fagocitados por macrófagos, que ajudam a remover os neutrófilos mortos e restos celulares(11).

Em 2004, um grupo de estudiosos observou que, quando os neutrófilos eram liberados na corrente sanguínea, eles não apenas os fagocitavam (12)(engolfavam e destruíam) como se pensava anteriormente, mas também lançavam algo totalmente novo e relataram que os neutrófilos produzem uma rede de DNA, coberta por proteínas citoplasmáticas, que se projeta para fora da célula, como uma armadilha(13,14). Essas estruturas foram chamadas de Armadilhas Extracelulares de Neutrófilos (NETs)(15).

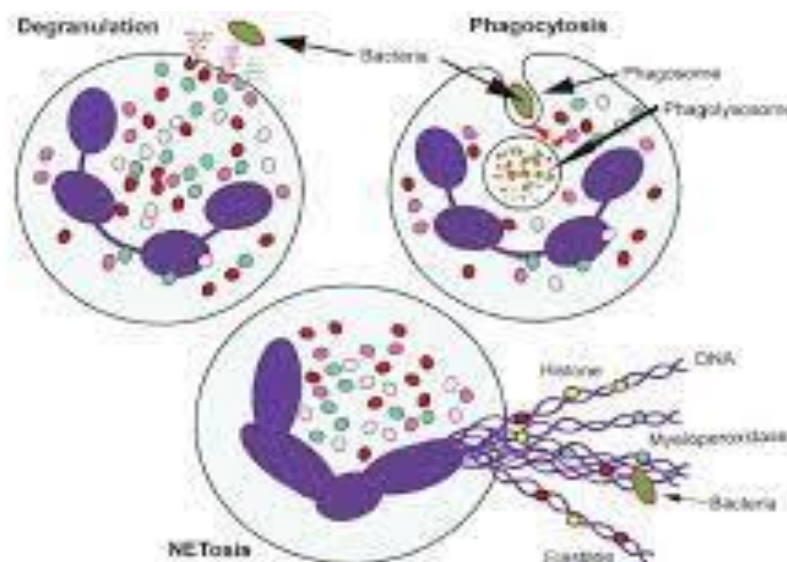


Figura de *Frontiers in Physiology*. 2018

As NETs são incrivelmente eficazes na captura e destruição de patógenos. As bactérias ficam presas na rede, tornando-se alvos fáceis para outras células imunológicas eliminarem(12). Além disso, as NETs contêm enzimas tóxicas que degradam as bactérias e contribuem para a defesa do hospedeiro(16).

Com o passar dos anos, estudos adicionais revelaram que as NETs não estavam limitadas para combater apenas bactérias(17). Neutrófilos também podiam formar NETs em resposta a vírus, fungos e outros agentes invasores(18–20), ampliando a importância dessa descoberta.

No entanto, apesar de seu papel protetor, as NETs também foram implicados em certas doenças autoimunes e inflamatórias(21,22). Quando produzidos em excesso ou quando não são devidamente eliminados após cumprir sua missão, as NETs podem causar danos ao próprio tecido do hospedeiro(23).

Quando os neutrófilos detectam uma grande concentração de invasores(24), acontece o processo conhecido como "NETose", os neutrófilos passam por uma transformação(25).

A NETose é uma resposta imunológica do sistema imunológico inato, que envolve a liberação de armadilhas extracelulares de neutrófilos para capturar e matar microrganismos invasores(25).

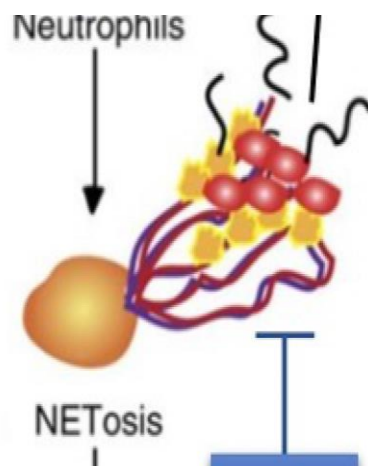


Figura adaptada de health-holland 2019

O processo de NETose pode ser descrito em etapas, quando os neutrófilos detectam sinais de infecção ou inflamação, eles são ativados e iniciam o seu processo(25). O núcleo do neutrófilo passa por descondensação e a cromatina é desenrolada(26). As proteínas antimicrobianas, como a elastase, mieloperoxidase, histonas, (27), são

direcionadas para o núcleo e têm a capacidade de degradar a parede celular das bactérias e outras estruturas essenciais dos patógenos, uma combinação de proteínas antimicrobianas com o DNA forma uma estrutura fibrosa, que são as armadilhas extracelulares de neutrófilos(27). Assim, as NETs são lançadas para o meio extracelular, onde se estendem e capturam microrganismos invasores(28). Além de combater patógenos, as NETs também desempenham um papel na regulação da resposta imunológica, elas podem interagir com outras células imunológicas, influenciando a produção de citocinas e afetando a ativação e diferenciação de diferentes tipos de células do sistema imune(29).

ESTUDOS DAS NETs FORAM RELATADAS EM VÁRIAS DOENÇAS

As armadilhas extracelulares de neutrófilos têm sido investigadas em várias doenças, tanto do ponto de vista do seu papel com suas funções protetoras e suas instruções patológicas. Algumas das principais doenças em que as NETs foram investigados incluem:

As NETs são amplamente aceitas em contextos de infecções bacterianas, como pneumonia, sepse (infecção generalizada), infecções do trato urinário(30–32). Assim como nas infecções bacterianas, as NETs também foram implicadas na defesa contra as infecções fúngicas(33). Elas ajudam a aprisionar e destruir fungos patogênicos, como *Candida albicans*, auxiliando na resolução de problemas adversos(34).

Estudiosos também investigaram o papel das NETs em infecções virais, na Covid-19(35), na influenza (gripe)(36), o vírus da dengue(37), o vírus da Zika(38) e o vírus da imunodeficiência humana (HIV)(39). As NETs podem interagir com vírus e, em alguns casos, podem aumentar a resposta imune antiviral(39). No entanto, eles observaram que a formação excessiva de NETs pode levar a complicações inflamatórias em algumas infecções virais(39).

Leucócitos fazem armadilhas extracelulares de neutrófilos para destruição do vírus

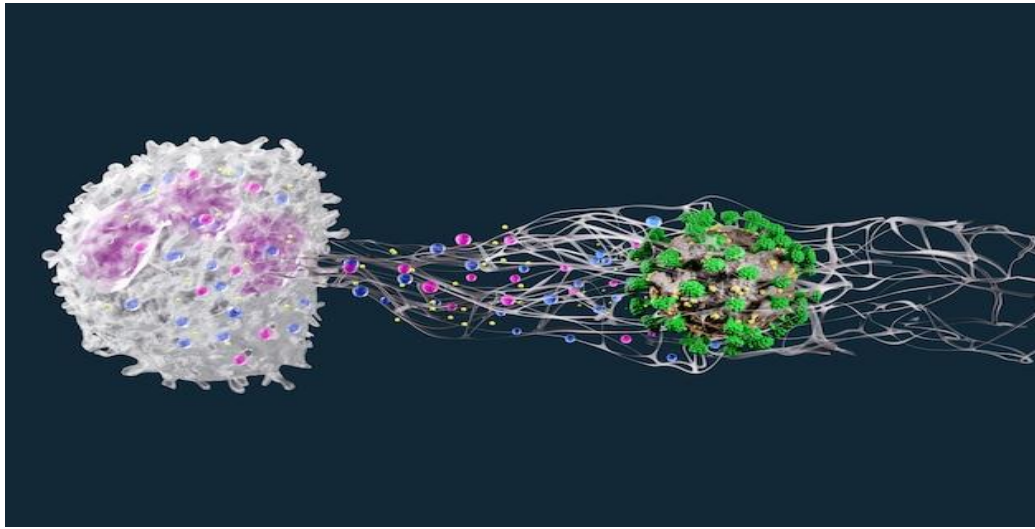


Figura de <https://br.freepik.com>

As NETs têm sido associadas a várias doenças autoimunes(40), como lúpus eritematoso sistêmico (LES)(41), artrite reumatoide(42) . Em algumas dessas doenças, a produção de NETs não é controlada, levando a danos nos tecidos e estimulando a inflamação crônica(43).

As NETs podem estar presente na progressão do câncer e na resposta imunológica antitumoral(44). Elas podem exercer um papel complexo no microambiente tumoral, influenciando a resposta imunológica contra as células neoplásicas(44).

Essas são algumas das doenças em que as armadilhas extracelulares de neutrófilos foram investigadas, incluindo outras doenças inflamatórias (45).

ESTUDOS DAS NETs EM DOENÇA HEMATOLOGICA

As armadilhas extracelulares de neutrófilos também foram objeto de estudo em doenças hematológicas(46), no sangue, na medula óssea e os órgãos do sistema hematopoético. Embora a pesquisa nessa área seja ainda limitada em comparação com outras doenças, há evidências do papel potencial das NETs em algumas condições hematológicas. Algumas dessas doenças incluem: A formação de coágulos sanguíneos(47) (trombose) é um processo complexo que pode estar associado a várias doenças hematológicas. As NETs foram implicadas na ativação do sistema de coagulação e na formação de trombos(47). Elas podem agir como plataformas para a ativação das plaquetas e das vias de coagulação, e para a geração de coágulos patológicos em situações de trombose venosa e arterial(48).

As vasculites são um grupo de doenças caracterizadas pela inflamação dos vasos sanguíneos(49). Estudos recentes sugerem que as NETs podem estar envolvidos na patogênese de vasculites, lesão endotelial e na inflamação vascular(49).

A anemia falciforme é uma doença genética do sangue que as hemácias ficam em forma de foice(50). Em indivíduos com anemia falciforme, a liberação de NETs foi associada a um aumento do estresse oxidativo e do metabolismo inflamatório, confiante para a fisiopatologia dessa condição(51).

Em Leucemias e linfomas(52,53), embora as pesquisas ainda estejam em estágio inicial, há indícios de que as NETs podem estar presente no microambiente tumoral em leucemias e linfomas, afetando a sobrevivência das células malignas(54).

A Mielofibrose é uma doença hematológica caracterizada pelo acúmulo de fibras de colágeno na medula óssea, prejudicando a produção normal de células sanguíneas, alguns estudos sugerem que as NETs podem desempenhar um papel na inflamação da medula óssea e contribuir para a fibrose(55).

No mieloma múltiplo as NETs estão presentes e estudos mostram que estão implicadas por estar associada a algumas características da doença, como inflamação(56).

Vale ressaltar que a pesquisa sobre o papel das NETs em doenças hematológicas ainda está no início, e muitas questões permanecem em aberto(46). É necessário continuar a investigação para compreender melhor como as NETs interagem com os diversos aspectos do sistema hematológico e como essas descobertas podem ser contempladas em tratamentos terapêuticos potenciais para essas doenças.

MIELOMA MÚLTIPLO E AS NETs

A faixa etária dos diagnosticados com mieloma múltiplo é de aproximadamente 65 anos(57). Em 2021, cerca de 34.290 novos diagnósticos foram realizados e 12.410 mortes ocorreram nos EUA. Em 2019, mais de 155.688 pessoas foram diagnosticadas com mieloma múltiplo em todo o mundo(58). Aproximadamente 100.000 mortes por mieloma múltiplo ocorrem a cada ano em todo o mundo(57).

O mieloma múltiplo (MM) é uma forma de câncer hematológico, é um distúrbio neoplásico das células plasmáticas, especializado na produção de imunoglobulinas(59). Essa doença ocorre quando as células plasmáticas neoplásicas se multiplicam de forma descontrolada na medula óssea, gerada na produção excessiva de proteínas monoclonais anormais, também chamadas de paraproteínas(60).

A patogênese do mieloma múltiplo envolve uma série de eventos complexos que levam à formação avançada de células plasmáticas neoplásicas na medula óssea(61). Embora não seja completamente compreendida, várias alterações genéticas e microambiente contribuíram para o desenvolvimento da doença(62). Abaixo estão alguns dos principais aspectos envolvidos na patogênese do mieloma múltiplo:

As células plasmáticas produzem anticorpos (imunoglobulinas)(63). Em condições normais, essas células ajudam favoravelmente. No entanto, no mieloma múltiplo, ocorre uma transformação neoplásica dessas células, fazendo com que elas se tornem prejudicial e se proliferem de forma descontrolada(63).

Várias alterações genéticas e alterações cromossômicas foram identificadas no mieloma múltiplo(64). Pacientes em alto risco e risco padrão são deleção 13 ou hipodiploidia no cariótipo convencional, deleção 17p- ou translocações de cadeia pesada de imunoglobulina t(4;14) ou t(14;16) em estudos de genética molecular, e com marcação de células plasmáticas de 3% ou superior, estão associados a um prognóstico mais desfavorável(65). Outros envolvendo genes como o RAS e o TP53 também podem estar presentes e contribuir para a progressão da doença(66,67).

O microambiente da medula óssea tem um papel crucial no desenvolvimento e crescimento do mieloma múltiplo(68). Células estromais, citocinas inflamatórias, fatores de crescimento e outras células imunes podem fornecer um ambiente favorável para a sobrevivência e sobrevivência das células plasmáticas neoplásicas(69,70).

O diagnóstico inclui eletroforese de soro ou urina e ensaio de cadeia leve livre, mas requer biópsia de medula óssea. Diferencia-se do mieloma latente e da gamopatia

monoclonal de significado indeterminado por um nível elevado (>3 g/dL) de proteína M (cadeias leves monoclonais) e pela presença de sintomas CRAB (hipercalcemia, insuficiência renal, anemia, dor óssea), sugerindo lesão de órgão-alvo(72).

O mieloma múltiplo frequentemente causa lesões ósseas devido à atividade das células neoplásicas na medula óssea(73). As células do mieloma podem estimular a atividade dos osteoclastos (células responsáveis pela reabsorção óssea) e inibir a função dos osteoblastos (células responsáveis pela formação óssea), resultaram em danos e enfraquecimento dos ossos(74).

Alguns estudos preliminares indicam que as NETs podem estar presentes no mieloma múltiplo e que sua formação pode estar associada a algumas características da doença, como inflamação, ativação imunológica e resposta pró-tumoral(70). Essas estruturas podem desempenhar um papel importante na modulação da resposta imune e no estímulo à inflamação crônica, o que pode influenciar o crescimento e a sobrevivência das células cancerígenas no microambiente da medula óssea(59).

Além disso, a presença de NETs no mieloma múltiplo pode estar relacionada ao estresse oxidativo, que é uma característica proeminente desse tipo de câncer(75). O estresse oxidativo, causado pela produção excessiva de espécies reativas de oxigênio, pode danificar as células normais da medula óssea e promover a persistência e resistência das células do mieloma (75).

As NETs podem estar envolvidos na patogênese e progressão do mieloma múltiplo devido às suas atividades pró-inflamatórias e imunomoduladoras(62), estudos indicam que os NETs podem estar envolvidos na promoção da angiogênese, processo que favorece o crescimento de novos vasos sanguíneos e pode levar a progressão o desenvolvimento do mieloma(76).

CONCLUSÃO

As armadilhas extracelulares de neutrófilos tem um papel crucial na defesa do organismo contra o hospedeiro. Compreender as NETs para desenvolver estratégias terapêuticas inovadoras e considerar o equilíbrio entre suas funções protetoras e suas instruções patológicas em doenças hematológicas é necessário.

Em Conclusão, as armadilhas extracelulares de neutrófilos estão intimamente relacionadas com a doença hematológica do mieloma múltiplo, vários estudos indicam que as NETs podem estar presentes no mieloma múltiplo e sua formação pode estar correlacionada com a inflamação, ativação imunológica e resposta pró-tumoral, que são particularidades dessa doença, apesar das evidências preliminares sobre o potencial envolvimento das NETs no mieloma múltiplo, é importante considerar que mais pesquisas são necessárias para compreender completamente essa relação. A compreensão dos controles específicos pelos quais as NETs foram envolvidos no mieloma múltiplo e a identificação de possíveis alvos terapêuticos são áreas promissoras para estudos futuros.

REFERÊNCIAS

1. Leliefeld PHC, Koenderman L, Pillay J. How Neutrophils Shape Adaptive Immune Responses. *Front Immunol*. 2015 Sep 14;6.
2. Costa G, Kouskoff V, Lacaud G. Origin of blood cells and HSC production in the embryo. *Trends Immunol*. 2012 May;33(5):215–23.
3. Kaushansky K, Zhan H. The regulation of normal and neoplastic hematopoiesis is dependent on microenvironmental cells. *Adv Biol Regul*. 2018 Aug;69:11–5.
4. Chapman J, Zhang Y. *Histology, Hematopoiesis*. 2023.
5. Cowland JB, Borregaard N. Granulopoiesis and granules of human neutrophils. *Immunol Rev*. 2016 Sep;273(1):11–28.
6. Mora-Jensen H, Jendholm J, Fossum A, Porse B, Borregaard N, Theilgaard-Mönch K. Technical Advance: Immunophenotypical characterization of human neutrophil differentiation. *J Leukoc Biol*. 2011 Jun 7;90(3):629–34.
7. Kronenwett R, Martin S, Haas R. The Role of Cytokines and Adhesion Molecules for Mobilization of Peripheral Blood Stem Cells. *Stem Cells*. 2000 Sep;18(5):320–30.
8. Basu S, Hodgson G, Katz M, Dunn AR. Evaluation of role of G-CSF in the production, survival, and release of neutrophils from bone marrow into circulation. *Blood*. 2002 Aug 1;100(3):854–61.
9. de Oliveira S, Rosowski EE, Huttenlocher A. Neutrophil migration in infection and wound repair: going forward in reverse. *Nat Rev Immunol*. 2016 Jun 27;16(6):378–91.
10. Kolaczowska E, Kubes P. Neutrophil recruitment and function in health and inflammation. *Nat Rev Immunol*. 2013 Mar 25;13(3):159–75.
11. Liew PX, Kubes P. The Neutrophil's Role During Health and Disease. *Physiol Rev*. 2019 Apr 1;99(2):1223–48.
12. Monteith AJ, Miller JM, Maxwell CN, Chazin WJ, Skaar EP. Neutrophil extracellular traps enhance macrophage killing of bacterial pathogens. *Sci Adv*. 2021 Sep 10;7(37).
13. Borregaard N, Cowland JB. Granules of the human neutrophilic polymorphonuclear leukocyte. *Blood*. 1997 May 15;89(10):3503–21.
14. Bainton DF. Distinct granule populations in human neutrophils and lysosomal organelles identified by immuno-electron microscopy. *J Immunol Methods*. 1999 Dec;232(1–2):153–68.
15. Brinkmann V, Reichard U, Goosmann C, Fauler B, Uhlemann Y, Weiss DS, et al. Neutrophil Extracellular Traps Kill Bacteria. *Science* (1979). 2004 Mar 5;303(5663):1532–5.
16. Kaplan MJ, Radic M. Neutrophil Extracellular Traps: Double-Edged Swords of Innate Immunity. *The Journal of Immunology*. 2012 Sep 15;189(6):2689–95.

17. Green JN, Kettle AJ, Winterbourn CC. Protein chlorination in neutrophil phagosomes and correlation with bacterial killing. *Free Radic Biol Med*. 2014 Dec;77:49–56.
18. Urban CF, Reichard U, Brinkmann V, Zychlinsky A. Neutrophil extracellular traps capture and kill *Candida albicans* yeast and hyphal forms. *Cell Microbiol*. 2006 Apr;8(4):668–76.
19. Saitoh T, Komano J, Saitoh Y, Misawa T, Takahama M, Kozaki T, et al. Neutrophil Extracellular Traps Mediate a Host Defense Response to Human Immunodeficiency Virus-1. *Cell Host Microbe*. 2012 Jul;12(1):109–16.
20. Abi Abdallah DS, Lin C, Ball CJ, King MR, Duhamel GE, Denkers EY. *Toxoplasma gondii* Triggers Release of Human and Mouse Neutrophil Extracellular Traps. *Infect Immun*. 2012 Feb;80(2):768–77.
21. Lee KH, Kronbichler A, Park DDY, Park Y, Moon H, Kim H, et al. Neutrophil extracellular traps (NETs) in autoimmune diseases: A comprehensive review. *Autoimmun Rev*. 2017 Nov;16(11):1160–73.
22. Klopff J, Brostjan C, Eilenberg W, Neumayer C. Neutrophil Extracellular Traps and Their Implications in Cardiovascular and Inflammatory Disease. *Int J Mol Sci*. 2021 Jan 8;22(2).
23. Castanheira FVS, Kubes P. Neutrophils and NETs in modulating acute and chronic inflammation. *Blood*. 2019 May 16;133(20):2178–85.
24. McDonald B, Urrutia R, Yipp BG, Jenne CN, Kubes P. Intravascular neutrophil extracellular traps capture bacteria from the bloodstream during sepsis. *Cell Host Microbe*. 2012 Sep 13;12(3):324–33.
25. Thiam HR, Wong SL, Wagner DD, Waterman CM. Cellular Mechanisms of NETosis. *Annu Rev Cell Dev Biol*. 2020 Oct 6;36:191–218.
26. Branzk N, Lubojemska A, Hardison SE, Wang Q, Gutierrez MG, Brown GD, et al. Neutrophils sense microbe size and selectively release neutrophil extracellular traps in response to large pathogens. *Nat Immunol*. 2014 Nov 14;15(11):1017–25.
27. Papayannopoulos V, Metzler KD, Hakkim A, Zychlinsky A. Neutrophil elastase and myeloperoxidase regulate the formation of neutrophil extracellular traps. *Journal of Cell Biology*. 2010 Nov 1;191(3):677–91.
28. 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 Jan 15;176(2):231–41.
29. Teixeira A, Garasa S, Ochoa MC, Villalba M, Olivera I, Cirella A, et al. IL8, Neutrophils, and NETs in a Collusion against Cancer Immunity and Immunotherapy. *Clinical Cancer Research*. 2021 May 1;27(9):2383–93.
30. Hamaguchi S, Hirose T, Matsumoto N, Akeda Y, Irisawa T, Seki M, et al. Neutrophil extracellular traps in bronchial aspirates: a quantitative analysis. *European Respiratory Journal*. 2014 Jun 1;43(6):1709–18.
31. Denning NL, Aziz M, Gurien SD, Wang P. DAMPs and NETs in Sepsis. *Front Immunol*. 2019 Oct 30;10.
32. Krivošíková K, Šupčíková N, Gaál Kovalčíková A, Janko J, Pastorek M, Celec P, et al. Neutrophil extracellular traps in urinary tract infection. *Front Pediatr*. 2023 Mar 20;11.

33. Zhong H, Lu RY, Wang Y. Neutrophil extracellular traps in fungal infections: A seesaw battle in hosts. *Front Immunol.* 2022 Sep 14;13.
34. He Y, Liu J, Chen Y, Yan L, Wu J. Neutrophil Extracellular Traps in *Candida albicans* Infection. *Front Immunol.* 2022 Jun 16;13.
35. Borges L, Pithon-Curi TC, Curi R, Hatanaka E. COVID-19 and Neutrophils: The Relationship between Hyperinflammation and Neutrophil Extracellular Traps. *Mediators Inflamm.* 2020 Dec 2;2020:1–7.
36. Narasaraju T, Yang E, Samy RP, Ng HH, Poh WP, Liew AA, et al. Excessive neutrophils and neutrophil extracellular traps contribute to acute lung injury of influenza pneumonitis. *Am J Pathol.* 2011 Jul;179(1):199–210.
37. Garishah FM, Rother N, Riswari SF, Alisjahbana B, Overheul GJ, van Rij RP, et al. Neutrophil Extracellular Traps in Dengue Are Mainly Generated NOX-Independently. *Front Immunol.* 2021;12:629167.
38. de Siqueira Santos R, Rochael NC, Mattos TRF, Fallett E Silva MF, Linhares-Lacerda L, de Oliveira LT, et al. Peripheral nervous system is injured by neutrophil extracellular traps (NETs) elicited by nonstructural (NS) protein-1 from Zika virus. *FASEB J.* 2023 Sep;37(9):e23126.
39. Jenne CN, Kubes P. NETs tangle with HIV. *Cell Host Microbe.* 2012 Jul 19;12(1):5–7.
40. Fousert E, Toes R, Desai J. Neutrophil Extracellular Traps (NETs) Take the Central Stage in Driving Autoimmune Responses. *Cells.* 2020 Apr 8;9(4).
41. Li H, Zhang X, Shang J, Feng X, Yu L, Fan J, et al. Identification of NETs-related biomarkers and molecular clusters in systemic lupus erythematosus. *Front Immunol.* 2023;14:1150828.
42. 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 Mar 27;5(178):178ra40.
43. Castanheira FVS, Kubes P. Neutrophils and NETs in modulating acute and chronic inflammation. *Blood.* 2019 May 16;133(20):2178–85.
44. Masucci MT, Minopoli M, Del Vecchio S, Carriero MV. The Emerging Role of Neutrophil Extracellular Traps (NETs) in Tumor Progression and Metastasis. *Front Immunol.* 2020;11:1749.
45. Drury B, Hardisty G, Gray RD, Ho G tzer. Neutrophil Extracellular Traps in Inflammatory Bowel Disease: Pathogenic Mechanisms and Clinical Translation. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol.* 2021;12(1):321–33.
46. Huang M, Wang S, Hao Z, Guo X, Chu S, Li L, et al. [The immunomodulatory effect of neutrophil extracellular trapping nets (NETs) on hematological diseases]. *Xi Bao Yu Fen Zi Mian Yi Xue Za Zhi.* 2022 Apr;38(4):374–7.
47. Martinod K, Wagner DD. Thrombosis: tangled up in NETs. *Blood.* 2014 May 1;123(18):2768–76.

48. Moschonas IC, Tselepis AD. The pathway of neutrophil extracellular traps towards atherosclerosis and thrombosis. *Atherosclerosis*. 2019 Sep;288:9–16.
49. Kessenbrock K, Krumbholz M, Schönemarck U, Back W, Gross WL, Werb Z, et al. Netting neutrophils in autoimmune small-vessel vasculitis. *Nat Med*. 2009 Jun;15(6):623–5.
50. Steinberg MH. 6 Pathophysiology of sickle cell disease. *Baillieres Clin Haematol*. 1998 Mar;11(1):163–84.
51. Torres LS, Hidalgo A. NETs in sickle cell disease, quo vadis? *Blood*. 2022 Sep 1;140(9):938–9.
52. Manda-Handzlik A, Bystrzycka W, Wachowska M, Sieczkowska S, Stelmaszczyk-Emmel A, Demkow U, et al. The influence of agents differentiating HL-60 cells toward granulocyte-like cells on their ability to release neutrophil extracellular traps. *Immunol Cell Biol*. 2018 Apr;96(4):413–25.
53. Nie M, Yang L, Bi X, Wang Y, Sun P, Yang H, et al. Neutrophil Extracellular Traps Induced by IL8 Promote Diffuse Large B-cell Lymphoma Progression via the TLR9 Signaling. *Clin Cancer Res*. 2019 Mar 15;25(6):1867–79.
54. Li J, Chen J, Sun J, Li K. The Formation of NETs and Their Mechanism of Promoting Tumor Metastasis. *J Oncol*. 2023;2023:7022337.
55. Marin Oyarzún CP, Carestia A, Lev PR, Glembotsky AC, Castro Ríos MA, Moiraghi B, et al. Neutrophil extracellular trap formation and circulating nucleosomes in patients with chronic myeloproliferative neoplasms. *Sci Rep*. 2016 Dec 13;6(1):38738.
56. Fagerhol MK, Johnson E, Tangen JM, Hollan I, Mirlashari MR, Nissen-Meyer LSH, et al. NETs analysed by novel calprotectin-based assays in blood donors and patients with multiple myeloma or rheumatoid arthritis: A pilot study. *Scand J Immunol*. 2020 May;91(5):e12870.
57. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2020. *CA Cancer J Clin*. 2020 Jan 8;70(1):7–30.
58. Zhou L, Yu Q, Wei G, Wang L, Huang Y, Hu K, et al. Measuring the global, regional, and national burden of multiple myeloma from 1990 to 2019. *BMC Cancer*. 2021 Dec 25;21(1):606.
59. Kyle RA, Rajkumar SV. Multiple myeloma. *Blood*. 2008 Mar 15;111(6):2962–72.
60. PERLZWEIG WA, DELRUE G, GESCHICKTER C. HYPERPROTEINEMIA ASSOCIATED WITH MULTIPLE MYELOMAS. *J Am Med Assoc*. 1928 Mar 10;90(10):755.
61. Hideshima T, Mitsiades C, Tonon G, Richardson PG, Anderson KC. Understanding multiple myeloma pathogenesis in the bone marrow to identify new therapeutic targets. *Nat Rev Cancer*. 2007 Aug;7(8):585–98.
62. Furukawa Y, Kikuchi J. Molecular pathogenesis of multiple myeloma. *Int J Clin Oncol*. 2015 Jun 8;20(3):413–22.
63. Barwick BG, Gupta VA, Vertino PM, Boise LH. Cell of Origin and Genetic Alterations in the Pathogenesis of Multiple Myeloma. *Front Immunol*. 2019 May 21;10.

64. Cardona-Benavides IJ, de Ramón C, Gutiérrez NC. Genetic Abnormalities in Multiple Myeloma: Prognostic and Therapeutic Implications. *Cells*. 2021 Feb 5;10(2):336.
65. Dispenzieri A, Rajkumar SV, Gertz MA, Lacy MQ, Kyle RA, Greipp PR, et al. Treatment of Newly Diagnosed Multiple Myeloma Based on Mayo Stratification of Myeloma and Risk-Adapted Therapy (mSMART): Consensus Statement. *Mayo Clin Proc*. 2007 Mar;82(3):323–41.
66. Flynt E, Bisht K, Sridharan V, Ortiz M, Towfic F, Thakurta A. Prognosis, Biology, and Targeting of TP53 Dysregulation in Multiple Myeloma. *Cells*. 2020 Jan 24;9(2):287.
67. Le Calvez B, Le Bris Y, Herbreteau G, Jamet B, Bossard C, Tessoulin B, et al. RAS mutation leading to acquired resistance to dabrafenib and trametinib therapy in a multiple myeloma patient harboring BRAF mutation. *EJHaem*. 2020 Jul;1(1):318–22.
68. Kawano Y, Moschetta M, Manier S, Glavey S, Görgün GT, Roccaro AM, et al. Targeting the bone marrow microenvironment in multiple myeloma. *Immunol Rev*. 2015 Jan;263(1):160–72.
69. Hideshima T, Mitsiades C, Tonon G, Richardson PG, Anderson KC. Understanding multiple myeloma pathogenesis in the bone marrow to identify new therapeutic targets. *Nat Rev Cancer*. 2007 Aug;7(8):585–98.
70. de Jong MME, Kellermayer Z, Papazian N, Tahri S, Hofste op Bruinink D, Hoogenboezem R, et al. The multiple myeloma microenvironment is defined by an inflammatory stromal cell landscape. *Nat Immunol*. 2021 Jun 20;22(6):769–80.
71. Cook L, Macdonald DHC. Management of paraproteinaemia. *Postgrad Med J*. 2007 Apr 1;83(978):217–23.
72. Padala SA, Barsouk A, Barsouk A, Rawla P, Vakiti A, Kolhe R, et al. Epidemiology, Staging, and Management of Multiple Myeloma. *Medical Sciences*. 2021 Jan 20;9(1):3.
73. Rajkumar SV. Multiple myeloma: 2022 update on diagnosis, risk stratification, and management. *Am J Hematol*. 2022 Aug;97(8):1086–107.
74. Gai D, Chen JR, Stewart JP, Nookaew I, Habelhah H, Ashby C, et al. CST6 suppresses osteolytic bone disease in multiple myeloma by blocking osteoclast differentiation. *J Clin Invest*. 2022 Sep 15;132(18).
75. Lipchick BC, Fink EE, Nikiforov MA. Oxidative stress and proteasome inhibitors in multiple myeloma. *Pharmacol Res*. 2016 Mar;105:210–5.
76. Vacca A, Ria R, Reale A, Ribatti D. Angiogenesis in multiple myeloma. *Chem Immunol Allergy*. 2014;99:180–96.