

PREVALÊNCIA DE PAPILOMA VÍRUS HUMANO (HPV) EM TECIDOS PLACENTÁRIOS E RELAÇÃO COM PREMATURIDADE**ROBERTA KLERING^{1,2,*}, RAFAELA CAMELO^{1,2}, DANIELA AUGUSTIN SILVEIRA^{2,3}, JOSSIMARA POLETTINI^{2,4}****1 INTRODUÇÃO**

A placenta e os anexos embrionários protegem o embrião em desenvolvimento e são responsáveis pela nutrição, respiração, excreção e produção de hormônios durante o desenvolvimento (KIERSZENBAUM; TRES, 2012). Falhas na formação placentária podem comprometer o embrião e estão relacionadas à diversas complicações da gravidez, como aborto espontâneo, feto natimorto, trabalho de parto pré-termo, crescimento intra-uterino restrito (CIUR) e pré-eclâmpsia. Nesse contexto, infecções podem influenciar o desenvolvimento placentário, como a presença do Papilomavírus Humano (HPV) (BOULENOUAR et al., 2010). O HPV apresenta preferencialmente tropismo por células epiteliais, como na ectocérvice do colo uterino, mas também pode colonizar células trofoblásticas e influenciar na sua adesividade e proliferação (JACH et al., 2014). A infecção por HPV é considerada atualmente a infecção sexualmente transmissível mais comum, com prevalência estimada de 54,6% no ano de 2017 (ASSOCIAÇÃO HOSPITALAR MOINHOS DE VENTO, 2017). Na gestação, a via de infecção ao ambiente materno-fetal mais comum é a via ascendente do canal cervical, e uma possível consequência para o neonato, quando há contato com o HPV, é a papilomatose respiratória recorrente juvenil. Estudos com amostras biológicas distintas sugerem também a transmissão transplacentária do HPV, sendo que tecidos placentários apresentam cerca de 4% de DNA-HPV. Por outro lado, a positividade de DNA-HPV placentário pode chegar a cerca de 25% nos casos de mulheres grávidas positivas para DNA-HPV cervical no momento do parto, o que aumenta o risco de HPV oral no neonato, sendo que a modalidade do parto não foi definidora para o status HPV do neonato. No entanto, apesar das evidências de relação de infecção cervical e acometimento gestacional, a detecção do HPV cervical por biologia molecular não é realizada na assistência pré-natal do SUS, o que pode favorecer o subdiagnóstico, com consequente não tratamento, e, portanto, aumentar as taxas de infecção placentária (SARKOLA et al., 2008; TEIXEIRA et al., 2015).

1 Discente, Curso de Medicina, Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Passo Fundo, contato: roberta.klering@estudante.uffs.edu.br

2 Grupo de Pesquisa: Inovação em Saúde Coletiva: políticas, saberes e praticas de promoção da saúde.

3 Mestre, Docente do Curso de Medicina, Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Passo Fundo.

4 Doutora. Docente do Curso de Medicina, Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Passo Fundo.

Adversidades relacionadas à presença de HPV nos tecidos placentários são documentadas na literatura, incluindo prematuridade, associada especialmente à rotura prematura das membranas fetais, quadros que aumentam a morbidade neonatal (GOMEZ et al., 2008). Nesse contexto, o exame anatomopatológico da placenta é um aliado nas investigações das alterações relacionadas ao parto e à gestação. A análise é altamente relevante para o melhor entendimento da fisiopatologia placentária, cujas alterações podem levar ao comprometimento do desenvolvimento neonatal ou ainda à natimortalidade (ARAUJO et al., 2006).

2 OBJETIVOS

Determinar a prevalência de DNA-HPV nos tecidos placentários, sua associação com características sociodemográficas, gestacionais, neonatais e placentárias em gestantes atendidas pelo SUS em um hospital terciário da região norte do estado do Rio Grande do Sul.

3 METODOLOGIA

Trata-se de um estudo transversal, desenvolvido no Laboratório de Patologia do Hospital São Vicente de Paulo (HSVP) e no Laboratório de Bioquímica e Biologia Molecular da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), em Passo Fundo – RS. A amostra foi constituída por pacientes parturientes, atendidas pelo SUS no HSVP, que, por motivo de gestação de alto risco, ou critérios estabelecidos pela equipe obstétrica, tiveram suas placentas encaminhadas para análise anatomopatológica no ano de 2017. Foram excluídos os casos nos quais não foi possível encontrar o prontuário materno a partir do exame anatomopatológico. Os dados de caracterização gestacional e neonatal e relativos ao exame anatomopatológico da placenta foram coletados dos prontuários eletrônicos e analisados. O projeto foi aprovado pela Comissão de Pesquisa e Pós-Graduação do HSVP e do Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos (CEP) da UFFS (CAAE 21478519.4.0000.5564). Os blocos de parafina das amostras selecionadas para o estudo foram seccionados em micrótomo comum e desparafinizadas em xilol. As amostras de tecido placentário foram submetidas à extração de DNA conforme protocolo descrito a seguir (MARCOLINO et al., 2008). Para a pesquisa de HPV foi empregada a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) utilizando os iniciadores MY09 e MY11, seguido de Nested-PCR com os primers e GP5+/GP6+. Os controles positivos foram compostos por DNA extraído de células HeLa e a extração do DNA das amostras estudadas foi verificada pela amplificação do gene constitutivo da β -globina. A

eficiência das amplificações foi monitorada pela eletroforese em gel de agarose 1,5% corado com Brometo de Etídio. Os dados foram compilados em planilha eletrônica no programa Epidata versão 3.1 e analisados no programa PSPP (distribuição livre). A análise estatística consistiu-se em distribuição absoluta e relativa das frequências das variáveis categóricas.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram identificados 339 exames anatomopatológicos placentários de gestantes que tiveram parto realizado no HSVP pelo SUS, no entanto, 12 não foram incluídos por discrepância entre a identificação do exame e o prontuário materno, sendo assim, incluídos dados de 327 pacientes. No referido hospital, no ano de 2017, foram registrados 3412 nascimentos. Dessa forma, a amostra analisada correspondeu à 9,9% dos nascimentos, aproximadamente. Em relação aos dados sociodemográficos, observou-se que 4,3% possuía menos de 18 anos, 74,6% entre 18 e 34 anos e 21,1% possuía 35 anos ou mais. A etnia branca (82,9%) e estado conjugal com companheiro (82,6%) foram os mais prevalentes e 42,5% das gestantes possuíam o Ensino Médio Completo.

Os resultados dos exames anatomopatológicos das placentas e anexos referentes a alterações inflamatórias demonstrou corioamnionite em 78 (24,3%), funisite (cordão umbilical) em 20 (6,2%) e vilite (parênquima) em 14 (4,4%) das amostras avaliadas. Adicionalmente, infartos placentários e maturação irregular foram observados em 83 (25,9%) e 28 (8,7%) casos. Nesse contexto, observou-se principalmente alterações inflamatórias, o que pode inferir sobre possível colonização placentária por microrganismos. A corioamnionite histológica, considerada importante indicador de infecção da cavidade amniótica é definida pela presença de leucócitos polimorfonucleares nas estratificações das membranas corioamnióticas (MENON et al, 2010), e foi observada em quase um quarto das amostras. Nesse contexto, na presença de corioamnionite acompanhada por funisite, ou seja, presença de infiltrado inflamatório no cordão umbilical, a associação com as adversidades neonatais pode ser ainda mais evidente.

Para a pesquisa de foram analisadas 120 amostras, divididas entre parênquima placentário e membranas corioamnióticas. Foi possível recuperar o DNA total em 63 (52,5%) das amostras, tanto de parênquima placentário como de membranas corioamnióticas. Por outro lado, a pesquisa de HPV foi negativa em todas as amostras avaliadas (Figura 1). Tuominen et al. (2018) demonstraram que a presença de HPV altera a microbiota placentária, sendo considerado um cofator nas infecções dos tecidos placentários. Nesse contexto, portanto, existem evidências de que a infecção pelo HPV na placenta aumente o risco de complicações

da gravidez, incluindo aborto no primeiro trimestre, infecção nasofaríngea ou bucal do recém-nascido e prematuridade associada à rotura prematura de membranas. No entanto, no presente estudo, os dados parciais de pesquisa de HPV demonstraram que não houve positividade da presença viral em parênquima placentário e/ou membranas corioamnióticas de gestantes que realizaram exame anatomopatológico desses tecidos. Uma possível justificativa para tal resultado é o baixo número de amostras processadas para essa variável (n=63), e, considerando que as taxas de positividade variam de 4 a 5% (SARKOLA et al., 2008; TEIXEIRA et al., 2015), uma amostragem maior poderia refletir a positividade esperada. Adicionalmente, o processo de inclusão de amostras teciduais em parafina, apesar de oportunizar às unidades hospitalares o armazenamento dessas amostras a longo prazo, e proporcionar assim uma importante fonte para estudos adicionais retrospectivos, como utilizado nesse estudo, faz a utilização do formol, o qual, juntamente com o posterior processamento histológico, geram certa degradação e modificações químicas nas células que podem se apresentar em graus variáveis. Acredita-se, portanto, que o aumento da amostragem e melhoria nos protocolos de recuperação de DNA poderão gerar dados mais condizentes sobre a real prevalência de HPV nos tecidos placentários na população estudada.

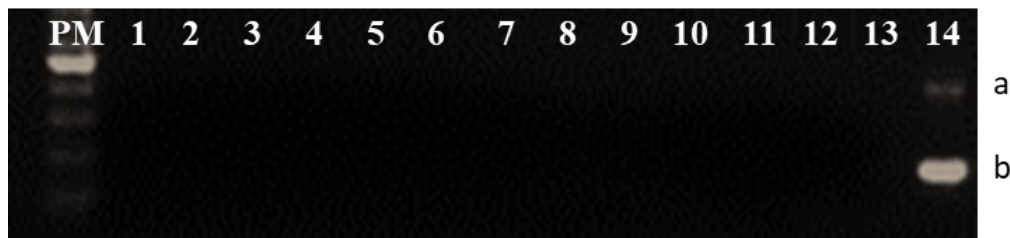


Figura 1. Gel de agarose corado com brometo de etídeo após eletroforese para separação e visualização das bandas representativas do gene do HPV amplificado pela Reação de Nested-PCR, em amostras de parênquima placentário e de membranas corioamnióticas. Linhas 1-12: amostras negativas; linha 13: controle negativo; linha 14: controle positivo).

(PM: peso molecular 100 pares de base (bp); tamanho esperado do produto amplificado: 150pb (banda a: banda remanescente da primeira reação de PCR (450bp) e banda b: banda da reação de Nested-PCR (150bp)).

5 CONCLUSÃO

Dessa forma, considerando a amostra e metodologia empregadas, conclui-se que a positividade de HPV não foi observada e relacionada aos dados sociodemográficos, gestacionais e neonatais, portanto, novos estudos com maior amostragem devem ser

realizados para melhor compreensão das características da população estudada. No entanto, o diagnóstico da presença do HPV nos tecidos placentários são de extrema importância para o entendimento do perfil da população estudada e relação com desfechos gestacionais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARAÚJO, C. P. et al. Alterações placentárias macroscópicas associadas à ocorrência de fetos/recém-nascidos macrossômicos na gestação de alto risco [58^a Reunião Anual da SBPC; 2006; Florianópolis].
- ASSOCIAÇÃO HOSPITALAR MOINHOS DE VENTO. **Estudo epidemiológico sobre a prevalência nacional de infecção pelo HPV (POP Brasil): resultados preliminares**. 1 ed. Porto Alegre; 2017.
- BOULENOUAR, S. et al. Effects of HPV-16 E5, E6 and E7 proteins on survival, adhesion, migration and invasion of trophoblastic cells. **Carcinogenesis**, [s.l.], v. 31, n. 3, p. 473-480, mar. 2010.
- JACH, R. et al. Vertical transmission of HPV in pregnancy. A prospective clinical study of HPV-positive pregnant women. **Ginekologia Polska**, [S.L.], v. 85, n. 9, p. 672-676, set. 2014.
- GOMEZ L. M. et al. Placental infection with human papillomavirus is associated with spontaneous preterm delivery. **Hum Reprod**. 2008; 23(3): 709-715.
- KIERSZENBAUM, A. L.; TRES L. L. **Histologia e biologia celular: uma introdução à patologia**. 3. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2012.
- MARCOLINO, L. D. et al. Coinfecção de Chlamydia trachomatis e HPV em mulheres com condiloma acuminado – **J Bras Doenças Sex Transm** 2008; 20(2): 87-9
- MENON R.; TAYLOR R. N.; FORTUNATO S. J. Chorioamnionitis - a complex pathophysiologic syndrome. **Placenta**. 2010;31(2):113–20.
- SARKOLA, M. E. et al. Human papillomavirus in the placenta and umbilical cord blood. **Acta Obstetricia Et Gynecologica Scandinavica**, [s.l.], v. 87, n. 11, p. 1181-1188, jan. 2008.
- TEIXEIRA, L. O. et al. Frequência do Papilomavírus Humano na placenta, no colostro e no sangue do cordão umbilical. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, [s.l.], v. 37, n. 5, p. 203-207, mai. 2015.
- TUOMINEN H. et al. HPV infection and bacterial microbiota in the placenta, uterine cervix and oral mucosa. **Sci Rep**. 2018;8(1):1–11.

Palavras-chave: Papiloma Vírus Humano. Reação em Cadeia da Polimerase. Gestação. Prematuridade.

Nº de Registro no sistema Prisma: PES-2019-0655

Financiamento: UFFS