



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PATOLOGIA
DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

GUSTAVO VIEIRA RODRIGUES MACIEL

**ASPECTOS ANATOMOCLÍNICOS E LABORATORIAIS DE GESTANTES
INFECTADAS PELO HIV E EXPOSTAS AO *ZIKA VÍRUS***

Belo Horizonte
2021

Gustavo Vieira Rodrigues Maciel

**ASPECTOS ANATOMOCLÍNICOS E LABORATORIAIS DE GESTANTES
INFECTADAS PELO HIV E EXPOSTAS AO *ZIKA VÍRUS***

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Patologia ao Programa de Pós-Graduação em Patologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais. Área de concentração: Patologia investigativa

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Antônio Pascoal Xavier

Belo Horizonte
2021

043

Maciel, Gustavo Vieira Rodrigues.

Aspectos anatomoclínicos e laboratoriais de gestantes infectadas pelo HIV e expostas ao Zika Vírus [manuscrito] / Gustavo Vieira Rodrigues Maciel. – 2021. 62 f. : il. ; 29,5 cm.

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Antônio Pascoal Xavier.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação em Patologia.

1. Patologia. 2. HIV. 3. Infecção por Zika vírus. 4. Placenta. I. Xavier, Marcelo Antônio Pascoal. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Biológicas. III. Título.

CDU: 616



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PATOLOGIA DA UFMG

ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO

ATA DA DEFESA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO Nº 437 DE GUSTAVO VIEIRA RODRIGUES MACIEL

Realizou-se, no dia 09 de setembro de 2021, às 14 horas, no formato *on-line*, Plataforma Teams, a defesa de Dissertação, intitulada *"Aspectos anatomoclínicos e laboratoriais de gestantes infectadas pelo HIV e expostas ao Zika vírus"*, apresentada por *Gustavo Vieira Rodrigues Maciel*, número de registro 2019695892, graduado no curso de MEDICINA, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em PATOLOGIA, à seguinte Comissão Examinadora: *Profa. Flávia Gomes Faleiros Ferreira* – Faculdade de Medicina/UFMG; *Profa. Cristiana Buzelin Nunes* – Faculdade de Medicina/UFMG; *Prof. Marcelo Antônio Pascoal Xavier* – Faculdade de Medicina/UFMG - ORIENTADOR.

A Comissão considerou a Dissertação:

- Aprovada
 Reprovada

Finalizados os trabalhos, lavrei a presente ata que, lida e aprovada, vai assinada por mim e pelos membros da Comissão.

Belo Horizonte, 09 de setembro de 2021.

*** De acordo com as Normas Gerais de Pós-Graduação da UFMG o grau de Mestre só será concedido ao aluno que entregar ao Colegiado do Curso, no prazo máximo de 60 dias, a versão final da Dissertação, em conformidade com as indicações da Comissão Examinadora. Após a entrega da versão final com a documentação exigida para emissão de Diploma, a secretaria emitirá Certificado de Conclusão do Mestrado.**

Assinatura dos membros da banca examinadora:



Documento assinado eletronicamente por **Marcelo Antonio Pascoal Xavier, Professor do Magistério Superior**, em 09/09/2021, às 16:41, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Flavia Gomes Faleiro Ferreira, Professora do Magistério Superior**, em 09/09/2021, às 16:41, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Cristiana Buzelin Nunes, Professora do Magistério Superior**, em 09/09/2021, às 16:43, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).

A autenticidade deste documento pode ser conferida no site
https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?

12/09/2021 18:54

SEI/UFMG - 0943678 - Ata de defesa de Dissertação/Tese



[acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0](#), informando o código verificador **0943678** e o código CRC **68BB3AE3**.

Referência: Processo nº 23072.246498/2021-40

SEI nº 0943678



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PATOLOGIA DA UFMG

FOLHA DE APROVAÇÃO

**“ASPECTOS ANATOMOCLÍNICOS E LABORATORIAIS DE GESTANTES INFECTADAS
PELO HIV E EXPOSTAS AO ZIKA VIRUS”**

GUSTAVO VIEIRA RODRIGUES MACIEL

Dissertação submetida à Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de **Pós-Graduação em Patologia**, como requisito para obtenção do grau de **Mestre em PATOLOGIA**, área de concentração **PATOLOGIA INVESTIGATIVA**.

Aprovada em 09 de setembro de 2021, pela banca constituída pelos membros:

Profa. Flavia Gomes Faleiros Ferreira - Faculdade de Medicina/UFMG

Profa. Cristiana Buzelin Nunes - Faculdade de Medicina/UFMG

Prof. Marcelo Antônio Pascoal Xavier - Faculdade de Medicina/UFMG ORIENTADOR

Belo Horizonte, 09 de setembro de 2021.



Documento assinado eletronicamente por **Marcelo Antonio Pascoal Xavier, Professor do Magistério Superior**, em 09/09/2021, às 16:41, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Flavia Gomes Faleiro Ferreira, Professora do Magistério Superior**, em 09/09/2021, às 16:41, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Cristiana Buzelin Nunes, Professora do Magistério Superior**, em 09/09/2021, às 16:42, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **0943687** e o código CRC **F30B7820**.

Dedico ao meu marido Anderson e aos meus pais.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a meu marido Anderson Maciel, o meu grande companheiro de vida. É meu maior incentivador e defensor. Sabe que sem você não teria forças para estar aqui. Se hoje eu sou mais forte, devo a você. Te amo.

Aos meus pais Renato Maciel e Elaine Vieira. São meus exemplos, desde pequeno. Sempre observei e admirei vocês e tento trazer todos os dias um pouco de suas experiências e conselhos para minha vida.

Aos meus irmãos, primos, primas, tios, tias pelo apoio e força.

À minha avó Margarida (*in memoriam*) que tanto me deixa saudades.

Aos meus cunhados, sogra e sogro por entender as vezes que não pude ir à Bambuí para dedicar ao trabalho.

Ao meu orientador Marcelo Antônio Pascoal Xavier por me dar tanto suporte. Sempre acreditou nesse projeto, por vezes mais do que eu mesmo. Foi sempre acolhedor com meus medos e me incentivou a ir um pouco mais além. Vou ser sempre grato pela sua delicadeza e generosidade.

Ao Professor Jorge Andrade Pinto por tornar este trabalho possível.

Ao professor Eduardo Paulino Júnior, meu mestre e hoje um grande amigo. Você é sensacional.

Aos professores do departamento de patologia e aos médicos patologistas do laboratório de patologia da UFMG por todos os ensinamentos patológicos.

A todos os funcionários do departamento de patologia e do laboratório de patologia da UFMG, em especial a Fernanda que realizou o processamento do material; à Maria de Lourdes que cuidou e vigiou as “minhas” placentas; ao meu querido amigo Marcos André, sempre pronto para ajudar e ensinar.

Ao instituto René Rachou que auxiliou de maneira fundamental a realização do trabalho.

À Isabella, João Gabriel, Alícia e ao Pedro, mais novo membro dessa linda família, por uma amizade que prospera vida afora.

Aos meus amigos dos plantões da neonatologia da UFMG. Vocês são demais e fazem toda diferença em minha vida.

Por fim agradeço a todos que eu esbarrei nessa vida e que, de alguma forma, deixaram alguma pequena marca em mim.

RESUMO

A epidemia de Zika vírus (ZIKV) observada no Brasil a partir de 2015 foi seguida pela identificação de complicações sendo as mais importantes aquelas relacionadas a síndrome congênita associada ao ZIKV (SCZ). Placentas de gestantes expostas ao vírus podem exibir alterações morfológicas variáveis. Tais alterações podem ser modificadas em pacientes imunossuprimidas, em contexto de coinfeção ZIKV e vírus da imunodeficiência humana (HIV), podendo associar-se a desfechos neonatais diversos. **Objetivo:** Caracterizar os aspectos morfológicos de placentas de gestantes infectadas pelo HIV e comparar com as placentas de gestantes infectadas com ZIKV e coinfectadas com ZIKV-HIV. **Métodos:** Foram incluídas 37 gestantes portadoras de HIV em acompanhamento em serviço obstétrico de referência e que apresentaram sintomatologia suspeita para infecção por arbovírus. Dados clínicos da gestação, análise anatomopatológica e pesquisa de material genético viral das placentas foram realizadas e comparadas com a histologia de placentas de gestantes que sabidamente apresentaram infecção pelo ZIKV na gestação e com grupo controle. **Resultado:** O esquema antirretroviral mais observado foi a combinação de lamivudina (3TC) + tenofovir (TDF) + efavirenz (EFZ) – 37,4%. A carga viral média ao parto foi de 836 cópias/mL, com redução de 81,9% comparado à admissão ($p=0,019$). A média de idade gestacional ao parto, o peso ao nascimento e a nota de Apgar dos recém-nascidos não divergiu da população. A análise macroscópica mostrou peso médio de 423,5g. Foi identificado um caso de infarto antigo, um de hematoma retroplacentário e um subcoriônico além de sinais de trombose de cordão umbilical e alteração da cor da placenta em 16,2% dos casos. O achado microscópico principal foi a hipoplasia vilosa distal acentuada presente em 88,8% das placentas de gestantes com ZIKV e moderada em 62,1% das placentas de gestantes portadoras de HIV. Outros achados identificados foram corangiose, congestão e espessamento de vasos vilosos. Material genético de HIV foi identificado em 94,5% das placentas do grupo de pacientes portadoras de HIV e em 10,8% dessas placentas também foi identificado a coinfeção pelo ZIKV. Não foi identificado hipoplasia vilosa distal acentuada no grupo de coinfeção ZIKV-HIV. **Conclusão:** Os vírus HIV e ZIKV comprometem a placenta humana de forma independente e, quando associados, há indício de redução do impacto do ZIKV.

PALAVRAS-CHAVE: Placenta; Vírus; HIV; ZIKV; Infecção congênita.

ABSTRACT

The Zika virus (ZIKV) epidemic that occurred in Brazil from 2015 was followed by the identification of complications, the most important being related to the congenital syndrome associated with ZIKV (SCZ). Placentas from pregnant women exposed to the virus may exhibit variable morphological changes. Such changes can be modified in immunosuppressed patients, in the context of co-infection, and may be associated with different neonatal outcomes.

Objective: Characterize the morphological aspects of placentas from HIV-infected pregnant women and compare with placenta from ZIKV carriers, and in ZIKV-HIV co-infection.

Methods: Thirty-seven HIV-positive pregnant women who were being followed up at a referral obstetric service and who had suspected symptoms of arbovirus infection were included. Clinical data of pregnancy, anatomopathological analysis and research of viral genetic material of the placentas were performed and compared with the histology of placentas from pregnant women who were known to have ZIKV infection during pregnancy and with a control group.

Results: The most observed antiretroviral regimen was the combination of lamivudine (3TC) + tenofovir (TDF) + efavirenz (EFZ) – 37,4%. The mean viral load at delivery was 836 copies/ml, with a reduction of 81,9% compared to admission ($p=0,019$). The mean gestational age at birth, birth weight and Apgar score of newborns did not differ from the population. The macroscopic analysis showed an average weight of 423.5g and identification of one case of old infarction, one of retroplacental and chorionic hematoma, in addition to signs of umbilical cord thrombosis and change in the color of the placenta in 16.2% of cases. The main microscopic finding was marked distal villous hypoplasia present in 88.8% of the placentas of pregnant women with ZIKV and moderate distal villous hypoplasia present in 62.1% of the placentas of pregnant women with HIV. Other findings identified were chorangiosis, congestion and thickening of villous vessels. HIV genetic material was identified in 94,5% of the placentas in the group of patients with HIV and in 10.8% of these placentas the co-infection by ZIKV was also identified. No marked distal villous hypoplasia was identified in the ZIKV-HIV co-infection group. HIV and ZIKV viruses independently compromise the human placenta and, when associated, there is evidence of reduced impact of ZIKV.

KEYWORDS: Placenta; Viruses; HIV; ZIKV; Congenital infection.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - TAXA DE DETECÇÃO DE HIV EM GESTANTES (POR 1.000 NASCIDOS VIVOS), SEGUNDO REGIÃO DE RESIDÊNCIA E ANO DO PARTO. BRASIL, 2009 A 2019.	19
FIGURA 2 - ABORDAGEM DA GESTANTE VIVENDO COM O HIV NO BRASIL.	21
FIGURA 3 - DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA E ÁREAS DE SOBREPOSIÇÕES DO HIV E DOS ARBOVÍRUS ZIKV E DENV NO MUNDO (ADAPTADO DE ROTHAN, 2018)..	23
FIGURA 4 – PLACENTA HUMANA. A - FACE FETAL; B - FACE MATERNA.	24
FIGURA 5 - INTERFACE MATERNO-FETAL	26
FIGURA 6 - LESÕES PLACENTÁRIAS:	35
FIGURA 7 - COMPARAÇÃO ENTRE AS CARGAS VIRAIS DO HIV (CÓPIAS/ML) DAS GESTANTES NA ADMISSÃO E NO PARTO.	39
FIGURA 8 - HISTOGRAMAS DO PESO (A) E ESTATURA (B). AS LINHAS VERMELHAS REPRESENTAM A DISTRIBUIÇÃO NORMAL ESPERADA.....	40
FIGURA 9 - APGAR 1 (A) E 5 (B) MINUTOS.....	41
FIGURA 10 - A, HIPOPLASIA VILOSA DISTAL EM PLACENTA DE GESTANTE PORTADORA DE HIV	43
FIGURA 11 - GRÁFICOS DE RADAR DAS COMPARAÇÕES DE DEPOSIÇÃO DE FIBRINA (A), CALCIFICAÇÃO (B), VILO AVASCULAR (C) E INTERVILOSITE CRÔNICA (D) ENTRE OS GRUPOS HIV, ZIKV E CONTROLE.	45
FIGURA 12 - GRÁFICOS DE BARRAS DAS COMPARAÇÕES DE HIPOPLASIA VILOSA DISTAL (A) E CORANGIOSE (B) ENTRE OS VÍRUS HIV E ZIKV E NA ASSOCIAÇÃO HIV/ZIKV.....	49
FIGURA 13 - GRÁFICOS DE BARRAS DAS COMPARAÇÕES DE CONGESTÃO (A), DEPOSIÇÃO DE FIBRINA (B), ESPESAMENTO DE VASO VILOSO (C) E BEBBING (D) ENTRE OS VÍRUS HIV E ZIKV E NA ASSOCIAÇÃO HIV/ZIKV.....	50

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – CLASSIFICAÇÃO DAS LESÕES PLACENTÁRIAS	34
TABELA 2 - ANÁLISE COMPARATIVA DA HIPOPLASIA VILOSA DISTAL ENTRE OS GRUPOS HIV, ZIKV E CONTROLE.....	43
TABELA 3 - ANÁLISES COMPARATIVAS DA CORANGIOSE, CONGESTÃO E DO ESPESSAMENTO DE VASO VILOSO (EVV) ENTRE OS GRUPOS HIV, ZIKV E CONTROLE.....	44
TABELA 4 - ANÁLISES COMPARATIVAS DA BEBBING, FUSÃO CELULAR E PERDA DAS JUNÇÕES CELULARES ENTRE OS GRUPOS HIV, ZIKV E CONTROLE.....	46
TABELA 5 - ANÁLISES COMPARATIVAS DO ESTÁGIO E GRAU DA CORIOAMNIONITE AGUDA, REPRESENTATIVOS DA RESPOSTA MATERNA, ENTRE OS GRUPOS HIV, ZIKV E CONTROLE.....	47
TABELA 6 - ANÁLISES COMPARATIVAS DO ESTÁGIO E GRAU DA CORIOAMNIONITE AGUDA, REPRESENTATIVOS DA RESPOSTA FETAL, ENTRE OS GRUPOS HIV E CONTROLE.	47
TABELA 7 - DETECÇÃO DOS VÍRUS HIV, ZIKV, DENV E CHIKV NOS GRUPOS HIV E ZIKV POR RT-PCR.	48
TABELA 8 - REAGRUPAMENTO DAS AMOSTRAS DE PLACENTA SEGUNDO RESULTADO DA RT-PCR.....	49

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AIDS – Síndrome da imunodeficiência humana
ALT – Alanintransferase
ATV – Atazanavir
B19V – Parvovírus B19
cDNA – Ácido desoxirribonucleico complementar
CHIKV – *Chikungunya vírus*
CMV – Citomegalovírus
COEP – Comitê de Ética em Pesquisa
CTB – Citotrofoblasto
CV – Carga viral
DENV – *Dengue vírus*
DRV – Darunavir
DTG – Dolutegravir
EBSERH – Empresa Brasileira de Serviços Hospitalares
EFZ – Efavirenz
EVT – Trofoblasto extraviloso
EVV – Espessamento de vaso viloso
GVHIV – Gestantes vivendo com HIV
HBeAg – Antígeno e do vírus da hepatite B
HBV – *Hepatitis B vírus*
HC – Células de Hofbauer
HCG – Gonadotrofina coriônica humana
HCV – *Hepatitis C vírus*
HE – Hematoxilina e eosina
HHV-6 – Herpesvírus humano – 6
HIV – Vírus da imunodeficiência humana
HSV – *Herpesvirus*
IFN- γ – Interferon gama
IgM – Imunoglobulina M
IO – Infecções oportunistas

IP – Inibidor de protease
ITRNN – Inibidores da transcriptase reversa não análogos de nucleosídeo
ITU – Infecção do trato urinário
JEV – Vírus da encefalite japonesa
LTR – *Long terminal repeats*
LT-CD4 – linfócitos T CD4
NK – *Natural Killer*
PTV – Prevenção da transmissão vertical
r – Ritonavir
RAL – Raltegravir
RN – Recém-nascido
RT-PCR – Reação em cadeia da polimerase em tempo real
SARS-CoV-2 – Coronavírus da síndrome respiratória aguda grave-2
SCZ – Síndrome congênita associada ao Zika vírus
STB – Sinciciotrofoblasto
TARV – Terapia antirretroviral
TB – Tuberculose
TDF – Tenofovir
TNF- α – Fator de necrose tumoral alfa
UFMA – Universidade Federal do Maranhão
UFMG – Universidade Federal de Minas Gerais
VZV – Vírus da Varicela-Zoster
WNV – Vírus do Nilo Ocidental
YFV – Vírus da febre amarela
ZIKV – Zika vírus
3TC – Lamivudina

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	16
2. REVISÃO DA LITERATURA	18
2.1. INFECÇÃO PELO HIV NA GRAVIDEZ.....	18
2.1.1. <i>Epidemiologia</i>	18
2.1.2. <i>Abordagem da gestante vivendo com o HIV</i>	19
2.1.3. <i>Infecções concomitantes na gestante vivendo com o HIV</i>	21
2.2. A PLACENTA NAS INFECÇÕES VIRAIS CONGÊNITAS	24
2.2.1. <i>A placenta na infecção pelo HIV</i>	27
2.2.2. <i>A placenta na infecção pelo ZIKV</i>	28
3. OBJETIVOS	30
3.1. OBJETIVO GERAL:	30
3.1.1. <i>Objetivos específicos:</i>	30
4. MATERIAIS E MÉTODOS	31
4.1. CONSIDERAÇÕES ÉTICAS	31
4.2. DELINEAMENTO DO ESTUDO.....	31
4.3. CRITÉRIOS DE SELEÇÃO, DE INCLUSÃO E DE EXCLUSÃO	32
4.3.1. <i>Critério de seleção:</i>	32
4.3.2. <i>Crítérios de inclusão:</i>	32
4.3.3. <i>Crítérios de exclusão:</i>	32
4.4. EXAME MORFOLÓGICO DA PLACENTA	32
4.5. DETECÇÃO DO HIV E DO ZIKV NA PLACENTA - PCR.....	36
4.6. ANÁLISES ESTATÍSTICAS	37
5. RESULTADOS.....	38
5.1. HISTÓRIA GESTACIONAL, DO PARTO E DOS RECÉM-NASCIDOS	38
5.2. ASPECTOS MACROSCÓPICOS DA PLACENTA	42
5.3. ASPECTOS MICROSCÓPICOS DA PLACENTA	42
5.4. DETECÇÃO DO HIV E DO ZIKV NA PLACENTA	48
6. DISCUSSÃO	51
7. CONCLUSÃO	56
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	57
ANEXO 1	61

1. INTRODUÇÃO

A recente epidemia por vírus Zika (ZIKV) no Brasil tem início no contexto dos grandes eventos esportivos ocorridos no país em 2014, sendo que os primeiros relatos de transmissão autóctone surgiram em 2015 (Zanluca, 2015). Inicialmente os primeiros casos foram diagnosticados no nordeste brasileiro. Atualmente a doença tem distribuição em todo território nacional e o país registrou incidência de 3474 casos de alterações perinatais relacionadas ao Zika entre 2015 e 2019 (Brasil, nov 2020).

O paciente exibe sintomas constitucionais além de máculas em pele e mucosa. Manifestações neurológicas descritas e relacionadas ao vírus como a microcefalia em neonatos de mães infectadas pelo vírus na gestação e a síndrome de Guillain-Barré, assumem grande importância em saúde pública representando desafio para o manejo das gestantes e no preparo do sistema de saúde para acompanhar essas crianças e suas famílias em suas necessidades e oferecer o suporte médico e multiprofissional necessários além do impacto no sistema educacional.

Alterações histopatológicas na placenta de gestantes infectadas pelo vírus Zika foram descritas e incluem vilosite, edema vilositário, lesão do trofoblasto e calcificações, além de identificação de antígenos virais em células de Hofbauer (Aliota, 2017; Oduyebo, 2019; Reagan-Steiner, 2017; Rabelo, 2017). Acredita-se que as alterações histopatológicas placentárias sejam modificadas em contexto de imunossupressão, o que poderia justificar intervenção a fim de prevenir efeitos deletérios nos fetos.

O Brasil vem apresentando um aumento da incidência de infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) na última década associado, porém, a um declínio na taxa de mortalidade. Houve ainda um ligeiro aumento no diagnóstico de HIV em gestantes, mas com redução da incidência de infecção congênita (Brasil, nov 2020). A placenta das gestantes que vivem com o HIV exibe alterações discretas e inespecíficas.

Considerando a existência de poucos relatos de casos na literatura médica atual sobre as alterações placentárias provocadas pelo ZIKV em gestantes em contexto de imunodeficiência, este estudo objetiva a produção de conhecimento sobre a coinfeção placentária humana pelos

vírus Zika e HIV para preenchimento desta lacuna de evidências e para o melhor entendimento da patogênese do vírus Zika.

2. REVISÃO DA LITERATURA

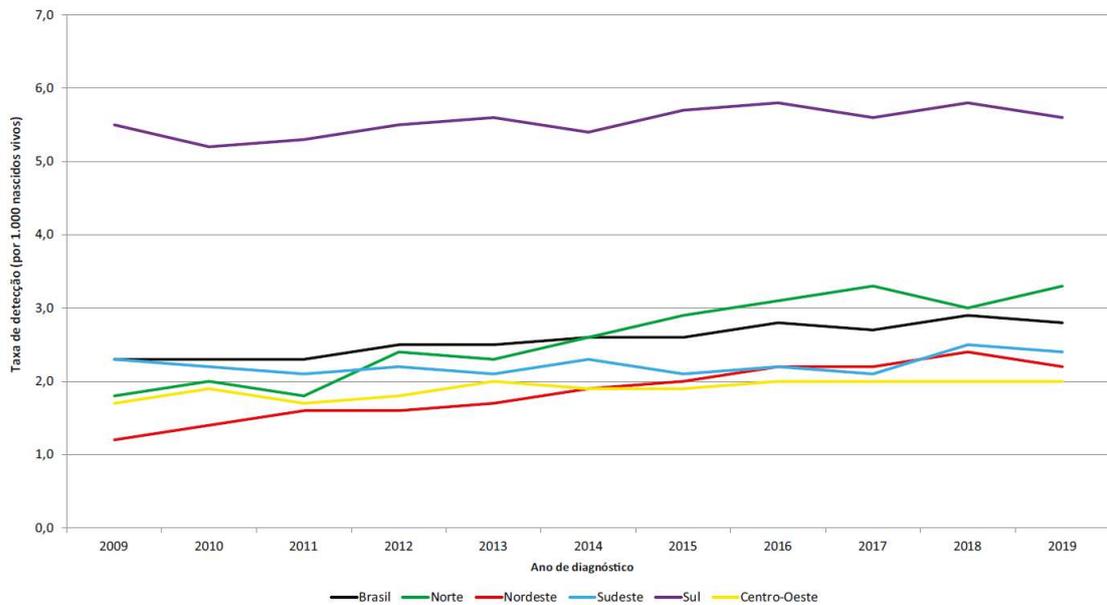
2.1. INFECÇÃO PELO HIV NA GRAVIDEZ

2.1.1. EPIDEMIOLOGIA

A infecção pelo HIV, causadora da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (do Inglês *Acquired Immune Deficiency Syndrome, AIDS*), constitui um grande problema de saúde pública, com altas taxas de morbidade e mortalidade. Estima-se que, em média, 38 milhões (31,6 milhões—44,5 milhões) de pessoas estão infectadas com o HIV, sendo 17,8 milhões de mulheres e 2,1 milhões de crianças menores de 15 anos. Em 2019, o total global de óbito de adultos e crianças a causas relacionadas à AIDS foi de 690.000 [97.000-500.000], sendo que grande parte dessas mortes ocorreram na África Subsaariana (Unaid, 2021). Desde 2007, no Brasil, foram notificados 342.459 mil casos de infecção pelo HIV sendo 30,6% do sexo feminino. O perfil de transmissão da doença, que em 1986 era de 15 homens para 1 mulher, atualmente apresenta a relação de 2,6 homens para 1 mulher, indicando uma mudança nos padrões de disseminação da infecção pelo HIV (Brasil, dez 2020).

Em relação à infecção pelo HIV na gravidez, foi estimado em 2018, um total mundial aproximado de 1,3 milhão de mulheres grávidas com os riscos potenciais de desenvolvimento da AIDS e de transmissão perinatal do vírus para o feto, que é considerado o mais importante modo de transmissão na infância e pode ocorrer durante o segundo e terceiros trimestres gestacionais, no trabalho de parto e no parto, ou na amamentação. Esse risco de transmissão vertical do HIV, na ausência de qualquer intervenção, foi de 49% e composto por 8% da transmissão durante a gravidez, 15% durante o trabalho de parto e parto e 12 a 26% durante a amamentação (Ceverny et al, 2021).

No Brasil, segundo o ministério da saúde (Brasil, nov 2020) no período de 2000 até junho de 2020, foram notificadas 134.328 gestantes infectadas com HIV, destas, no ano de 2019, foram identificadas 8.312 gestantes infectadas com HIV no Brasil, sendo 32,8% no Sudeste, 26,6% no Sul, 22,0% no Nordeste, 12,5% no Norte e 6,0% no Centro-Oeste como pode ser visto na figura 1.



Fonte: Sinan (atualizado em 30/06/2020).

FIGURA 1 - Taxa de detecção de HIV em gestantes (por 1.000 nascidos vivos), segundo região de residência e ano do parto. Brasil, 2009 a 2020.

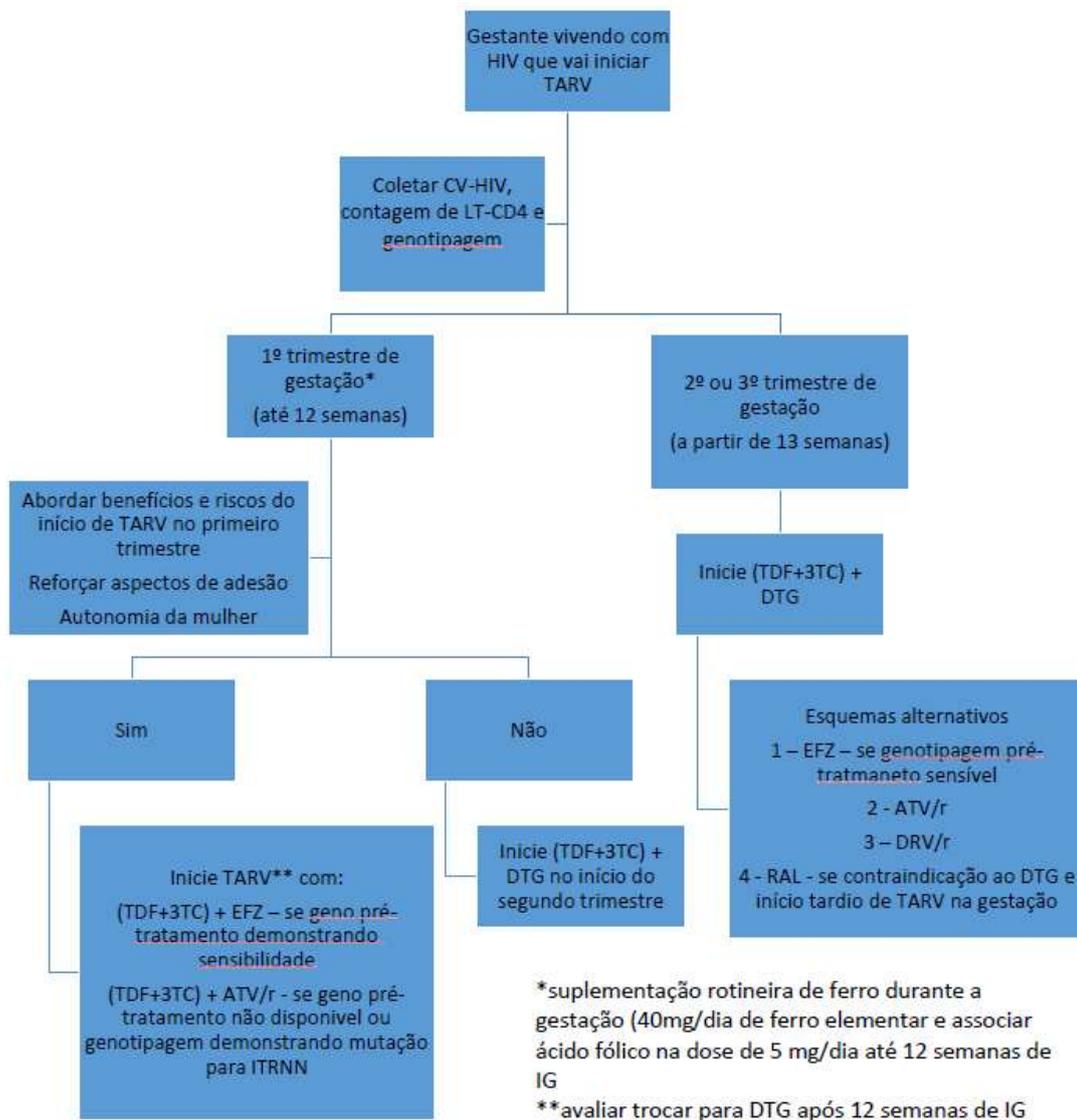
Neste período de dez anos, houve um aumento de 21,7% na taxa de detecção de HIV em gestantes: em 2009, registraram-se 2,3 casos/mil nascidos vivos e, em 2019, essa taxa passou para 2,8/mil nascidos vivos. A faixa etária entre 20 e 24 anos foi a que apresentou o maior número de casos de gestantes infectadas pelo HIV (27,6%) e o maior percentual das gestantes infectadas com HIV estudou da 5ª à 8ª série incompleta, representando 28,3% do acumulado de casos notificados no período. Quanto à raça/cor autodeclarada, há um predomínio de casos entre gestantes pardas, seguidas de brancas; em 2019, esses grupos representaram 49,5% e 32,2% dos casos, respectivamente. As gestantes pretas corresponderam a 13,7% nesse mesmo ano (Brasil, dez 2020).

2.1.2. ABORDAGEM DA GESTANTE VIVENDO COM O HIV

Considerando que a transmissão vertical pelo HIV ocorre pela via placentária e no parto, pelo contato com as secreções cervicovaginais e sangue materno, além do aleitamento materno, a utilização de terapia ou tratamento antirretroviral (TARV) durante a gestação reduziu significativamente a infecção intrauterina e intraparto. Esse risco de transmissão vertical do HIV é determinado pela carga viral (CV) materna do HIV, pelo uso de TARV durante a gestação e pela relação entre o tempo de uso de TARV efetiva e o parto. A supressão da CV-HIV é um fator determinante na prevenção da transmissão vertical (PTV). O uso de TARV durante a

gravidez reduz a taxa de transmissão vertical do HIV de aproximadamente 30% para menos de 1%, quando se alcança a supressão da CV-HIV materna (CV-HIV plasmática <50 cópias/mL) próxima ao parto (Brasil, jul 2019).

De acordo com esse Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para prevenção da transmissão vertical do HIV (Brasil, jul 2019), a principal recomendação de TARV durante a gestação para a gestante vivendo com o HIV (GVHIV) e sem histórico de exposição prévia à TARV é o esquema preferencial Tenofovir/Lamivudina/Efavirenz (TDF/3TC/EFZ) para início no 1º trimestre da gestação se a genotipagem pré-tratamento comprovar ausência de mutações para inibidores da transcriptase reversa não-análogos de nucleosídeos (ITRNN). No caso de genotipagem pré-tratamento não disponível ou quando comprovar resistência transmitida a ITRNN, a recomendação é iniciar com o esquema Tenofovir/Lamivudina/Atazanavir-ritonavir (TDF/3TC + ATV/r). Na impossibilidade de composição da TARV com ITRNN e com o inibidor de protease/ritonavir (IP/r) preferencial ATV/r, pode ser utilizado darunavir (DRV) potencializado por ritonavir (DRV/r), obrigatoriamente na dose recomendada de duas vezes ao dia (DRV 600mg/ ritonavir 100mg de 12/12 h). O esquema inicial preferencial para GVHIV a partir do 2º trimestre é o Tenofovir/Lamivudina/Dolutegravir (TDF/3TC + DTG). A figura 2 ilustra a abordagem recomendada da gestante vivendo com o HIV no Brasil.



Fonte: DCCI/SVS/MS

FIGURA 2 - Abordagem da gestante vivendo com o HIV no Brasil.

2.1.3. INFECÇÕES CONCOMITANTES NA GESTANTE VIVENDO COM O HIV

A ocorrência de infecções concomitantes ou infecções oportunistas (IO) nas GVHIV não difere das mulheres soropositivas não grávidas e se relaciona fundamentalmente à contagem de linfócitos T CD4+ (LT-CD4+) e CV. Ou seja, até o momento, ainda se compreende que o espectro das IO não é diferente entre as gestantes e mulheres não grávidas quando comparadas em relação à mesma contagem de LT-CD4+. No entanto, fatores fisiológicos durante a gestação, como aumento do débito cardíaco e do volume plasmático, alteração do volume

respiratório corrente e transferência transplacentária de substâncias, podem dificultar o reconhecimento das IO e alterar a farmacocinética das substâncias envolvidas no tratamento.

Os procedimentos necessários ao diagnóstico de IO suspeitas em gestantes devem ser realizados da mesma forma como indicados para mulheres não grávidas, respeitando as especificidades gerais inerentes ao método diagnóstico, de acordo com a idade gestacional, do modo como é feito para mulheres sem HIV. A profilaxia de IO proporciona uma importante redução da morbimortalidade em pessoas com disfunção imune secundária à infecção pelo HIV. Essa prevenção tem dois aspectos principais: a profilaxia primária e a secundária (Brasil, 2010).

De acordo com essas Recomendações, entre as principais coinfeções na gestante vivendo com HIV/AIDS, estão a tuberculose (TB) e as hepatites virais causadas pelos agentes *Hepatitis B virus* (HBV) e *Hepatitis C virus* (HCV). A TB é a principal causa de óbito por doença infecciosa em mulheres no mundo e a mais importante causa de morbimortalidade em mulheres vivendo com HIV em regiões com recursos limitados. A maior taxa de coinfeção TB-HIV em mulheres ocorre na idade reprodutiva, entre 15 e 49 anos. As gestantes vivendo com HIV e que desenvolvem TB apresentam risco 2,5 vezes maior de transmissão do HIV para o recém-nascido (RN) que as gestantes infectadas pelo HIV e sem TB. Gestantes vivendo com HIV com diagnóstico de TB ativas devem iniciar TARV assim que possível, independentemente da apresentação clínica do agravo. O retardo do tratamento para o HIV está associado a maior letalidade e maior risco de TV do HIV (Brasil, jul 2019).

A coinfeção HIV-HBV é associada à progressão acelerada para hepatite crônica e maior mortalidade. Por esta razão, está recomendado o tratamento de todas as pessoas coinfectadas HIV-HBV, independentemente dos resultados do antígeno e do HBV (HBeAg), da CV-HBV e da alanintransferase (ALT). Gestantes com coinfeção HBV-HIV devem receber combinação de TARV, incluindo esquema que contenha TDF. O tratamento baseado em TDF para as gestantes coinfectadas com HIV é parte do conjunto de medidas necessárias para promover a PTV do HBV (Brasil, jul 2019).

No caso das mulheres vivendo com HIV coinfectadas com hepatite C, o tratamento da hepatite C é priorizado. Entretanto o tratamento da hepatite C durante a gestação está contraindicado, em vista dos efeitos teratogênicos da ribavirina e da alfapeguinterferona e da ausência de

estudos que garantam a segurança no uso dos novos medicamentos. As gestantes coinfectadas HIV-HCV em uso de TARV devem ser aconselhadas sobre sinais e sintomas de toxicidade hepática e devem monitorar as transaminases hepáticas de forma contínua, com intervalos a serem definidos de acordo com o medicamento em uso e o aparecimento de sinais e sintomas (Brasil, jul 2019).

Além das coinfeções TB, HBV e HCV, infecções virais emergentes e reemergentes representam grande desafio na abordagem da GVHIV porque pacientes infectadas com HIV e AIDS podem apresentar evolução clínica mais grave durante coinfeções com arbovírus, como o ZIKV (Barreiro, 2016; Villamil-Goméz et al, 2018). Considerando a distribuição e expansão geográficas atuais dos arbovírus, principalmente no Brasil, que indica na ampla sobreposição de áreas endêmicas do ZIKV, *Dengue virus* (DENV) e *Chikungunya virus* (CHIKV) e o HIV, há possibilidade de diagnósticos incorretos, alterações imunológicas graves e tratamento inadequado. Neste contexto, mudanças climáticas, evolução dos vírus e fatores sociais favorecem ainda mais o aumento do risco de infecções por arbovírus. A figura 3, ilustra a distribuição geográfica e áreas de sobreposições do HIV e arbovírus (Rothan et al, 2018).

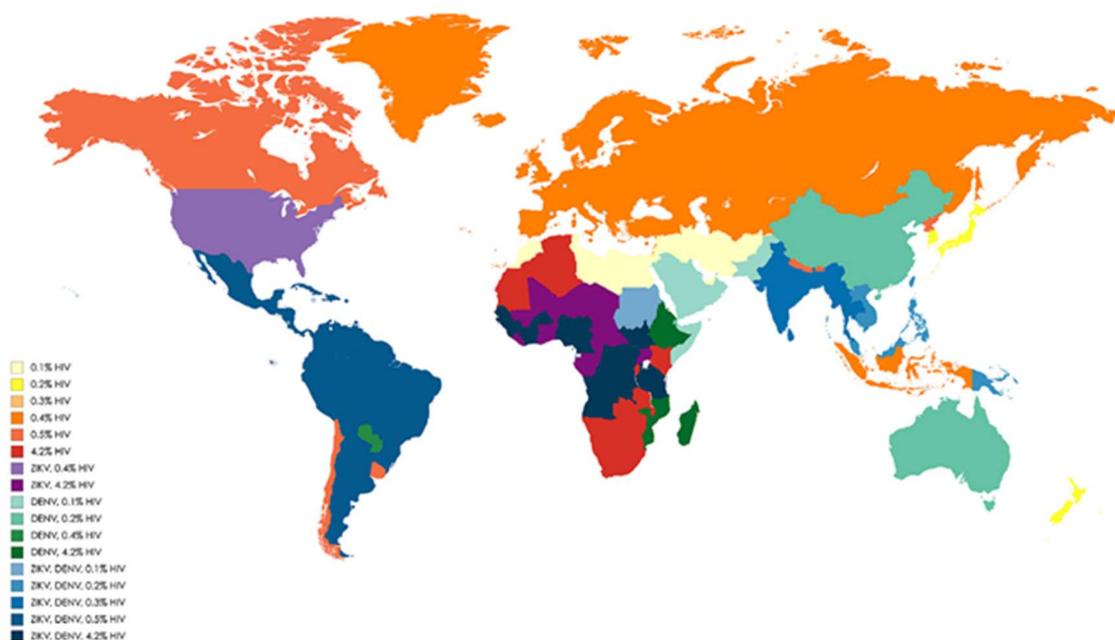


FIGURA 3 - Distribuição geográfica e áreas de sobreposições do HIV e dos arbovírus ZIKV e DENV no mundo (Adaptado de Rothan, 2018).

Infecções por ZIKV, DENV e CHIKV apresentam sinais e sintomas clínicos muito similares, o que dificulta a avaliação clínica. Pacientes com ZIKV, CHIKV ou DENV podem desenvolver

leucopenia, trombocitopenia, além de comprometimento hepático, que impactam no controle imunológico e tratamento do HIV. Outros sinais e sintomas como febre, artralgias, mialgias e conjuntivite também podem ser observadas em infecções por ZIKV, DENV ou CHIKV (Rothan et al, 2018). Entre essas infecções concomitantes com viroses emergentes e reemergentes, a coinfeção do ZIKV e HIV é a mais preocupante por causa da síndrome congênita associada à infecção pelo ZIKV (SCZ), uma grave complicação confirmada em 3.563 (18,3%) de 19.492 casos suspeitos no Brasil entre 2015 e 2020 (Brasil, nov 2020).

2.2. A PLACENTA NAS INFECÇÕES VIRAIS CONGÊNITAS

A placenta humana a termo tem, em geral, forma discoide, peso entre 430 e 650 g e apresenta duas superfícies ou faces fetal e materna. A face fetal é vermelho-escura, lisa e revestida por duas membranas – âmnio e córion, que se refletem nas bordas da placenta para constituir as membranas ovulares. O âmnio é fino, liso e transparente, permitindo a visualização dos vasos coriônicos. A face materna tem coloração vermelho-vinhosa e é subdividida em lóbulos ou cotilédones, que apresentam superfície esponjosa e macia. O cordão umbilical, que tem inserção excêntrica ou central na face fetal, apresenta comprimento médio de 50 a 60 cm (figura 4) (Brasileiro Filho, 2016).

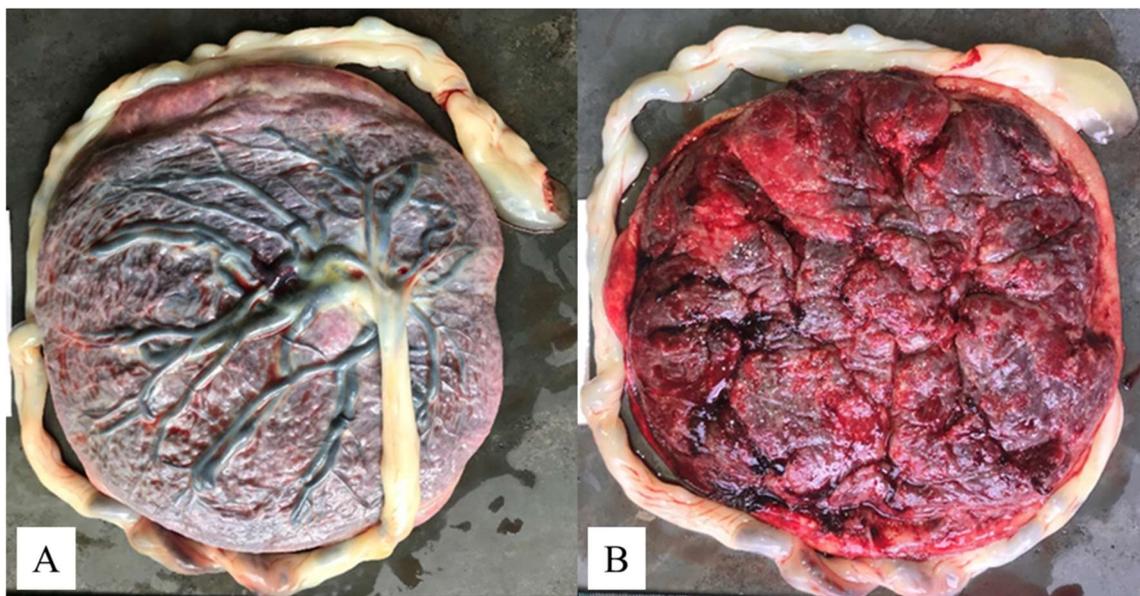


FIGURA 4 – Placenta humana. A - Face fetal; B - Face materna.

Estrutural e histologicamente, a placenta é um órgão constituído pelo endométrio e por estruturas derivadas do embrião, principalmente o trofoblasto, cujas projeções se transformam

nas vilosidades placentárias ou coriônicas e são constituídas pelo citotrofoblasto (CTB), sinciotrofoblasto (STB) e trofoblasto extraviloso (EVT). O STB e o EVT originam-se a partir do CTB. Durante a implantação do blastocisto, os CTB fundem-se para formar uma camada externa de células multinucleadas que se multiplicam através da incorporação de novos CTB, denominados STB. O STB exerce um papel crucial no processo de troca gasosa, nutrientes e produtos de excreção entre o feto e a mãe, e possui atividade endócrina, liberando hormônios envolvidos na gravidez, como a gonadotrofina coriônica humana (HCG) (Brasileiro Filho, 2016; Zaga-Clavellina et al, 2021).

As vilosidades coriônicas, que representam a principal unidade funcional da placenta e constituem a interface materno-fetal, encontram-se livres ou ancoradas no endométrio e apresentam matriz mesenquimal composta por fibroblastos, fibras de colágeno dos tipos I, III, IV e V, e capilares fetais que convergem para a veia umbilical, além dos macrófagos fetais especiais com funções angiogênicas, denominados células de Hofbauer (HC). A íntima relação das vilosidades coriônicas com o endométrio modificado, denominado decídua, permite a comunicação com células maternas do sistema imune, como células dendríticas, macrófagos, linfócitos T reguladores e células *Natural Killer* (NK), essenciais na resposta imune contra agentes microbiológicos, particularmente vírus (figura 5) (Zaga-Clavellina et al, 2021).

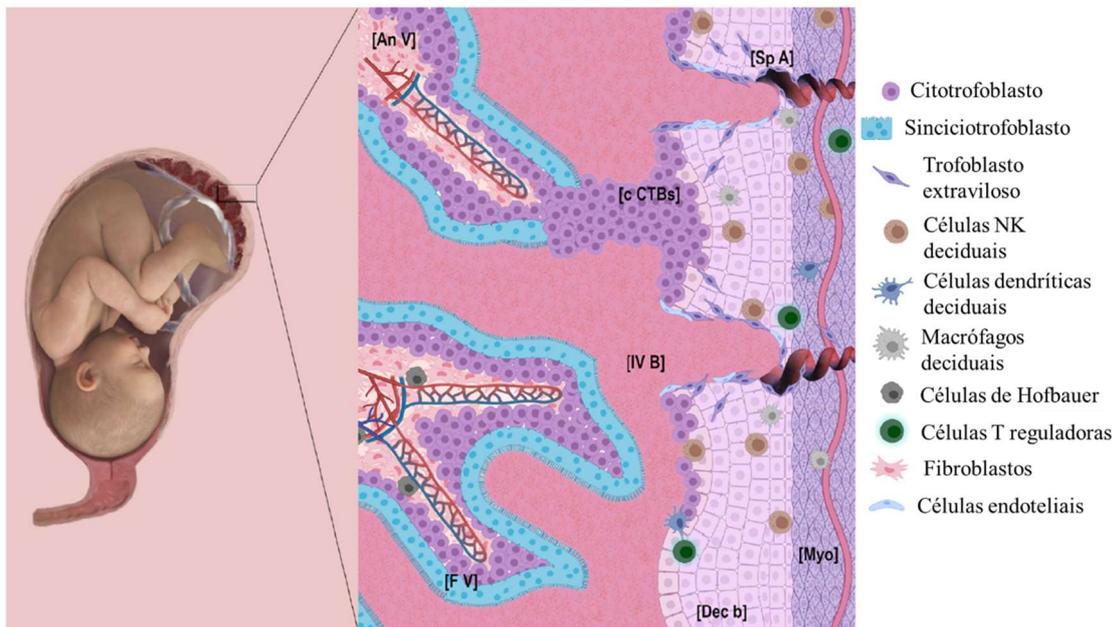


FIGURA 5 - Interface materno-fetal. Vilosidades de ancoragem fixam-se à decídua por meio de citotrofoblastos altamente proliferativos que podem se diferenciar em trofoblastos extravilosos endovasculares e intersticiais. Vilosidades coriônicas livres são envolvidas por sangue materno no espaço intervilloso. Os capilares fetais estão localizados dentro das vilosidades e são cobertos por citotrofoblastos e sinciotrofoblastos vilosos. [An V]: vilosidades de ancoragem. [c CTBs]: citotrofoblastos. [Dec b]: decídua basal. [F V]: vilosidades livres. [IV B]: sangue intervilloso. [MYO]: miométrio. [Sp A]: artéria espiralada. (Adaptado de Zaga-Clavellina et al, 2021).

Na patologia placentária, um capítulo importante se refere às infecções intrauterinas que podem atingir o conceito por vias diversas: hematogênica; ascendente; transuterina e transtubária. Mais comumente, as infecções se dão por via ascendente ou por via hematogênica, através do sangue materno. As infecções ascendentes quase sempre estão associadas a ruptura precoce das membranas, parto prematuro e abortamento espontâneo no segundo trimestre gestacional. As infecções hematogênicas têm como característica morfológica principal a vilosidade e podem ser causadas por vírus, bactérias, protozoários, fungos e helmintos (Brasileiro Filho, 2016).

Entre os vírus mais frequentemente responsáveis por infecções congênitas, como destacado no tópico 2.1.3 (Infecções concomitantes na gestante vivendo com o HIV) estão o HIV, o citomegalovírus (CMV), os herpesvírus simples dos tipos 1 e 2 (HSV 1 e 2), o herpesvírus humano do tipo 6 (HHV-6), o vírus varicela zoster (VZV), o vírus da rubéola, vírus das hepatites B e C (HBV e HCV), o parvovírus B19 (B19V) e, mais recentemente, o vírus Zika (ZIKV) e o coronavírus da síndrome respiratória aguda grave 2 (SARS-CoV-2) (Zaga-Clavellina et al, 2021).

A infecção viral aguda durante a gravidez pode predispor ao aborto espontâneo ou nascimento prematuro, aumento do risco de corioamnionite, síndrome da resposta inflamatória fetal ou óbito. Podem também resultar em retardo do crescimento intrauterino, lesões graves do sistema nervoso central e, em certas infecções, como pelo ZIKV, em malformações de diversos órgãos. A infecção crônica da gestante pelo HIV também está associada com prematuridade e mortalidade neonatal. Particularmente importante nestes vírus, apesar dos diferentes mecanismos patogénéticos associados às infecções pelo HIV e ZIKV, são as alterações morfológicas recentemente descritas e semelhantes em tecidos placentários, como imaturidade vilosa e hiperplasia de células de Hofbauer (Ronchi et al, 2021).

2.2.1. A PLACENTA NA INFECÇÃO PELO HIV

O HIV é um retrovírus com 110 nm de diâmetro, que possui material genético constituído de fita simples de RNA com 9,8 Kb, envolto pelo nucleocapsídeo. O nucleocapsídeo apresenta uma estrutura cônica, sendo a proteína p24 sua principal constituinte, além das proteínas p6 e p9 que estão ligadas ao material genético. A superfície viral é constituída por um envoltório glicoproteico originado da membrana das células hospedeiras que recobre o capsídeo viral. Na parte externa do envelope viral são encontradas espículas glicoproteicas, responsáveis pela ligação do vírus aos receptores celulares. Essas glicoproteínas são derivadas da gp160, que é clivada no Complexo de Golgi da célula hospedeira, originando a gp 41 (transmembrana) e gp 120 (glicoproteína de superfície) que compõem os 72 trímeros ou tetrâmeros que recobrem o envelope. Há nove genes, sendo três estruturais: env, pol e gag; dois regulatórios tat e rev; e quatro genes acessórios (nef, vif, vpr e vpu/vpx). Nas extremidades 5' e 3' encontram-se longas repetições terminais ou LTRs (*long terminal repeats*) (Brasileiro Filho, 2016).

Na infecção materna com o HIV, ocorre a passagem de células infectadas e vírions através da placenta, livres ou associados a anticorpos neutralizantes, que interagem com as células de Hofbauer. Esses macrófagos expressam os receptores e co-receptores para a fusão do HIV, além de possuir os receptores Fc para internalização de anticorpos, tornando-os células alvo na infecção pelo HIV. Entretanto, tem sido demonstrado, *in vitro*, que nessas células há baixa capacidade de replicação viral quando comparada à macrófagos derivados de monócitos do sangue periférico (Zaga-Clavellina et al, 2021).

O risco de transmissão intraútero do HIV-1, na ausência de intervenções varia de 7% (Johnson and Chakraborty) a 30% (Brasil, jul 2019). Esta baixa taxa de transmissão aponta para mecanismos inatos e adaptativos para restringir a infecção dentro da placenta. As HC são mediadores chave na transmissão intraútero do HIV-1. Elas expressam concentrações elevadas de citocinas regulatórias que inibem a replicação do HIV-1 *in vitro* e possuem propriedades antivirais intrínseca. As HC sequestram o HIV-1 em compartimentos intracelulares que podem ser acessados por anticorpos específicos do HIV-1 (Johnson and Chakraborty, 2016).

Em relação às alterações morfológicas da placenta, estudos iniciais de placentas do terceiro trimestre de gestantes infectadas pelo HIV que não receberam tratamento antirretroviral não identificaram nenhuma anormalidade morfológica específica. Histologicamente, a infecção materna por HIV está associada a maior incidência de corioamnionite, hiperplasia vilosa, funisite, imaturidade vilosa, vasculopatia e deciduíte no terceiro trimestre. No primeiro e no segundo trimestres gestacionais, não foram observadas diferenças nos achados histopatológicos das placentas de gestantes soropositivas e soronegativas para o HIV (Zaga-Clavellina et al, 2021).

Kalk et al (2017) observou poucas diferenças entre placentas de gestantes a termo de gestantes infectadas por HIV e não infectadas, sendo a má perfusão de vasos maternos a alteração mais significativa.

2.2.2. A PLACENTA NA INFECÇÃO PELO ZIKV

O ZIKV é um membro do gênero *Flavivirus* relacionado ao vírus da dengue (DENV), vírus da febre amarela (YFV), vírus da encefalite japonesa (JEV), vírus Chikungunya (CHIKV) e vírus do Nilo Ocidental (WNV). É um vírus envelopado e icosaédrico que contém um RNA de fita simples de sentido positivo; é transmitido por mosquitos do gênero *Aedes*, como *A. aegypti* e *A. albopictus*, contatos sexuais, transfusões de sangue e transmissão vertical (Zaga-Clavellina et al, 2021).

A exposição materna ao ZIKV induz uma lesão placentária difusa, com hiperplasia trofoblástica, regiões focais de necrose e perda de vasos sanguíneos embrionários. Há aumento de células de Hofbauer, que promovem a produção de metaloproteinases e ativam o tráfego de

células do sistema imunológico, como linfócitos T CD8+, aumentando a expressão de citocinas (IFN- γ e TNF- α) e outros mediadores inflamatórios (RANTES / CCL5 e VEGFR-2). Adicionalmente, o ZIKV provoca hiperexpressão da proteína Bcl-, levando a uma maior taxa de apoptose celular e persistência de partículas virais na placenta (Zaga-Clavellina et al, 2021).

Os mecanismos que permitem o ZIKV cruzar a placenta e causar dano fetal ainda não estão bem elucidados. Antígenos do ZIKV já foram detectados em cérebro de bebês e em fetos com microcefalia. O ZIKV infecta células neuroprogenitoras em cultura o que é consistente com dano ao cérebro em desenvolvimento, embora dependa da idade gestacional da infecção. Modelos usando células-tronco humanas derivadas de progenitores neurais confirmam a natureza destrutiva do ZIKV em células neurais. Esse neurotropismo é observado em outros flavivírus como vírus do WNV e JEV, porém não são observados no DENV (Coyne and Lazaar, 2016).

Na placenta, após romper a interface materno-fetal, o ZIKV pode atingir o cérebro em desenvolvimento por via hematogênica ou através do líquido cefalorraquidiano, onde células gliais suscetíveis, como astrócitos e micróglia, podem apresentar anormalidades em seu desenvolvimento (Zaga-Clavellina et al, 2021).

O presente estudo tem como objetivo analisar e descrever os aspectos clínicos, laboratoriais e anatomopatológicos da placenta de gestante infectada pelo HIV exposta ao ZIKV para comparar esses aspectos com placentas de gestantes infectadas pelo ZIKV e com as placentas de gestantes saudáveis (não infectadas).

3. OBJETIVOS

3.1. OBJETIVO GERAL:

Caracterizar aspectos anatomopatológicos da placenta, clínicos e laboratoriais das gestantes infectadas pelo HIV e expostas ao ZIKV.

3.1.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- 1 – Descrever as características epidemiológicas, gestacionais e dos RN das gestantes infectadas pelo HIV;
- 2 – Descrever e comparar as características morfológicas das placentas das gestantes infectadas pelo HIV com placentas infectadas pelo ZIKV e placentas normais;
- 3 – Correlacionar os achados anatomopatológicos das placentas com aspectos clínicos e laboratoriais das gestantes infectadas pelo HIV;
- 4 – Detectar o HIV e o ZIKV nas placentas das gestantes infectadas pelo HIV.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

Todas as recomendações e normas de pesquisas envolvendo seres humanos, contidas na Resolução 466 / 2012 do Conselho Nacional de Saúde para salvaguardar os direitos e o bem-estar das pessoas estudadas, foram adotadas nesse estudo. Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG (COEP) sob o parecer nº CAAE 669962177.2001.5149 (ANEXO).

4.2. DELINEAMENTO DO ESTUDO

Trata-se de estudo observacional, transversal e comparativo dos aspectos morfológicos das placentas de trinta e sete gestantes infectadas pelo HIV e expostas ao ZIKV (n = 37) e da correlação destes aspectos com os dados clínicos e laboratoriais da gestação e do parto. Esses dados (contagem de linfócitos T CD4+ e carga viral do HIV) foram obtidos do prontuário. Foi também realizado estudo comparativo dos aspectos morfológicos e moleculares (detecção dos vírus HIV e ZIKV) em nove amostras de placentas de gestantes infectadas pelo ZIKV (n = 9).

Todas as gestantes infectadas pelo HIV foram acompanhadas no âmbito do projeto original intitulado “Estudo de coorte prospectivo de HIV e ZIKA em bebês e gestantes (HIV ZIP)”, coordenado pelo Prof. Dr. Jorge Andrade Pinto, do Departamento de Pediatria da Faculdade de Medicina da UFMG, no âmbito do Hospital das Clínicas da EBSEH/UFMG. Amostras de lâminas de parênquima placentário, que foram confeccionadas na Universidade Federal do Maranhão (UFMA), foram gentilmente doadas ao Laboratório de Patologia Molecular pela Profa. Dra. Maria do Desterro Soares Brandao Nascimento.

Complementarmente, foram utilizadas, como grupo controle da macro e microscopia, nove amostras de placentas que foram enviadas ao Serviço de Anatomia Patológica do Hospital das Clínicas da EBSEH/UFMG com informação clínica de prontuário comprovando ausência de doença infecciosa durante a gestação (n = 9).

4.3. CRITÉRIOS DE SELEÇÃO, DE INCLUSÃO E DE EXCLUSÃO

4.3.1. CRITÉRIO DE SELEÇÃO:

Gestantes infectadas pelo HIV com relato de exposição e/ou suspeita clínica de infecção pelo ZIKV acompanhadas no Hospital das Clínicas da EBSEH/UFMG.

4.3.2. CRITÉRIOS DE INCLUSÃO:

Gestante com sinais de infecção exantemática, *rash* cutâneo ou febre sem causa aparente, caracterizando caso suspeito de infecção pelo ZIKV durante acompanhamento clínico pré-natal;

Testes de RT-PCR e/ou IgM e IgG ELISA para vírus Zika, realizados de acordo com o Manual técnico de atenção à saúde e resposta aos casos de infecção pelo vírus Zika em gestantes, fetos e recém-nascidos da Secretaria Estadual de Saúde de Minas Gerais (Minas Gerais, 2016) com resultados negativos.

4.3.3. CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO:

Gestantes menores de 18 anos de idade;

Evidência clínica, laboratorial e/ou anatomopatológica de infecção placentária pelos arbovírus DENV (*Dengue virus*) e CHIKV (*Chikungunya virus*).

4.4. EXAME MORFOLÓGICO DA PLACENTA

As placentas foram coletadas após o parto pela equipe clínica do Hospital das Clínicas da EBSEH/UFMG, mantidas refrigeradas e posteriormente encaminhadas, a fresco, para o Laboratório de Patologia Molecular do Departamento de Anatomia Patológica da Faculdade de Medicina da UFMG, em período máximo de 48 horas. No laboratório, a placenta a fresco foi fotografada pelas faces materna e fetal (Vide Figura 4, na página 21) e examinada macroscopicamente. Os seguintes dados macroscópicos foram coletados: medidas

(comprimento, largura e espessura do disco placentário); peso; coloração das membranas ovulares; local de inserção do cordão umbilical; tamanho do cordão umbilical e número de vasos do cordão umbilical.

Posteriormente, a placenta foi dividida em quatro quadrantes e cada quadrante, subdividido em três segmentos, compreendendo a placa coriônica, placa vilosa e placa decidual. Foram retirados fragmentos de cada segmento, do cordão umbilical e das membranas ovulares para processamento histológico. O material foi fixado em formol (formalina 10%) pelo período de 24 horas e posteriormente processado no autotécnico LEICA® em processos sequenciais de desidratação, diafanização e parafinização. As amostras foram incluídas em blocos de parafina, cortadas em micrótomo com espessura de 5 micrômetros, dispostas em lâminas e desparafinizadas, coradas pela hematoxilina-eosina (HE) e montadas com lamínula em meio próprio (Entellan®) para análise em microscópio óptico (Olympus®) de acordo com as microscópicas e critérios propostos por R. W. Redline (Redline, 2008; Redline2015) reportados na Tabela 1.

Variável	Localização
Hipoplasia vilosa distal	Placa coriônica e vilosa
Maturação vilosa acelerada	Placa coriônica e vilosa
Corangiiose	Placa coriônica e vilosa
Deposição de fibrina	Placa coriônica e vilosa
Calcificação	Placa coriônica e vilosa
Necrose	Placa coriônica e vilosa
Hemossiderina	Placa coriônica e vilosa
Congestão	Placa coriônica e vilosa
Vilo avascular	Placa coriônica e vilosa
Cariorrexe	Placa coriônica e vilosa
Espessamento vaso viloso	Placa coriônica e vilosa
Vilosite crônica	Placa coriônica e vilosa
Intervilosite aguda	Placa coriônica e vilosa
Intervilosite crônica	Placa coriônica e vilosa
Aterose	Placa decidual
Necrose fibrinoide	Placa decidual
Hipertrofia mural	Placa decidual
Perivasculite	Placa decidual
<i>Bebbing</i>	Membranas ovulares
Fusão celular	Membranas ovulares
Perda das junções celulares	Membranas ovulares
Corioamnionite aguda (Estágios da resposta materna)	Membranas ovulares
Corioamnionite aguda (Graus da resposta materna)	Membranas ovulares
Corioamnionite subaguda	Membranas ovulares
Corioamnionite crônica (Estágios)	Membranas ovulares
Corioamnionite crônica (Graus)	Membranas ovulares
Corioamnionite aguda (Estágios da resposta fetal)	Cordão umbilical
Corioamnionite aguda (Graus da resposta fetal)	Cordão umbilical

TABELA 1 – Classificação das lesões placentárias (Redline, 2008 e Redline, 2005).

A Figura 6 ilustra algumas das principais lesões placentárias que foram descritas na Tabela 1.

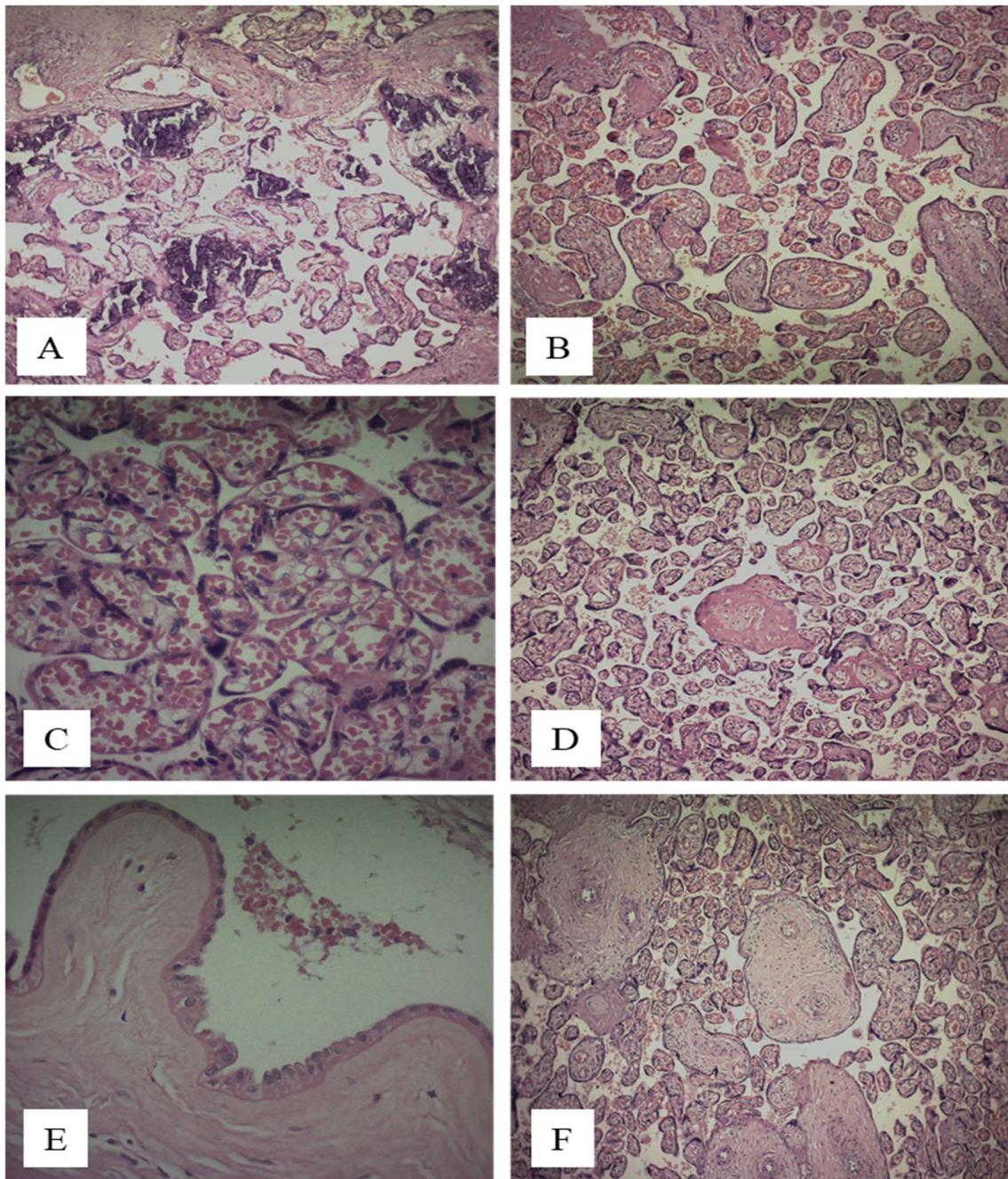


FIGURA 6 - Lesões placentárias: A, Microcalcificação: focos de depósitos de cálcio no estroma viloso (HE, x10). B, Congestão: vilos terminais ectásicos contendo abundante quantidade de hemácias (HE, x10). C, Corangiiose: vilosidades coriais com proliferação vascular com 10 capilares em 10 campos de grande aumento (HE, x10). D, Depósitos de fibrina: vilosidade coriônica com trofoblasto desnudado em meio a depósitos de fibrina (HE x10). E, Bebbing: vacuolização do citoplasma das células do âmnio (HE, x40). F, Espessamento de vasos vilosos: espessamento da parede muscular das arteríolas e vasos das vilosidades coriônicas.

Exceto pelos estágios e graus da corioamnionite, que seguiram a categorização original dos trabalhos de R. W. Redline (Redline, 2008; Redline, 2015), todas as demais variáveis foram

classificadas de acordo com as seguintes categorias: 0 (zero) = ausente; 1 (um) = focal; 2 difuso(a) ou 0 (zero) = ausente; 1 (um) = presente.

No caso das placentas das gestantes infectadas pelo HIV, todos os critérios foram analisados em uma amostra de cada quadrante da placenta. Para a definição dos valores de cada variável, foram selecionadas as categorias maiores e mais comuns como representantes de cada participante. No caso das placentas das gestantes infectadas pelo ZIKV e das placentas não infectadas, foi analisada somente uma amostra aleatória de cada placenta.

4.5. DETECÇÃO DO HIV E DO ZIKV NA PLACENTA - PCR

O RNA total foi extraído das amostras de placenta com o kit RNeasy FFPE (QIAGEN), seguindo todas as informações do fabricante. O RNA total foi quantificado por leitura espectrofotométrica na faixa de 260nm (luz ultravioleta). Leituras a 280 e 320nm foram também realizadas. A relação de densidade ótica 260/280 nm com valores entre 1,8 e 2,0 indica que o material obtido pode ser considerado puro, ausente de proteínas. Para estabelecer a concentração de RNA, foi tomada a leitura observada a 260nm e feita uma relação na qual uma unidade a 260nm corresponde a 40 pg/ml de RNA em solução. Após a quantificação do RNA, foi feita eletroforese em gel desnaturante de agarose-formaldeído 1,2% para visualização da integridade do RNA total.

As reações de transcrição reversa foram realizadas utilizando a quantidade de 100ng de RNA total por tubo, como se segue: 4µL de tampão 5x da transcriptase reversa; 0,5µg de random primer na concentração (Invitrogen); 3mM de MgCl₂ (Invitrogen); 0,5Mm de dNTPs (Invitrogen); 20U/µL de RNasin; 40U/µL das enzimas IMPROM II (Promega) ou SuperScript III Reverse Transcriptase (Invitrogen) e água DEPC (Dimetilpirocarbonato), com volume final de 20µL. A reação ocorreu em duas etapas: 1ª etapa: tubos contendo random primer, dNTPs, água e RNA, foram colocados no termociclador a 70°C por 5 minutos e, posteriormente foram resfriados em banho de gelo por mais 5 minutos. 2ª etapa: foi adicionada enzima IMPROM II ou SuperScript III Reverse Transcriptase, RNasin e água aos tubos da 1ª etapa. Em seguida, os tubos foram incubados no termociclador por 5 minutos a 25°C, 60 minutos a 42°C e 15 minutos a 70°C.

A detecção dos vírus HIV, ZIKV, DENV e CHIKV e do gene constitutivo β -actina como controle endógeno, após transcrição reversa e síntese de cDNA, foi realizada utilizando-se os iniciadores e todas as condições das reações de PCR de acordo com os autores Mulder (Mulder J, 1994) e Caragata (Caragata et al, 2019), utilizando os kits GoTaqR 1-Step RT-PCR System (A6020) e GoTaq Probe 1-Step RT-PCR System (A6121), ambos da fabricante PROMEGA, respectivamente.

4.6. ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os resultados foram armazenados em planilhas do software EXCEL. Testes Z, Qui-quadrado, correlação linear de Spearman (dados não paramétricos) ou de Pearson (dados paramétricos) foram utilizados para descrição e comparação das variáveis entre os grupos do estudo (HIV, ZIKV e Controle). As diferenças foram consideradas estatisticamente significativas quando $p < 0.05$. As análises foram realizadas no software MINITAB 17.

5. RESULTADOS

O nosso estudo analisou as características clínicas, laboratoriais e morfológicas das placentas de trinta e sete gestantes infectadas pelo HIV (n = 37) e observou idade média de 27 anos (variando de 15 a 41 anos) e predomínio de escolaridade com ensino médio completo em 41,67% (n=15) das participantes. Somente uma gestante (2,78%) declarou ensino superior completo. A maioria das participantes (51,61%) era natural e procedente de Belo Horizonte e todas as demais da Região Metropolitana de Belo Horizonte, com destaque para a cidade de Contagem.

5.1. HISTÓRIA GESTACIONAL, DO PARTO E DOS RECÉM-NASCIDOS

As participantes foram admitidas no acompanhamento pré-natal com idade gestacional média de 90 dias e somente 6 gestantes (16,22%) não apresentaram intercorrências gestacionais. Isoladamente, a intercorrência mais frequente foi a infecção do trato urinário (ITU), que foi diagnosticada em 16,92%% das gestantes.

Todas as gestantes do grupo utilizaram tratamento antiretroviral. Entre os esquemas terapêuticos utilizados pelas participantes no início do acompanhamento clínico, a combinação dos medicamentos antirretrovirais 3TC + TDF + EFV foi a mais comum (37,43%). A via cesárea para o parto ocorreu em 19 participantes (51,35%), sendo ligeiramente superior à via vaginal (48,65%). A grande maioria das gestantes não apresentou complicações nem no periparto (72,97%), nem no pós-parto (94,59%). As gestantes foram admitidas no pré-natal entre a 6^a e a 17^a semana de gestação.

As quantificações da carga viral e de linfócitos T CD4⁺ foram realizadas na admissão e no parto. Em relação à carga viral na admissão, 25 participantes apresentaram níveis detectáveis, com média de 4.643 cópias/mL, variando entre 40 cópias/mL a 22.762 cópias/mL. Em relação à quantificação de linfócitos T CD4⁺ na admissão, a contagem média foi de 603,5 células/mm³, variando entre 27 células/mm³ a 1534 células/mm³. No parto, a carga viral foi detectável em 17 participantes (45%), com média de 836 cópias/mL, variando de 40 cópias/mL a 6404 cópias/mL, e a contagem média dos linfócitos T CD4⁺ foi de 719,9 células/mm³. Quando comparadas, as quantificações da carga viral e de linfócitos T CD4⁺ que foram realizadas na

admissão com as realizadas no parto, observa-se que não há diferença estatística na comparação da contagem dos linfócitos T CD4+ ($p = 0,130$). Entretanto, as quantificações das cargas virais da admissão e do parto apresentam diferença estatisticamente significativa ($p = 0,019$). A figura 7 ilustra graficamente os valores individuais dessa diferença entre as cargas virais da admissão e do parto.

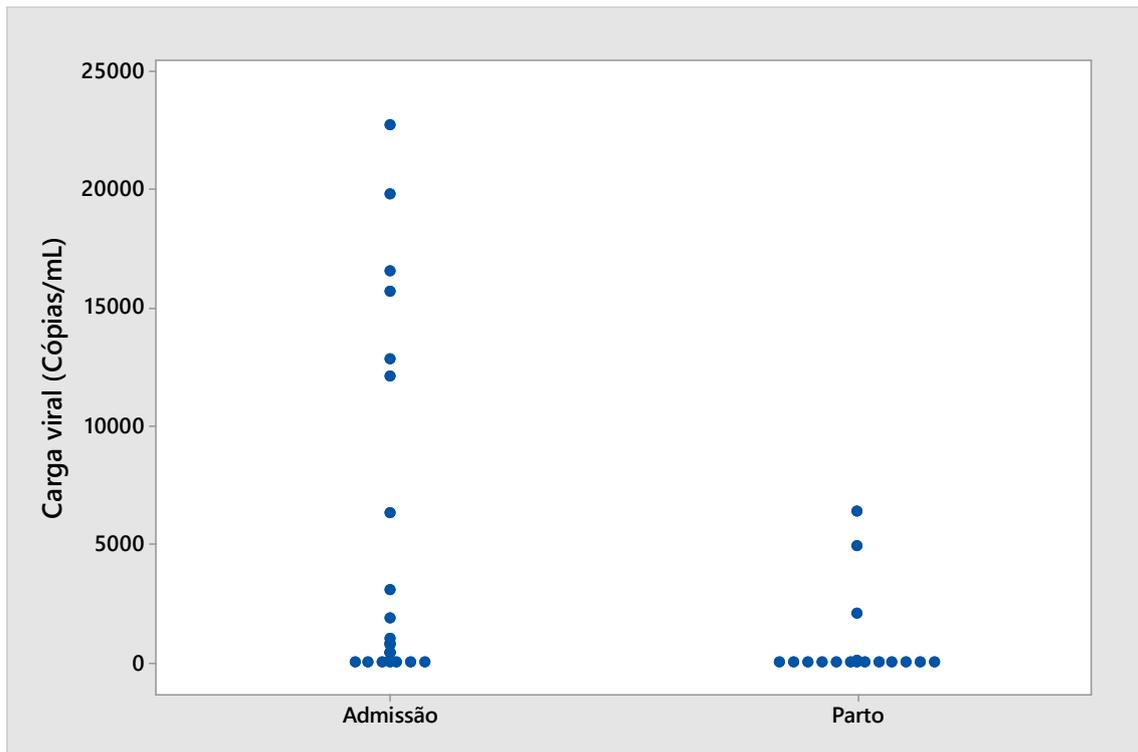


FIGURA 7 - Comparação entre as cargas virais do HIV (Cópias/mL) das gestantes na admissão e no parto.

Cinco gestantes apresentaram parto prematuro (13%), sendo a menor idade gestacional de 33 semanas e 5 dias.

Os RN apresentaram peso e estatura médios de 3.079,3 gramas e 47,65 cm, respectivamente, com distribuição normal aproximada. A Figura 8 apresenta os histogramas do peso e da estatura dos RN das participantes do estudo.

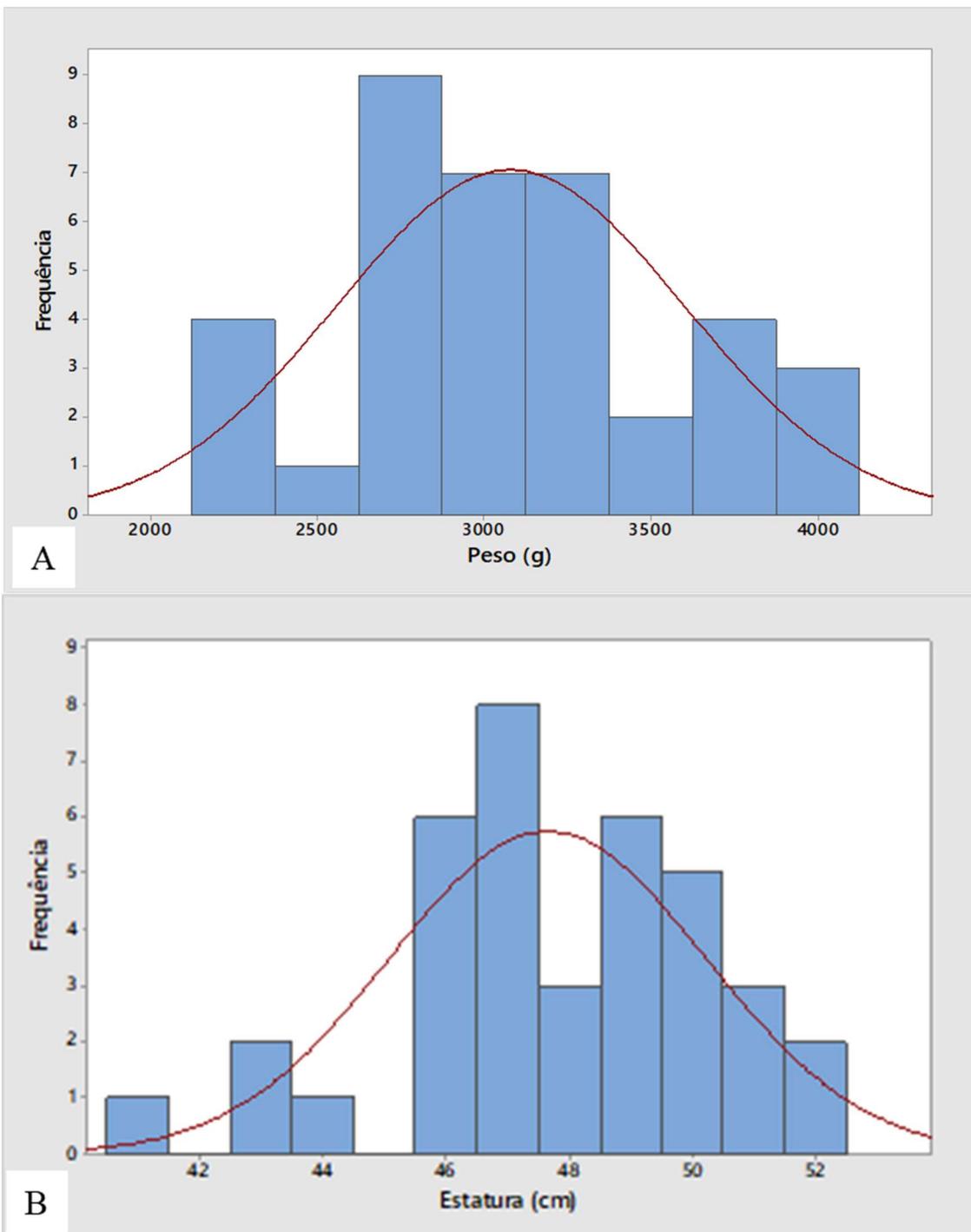


FIGURA 8 - Histogramas do peso (A) e estatura (B). As linhas vermelhas representam a distribuição normal esperada.

Após o nascimento, os recém-nascidos foram avaliados pela neonatologia para determinação da nota de Apgar no primeiro e no quinto minutos. A Figura 9 apresenta gráficos de setores com os percentuais desses índices.

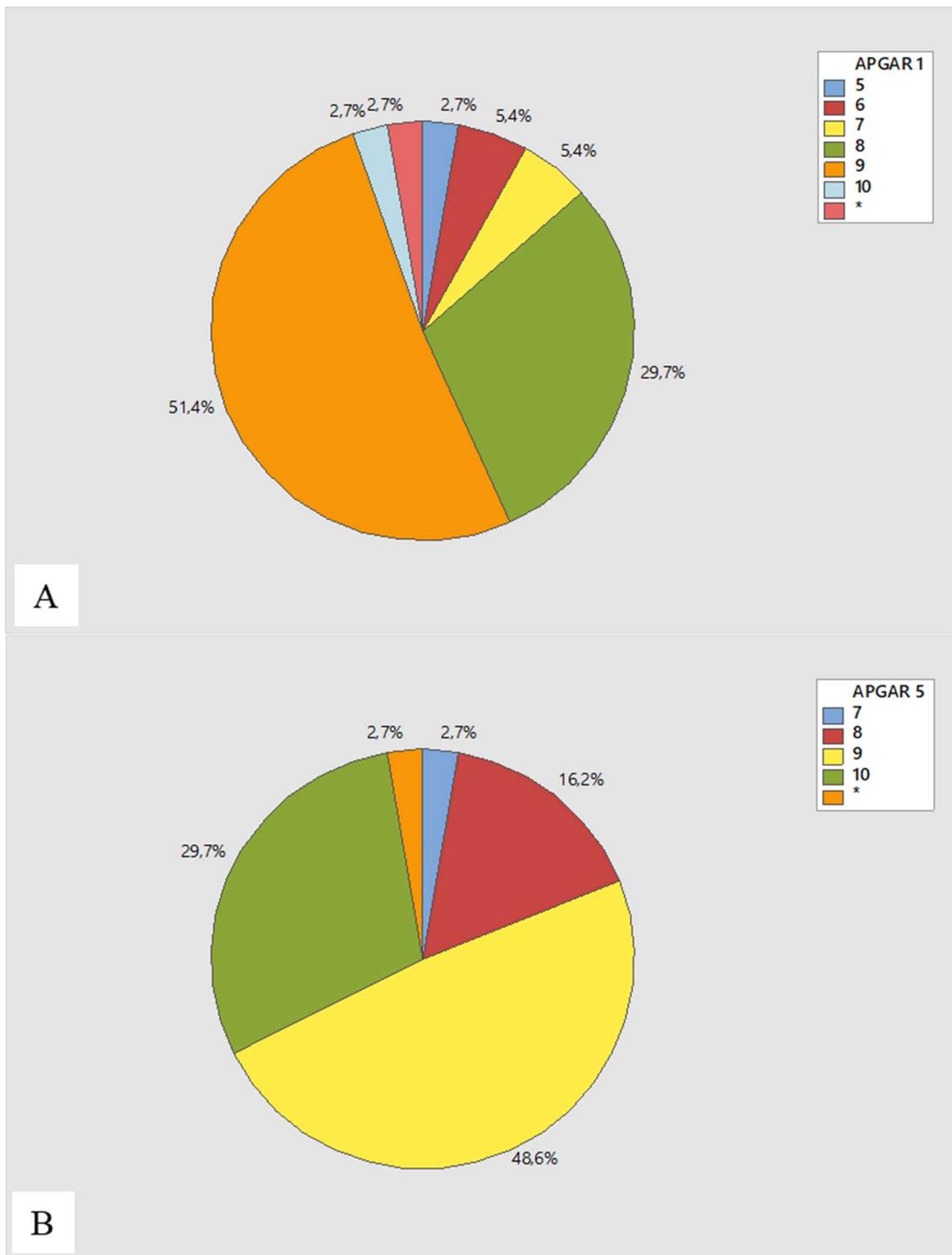


FIGURA 9 - APGAR 1 (A) e 5 (B) minutos. * Não disponível.

Como observado na figura 9, a grande maioria dos RN apresentou nota de Apgar de primeiro e quinto minutos com resultados acima ou igual a 8 (86,5% e 94,5%, respectivamente).

5.2. ASPECTOS MACROSCÓPICOS DA PLACENTA

O exame macroscópico da placenta a fresco demonstrou placentas com peso e diâmetros médios de 423,5 g e 18,33 cm, respectivamente. A espessura média da placenta, obtida por clivagem na região central, foi de 2,22 cm, variando de 1,5 cm a 3,5 cm. O exame macroscópico da placenta também detectou uma placenta com infarto antigo, uma com hematoma retroplacentário e uma com hematoma subcoriônico.

O cordão umbilical apresentou tamanho médio de 44,24 cm, variando de 22,0 cm a 75,0 cm. Não foram observadas evidências de torção, nó e artéria umbilical única nos cordões umbilicais. Também não foram observadas evidências de exsudato fibrinoso, pigmentos e ruptura na face fetal das placentas. Entretanto, foram observados sinais de trombose e alteração da cor em 16,22% das placentas.

5.3. ASPECTOS MICROSCÓPICOS DA PLACENTA

Conforme descrição da metodologia (Vide Tabela 1, na página 31 e Figura 6, na página 32), a análise histopatológica das placentas das participantes do estudo foi subdividida nas seguintes regiões ou partes: placa vilosa; placa coriônica; placa decidual; membranas ovulares e cordão umbilical. As variáveis histopatológicas das análises das placentas das gestantes infectadas pelo HIV (Grupo HIV) foram comparadas com placentas de gestantes infectadas pelo ZIKV (Grupo ZIKV) e de gestantes negativas tanto para HIV, quanto para vírus Zika (Grupo Controle).

As variáveis hipoplasia vilosa distal, maturação vilosa acelerada, corangiome, deposição de fibrina, calcificação, necrose, hemossiderina, congestão, vilo avascular, cariorrexe, espessamento vaso viloso, vilosite crônica, intervilosite aguda e intervilosite crônica foram utilizadas para análises comparativas do disco placentário entre os Grupos HIV, ZIKV e Controle. Destaque inicial para os resultados da análise histopatológica da hipoplasia vilosa distal, que estão detalhados na Tabela 2.

Grupo	Hipoplasia vilosa distal						Total	
	Ausente		Focal		Difusa			
	n	%	n	%	n	%	n	%
HIV	10	27,03	23	62,16 ^{a,b}	4	10,81	37	100,00
ZIKV	0	0,00	1	11,11	8	88,89 ^c	9	100,00
Controle	7	77,78	2	22,22	0	0,00	9	100,00

^{a, b e c}: HIV versus ZIKV, HIV versus Controle e ZIKV versus Controle, com $p = 0,000$

TABELA 2 - Análise comparativa da hipoplasia vilosa distal entre os grupos HIV, ZIKV e Controle.

Observa-se, respectivamente, predomínio de hipoplasias vilosas distais focal (62,16%) no grupo HIV e difusa (88,89%) no grupo ZIKV, com diferenças estatisticamente significativas ($p = 0,000$) entre esses grupos e deles com o grupo Controle. A figura 10 ilustra o achado da hipoplasia vilosa distal nas placentas dos grupos HIV e ZIKV.

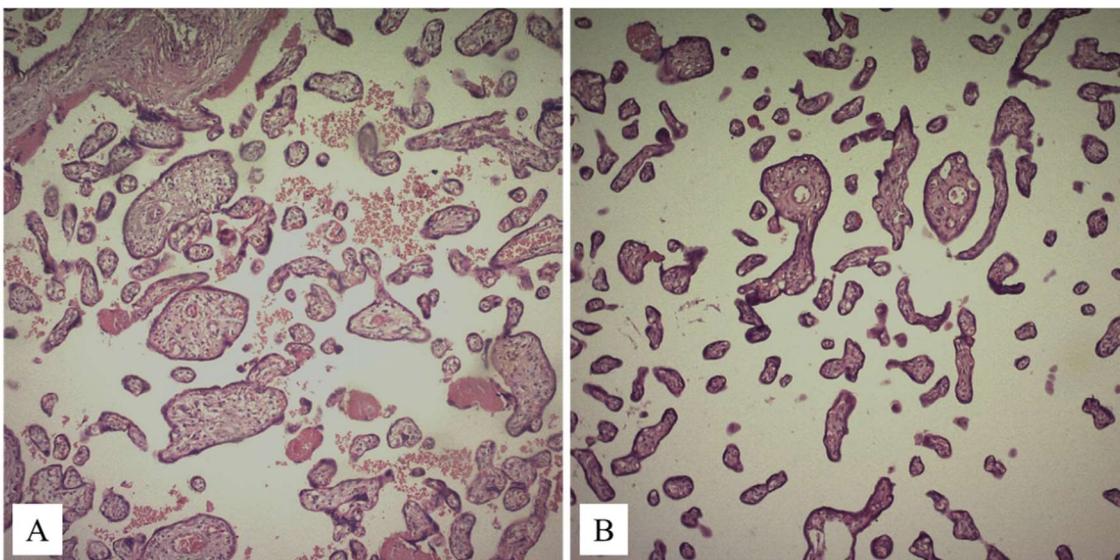


FIGURA 10 - A, Hipoplasia vilosa distal em placenta de gestante portadora de HIV: vilos terminais diminuídos de tamanho e aumento do espaço interviloso (HE, x10). B, Hipoplasia vilosa distal em placenta de gestante com Zika vírus: redução difusa do volume das vilosidades coriônicas distais (HE, x10).

Os resultados das análises comparativas das variáveis corangiiose, congestão e espessamento vaso viloso (EVV) entre os Grupos HIV, ZIKV e Controle estão detalhadas na tabela 3.

Variável	Grupo	Resultado				Total	
		Ausente		Presente		n	%
		n	%	n	%		
	HIV	17	45,95	20	54,05	37	100,00
Corangiose	ZIKV	9	100 ^a	0	0,00	9	100,00
	Controle	5	55,56	4	44,44	9	100,00
Congestão	HIV	5	13,51	32	86,49	37	100,00
	ZIKV	8	88,89 ^b	1	11,11	9	100,00
	Controle	3	33,33	6	66,67	9	100,00
EVV	HIV	5	13,51	32	86,49 ^c	37	100,00
	ZIKV	4	44,44	5	55,56 ^c	9	100,00
	Controle	6	66,67	3	33,33	9	100,00

EVV: Espessamento de vaso viloso

^a: ZIKV versus HIV e ZIKV versus Controle, com $p = 0,003$

^b: ZIKV versus HIV e ZIKV versus Controle, com $p = 0,000$

^c: HIV e ZIKV versus Controle, com $p = 0,003$

TABELA 3 - Análises comparativas da corangiose, congestão e do espessamento de vaso viloso (EVV) entre os grupos HIV, ZIKV e Controle.

Observa-se predomínio da presença de corangiose e congestão nos grupos HIV e Controle, com diferenças estatisticamente significativas ($p = 0,003$ e $p = 0,000$, respectivamente) do grupo ZIKV. Não há diferenças significativas entre os grupos HIV e Controle para essas variáveis. No caso da variável espessamento de vaso viloso, há diferenças estatisticamente significativas ($p = 0,000$ e $p = 0,003$) dos grupos HIV e ZIKV, respectivamente, do grupo Controle.

Os resultados das análises comparativas das variáveis deposição de fibrina, calcificação, vilo avascular, e intervilosite crônica entre os Grupos HIV, ZIKV e Controle estão ilustradas na figura 11.

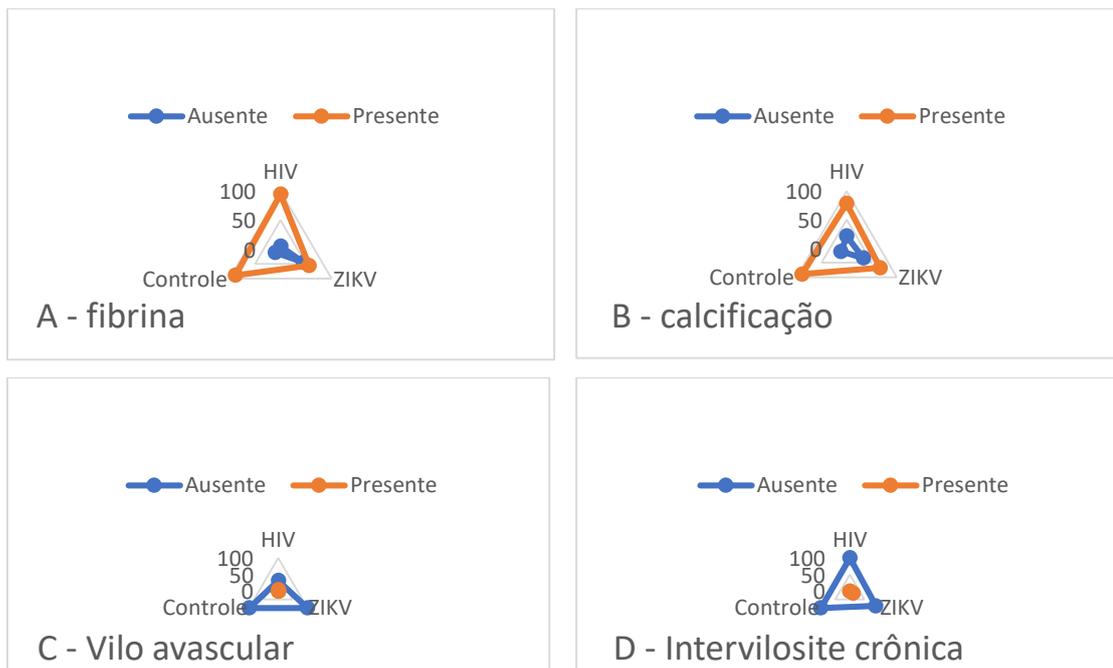


FIGURA 11 - Gráficos de radar das comparações de deposição de fibrina (A), calcificação (B), vilo avascular (C) e intervilosite crônica (D) entre os Grupos HIV, ZIKV e Controle.

Observa-se predomínio de deposição de fibrina e de calcificação nos três grupos, com maiores proporções de ausências no grupo ZIKV (44,44% e 33,33%, respectivamente), mas sem diferenças estatisticamente significativas. Observam-se também somente 5 amostras do grupo HIV com vilo avascular (13,51%) e 1 amostra do grupo ZIKV com intervilosite crônica (11,11%). Adicionalmente, as análises histopatológicas evidenciaram necrose em somente 1 amostra do grupo HIV (2,70%) e não evidenciaram achados de maturação vilosa acelerada, hemossiderina, cariorrexe, vilosite crônica e intervilosite aguda em nenhuma das amostras dos grupos HIV, ZIKV e Controle.

O compartimento da decídua foi avaliado pelo exame morfológico e observado a presença ou ausência de aterosose, necrose fibrinoide, hipertrofia mural e perivasculite. Hipertrofia mural, foi observada em somente 3 amostras (8,11%) do grupo HIV. Aterosose, necrose fibrinoide e perivasculite não foram observadas em nenhuma amostra dos grupos HIV, ZIKV e Controle.

As variáveis *bebbing*, fusão celular e perda das junções celulares foram utilizadas para análises comparativas das membranas entre os Grupos HIV, ZIKV e Controle e os resultados estão detalhados na tabela 4.

Variável	Grupo	Resultado				Total	
		Ausente		Presente		n	%
		n	%	n	%		
<i>Bebbing</i>	HIV	25	67,57	12	32,43	37	100,00
	ZIKV	8	88,89	1	11,11	9	100,00
	Controle	8	88,89	1	11,11	9	100,00
Fusão celular	HIV	34	91,89	3	8,11	37	100,00
	ZIKV	9	100,00	0	0,00	9	100,00
	Controle	9	100,00	0	0,00	9	100,00
Perda das junções celulares	HIV	26	70,27	11	29,73	37	100,00
	ZIKV	8	88,89	1	11,11	9	100,00
	Controle	3	33,33	6	66,67 ^a	9	100,00

^a: HIV e ZIKV versus Controle, com $p = 0,034$

TABELA 4 - Análises comparativas da *bebbing*, fusão celular e perda das junções celulares entre os grupos HIV, ZIKV e Controle.

Observam-se predomínios de *bebbing* (32,43%) e fusão celular (8,11%) nas amostras do grupo HIV, mas sem diferenças estatisticamente significativas dos grupos ZIKV e Controle. Em relação à perda das junções celulares, houve predomínio no grupo Controle, com diferenças estatisticamente significativas dos grupos HIV e ZIKV.

As variáveis estágio e grau da corioamnionite aguda, representativas da resposta materna, também foram utilizadas para análises comparativas das membranas entre os Grupos HIV, ZIKV e Controle e os resultados estão detalhados na Tabela 5.

Variável	Grupo	Estágio ou Grau da corioamnionite aguda						Total	
		Ausente		Leve		Moderado			
		n	%	n	%	n	%	n	%
Estágio	HIV	35	94,59	1	2,70	1,00	2,70	37	100,00
	ZIKV	8	88,89	1	11,11	0	0,00	9	100,00
	Controle	7	77,78	0	0,00	2,00	22,22	9	100,00
Grau	HIV	35	94,59	1	2,70	1,00	2,70	37	100,00
	ZIKV	8	88,89	1	11,11	0	0,00	9	100,00
	Controle	7	77,78	2	22,22	0	0,00	9	100,00

TABELA 5 - Análises comparativas do estágio e grau da corioamnionite aguda, representativas da resposta materna, entre os grupos HIV, ZIKV e Controle.

Exceto pela discordância entre estágio e grau da corioamnionite aguda em 2 amostras do grupo Controle, nos grupos HIV e ZIKV houve concordância entre estágio e grau, com pequenos percentuais (5,4% para HIV e 11,11% para ZIKV) de corioamnionite leve e moderada, tanto para estágio, quanto para grau. Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos HIV, ZIKV e Controle.

Ainda na análise histopatológica do compartimento membranas, foram observadas somente 2 amostras (5,41%) de corioamnionite subaguda no grupo HIV e não foram observadas evidências de corioamnionite crônica em nenhuma amostra dos grupos estudados.

Por último, na análise histopatológica do cordão umbilical, dentro dos aspectos microscópicos da placenta, foram avaliados o estágio e o grau da corioamnionite aguda, que são representativos da resposta fetal (tabela 6).

Variável	Grupo	Estágio e Grau da corioamnionite aguda						Total	
		Ausente		Leve		Moderado			
		n	%	n	%	n	%	n	%
Estágio	HIV	36	97,30	1	2,70	0	0,00	37	100,00
	Controle	7	77,78	0	0,00	2,00	22,22	9	100,00
Grau	HIV	36	97,30	0	0,00	1,00	2,70	37	100,00
	Controle	7	77,78	2	22,22	0	0,00	9	100,00

TABELA 6 - Análises comparativas do estágio e grau da corioamnionite aguda, representativas da resposta fetal, entre os grupos HIV e Controle.

No grupo HIV, foi observado somente 1 caso (2,70%) de corioamnionite aguda com estágio leve e grau moderado. No grupo Controle, 2 casos (22,22%), de corioamnionite aguda com estágio moderado e grau leve. Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre esses grupos.

5.4. DETECÇÃO DO HIV E DO ZIKV NA PLACENTA

Considerando o objetivo de investigar a presença de HIV e ZIKV, além de excluir a presença dos vírus da Dengue (DENV) e da Chikungunya (CHIKV), foi realizada RT-PCR do tecido placentário. Os resultados da detecção de HIV, ZIKV, DENV e CHIKV estão organizados na tabela 7.

Vírus	Grupo	RT-PCR				Total	
		Negativa		Positiva		n	%
		n	%	n	%		
HIV	HIV	2	5,41	35	94,59	37	100,00
	ZIKV	8	88,89	1	11,11	9	100,00
ZIKV	HIV	33	89,19	4	10,81	37	100,00
	ZIKV	7	77,78	2	22,22	9	100,00
DENV	HIV	37	100,00	0	0,00	37	100,00
	ZIKV	9	100,00	0	0,00	9	100,00
CHIKV	HIV	37	100,00	0	0,00	37	100,00
	ZIKV	9	100,00	0	0,00	9	100,00

TABELA 7 - Detecção dos vírus HIV, ZIKV, DENV e CHIKV nos grupos HIV e ZIKV por RT-PCR.

Os resultados da RT-PCR demonstraram a presença do HIV em 35 amostras (94,59%) do grupo HIV e em 1 amostra (11,11%) do grupo ZIKV. Os resultados da RT-PCR também evidenciaram a presença do ZIKV em 4 amostras (10,81%) do grupo HIV e em 2 amostras (22,22%) do grupo ZIKV. Não foram detectados sinais de vírus da Dengue (DENV) e Chikungunya (CHIKV) em nenhuma das amostras submetidas à RT-PCR.

Esses resultados da tabela 7 acima permitiram então o reagrupamento das amostras de placenta em quatro novos grupos: HIV+ ZIKV+; HIV+ ZIKV-; HIV- ZIKV+; e HIV- ZIKV-. A tabela

8 apresenta a constituição desses novos grupos e o percentual de representatividade de cada um no total de amostras do estudo.

Grupo	N amostral	% do total
HIV+ ZIKV+	4	8,70
HIV+ ZIKV-	32	69,56
HIV- ZIKV+	2	4,35
HIV- ZIKV-	8	17,39
Total	46	100,00

TABELA 8 - Reagrupamento das amostras de placenta segundo resultado da RT-PCR.

Esta nova configuração comparativa dos grupos permitiu a visualização das características histopatológicas da placenta mais relacionadas aos vírus HIV e ZIKV. A figura 12 ilustra a frequência das categorias das variáveis hipoplasia vilosa distal e corangiose nos grupos HIV+ ZIKV+; HIV+ ZIKV-; HIV- ZIKV+; e HIV- ZIKV-.

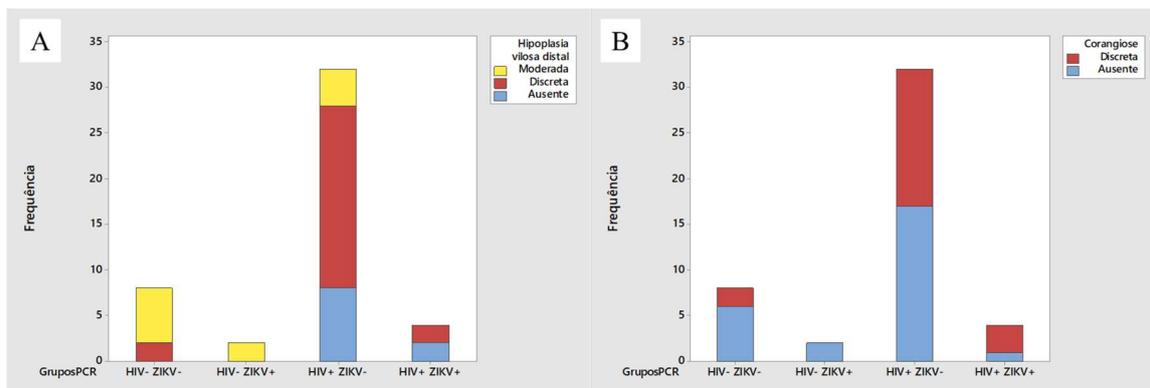


FIGURA 12 - Gráficos de barras das comparações de hipoplasia vilosa distal (A) e corangiose (B) entre os vírus HIV e ZIKV e na associação HIV/ZIKV.

No caso da hipoplasia vilosa distal, há demonstrações somente das ocorrências de alteração discreta ($n = 2$) e de ausência de alteração ($n = 2$) no grupo de HIV+ZIKV+. Neste grupo não foram observadas hipoplasia vilosa distal moderada ou acentuada. Corangiose discreta foi observada em 3 (75%) amostras desse grupo.

As demais variáveis histopatológicas relevantes na análise comparativa prévia (Vide tópico 5.2 - Aspectos microscópicos da placenta, na página 39) encontram-se na figura 13.

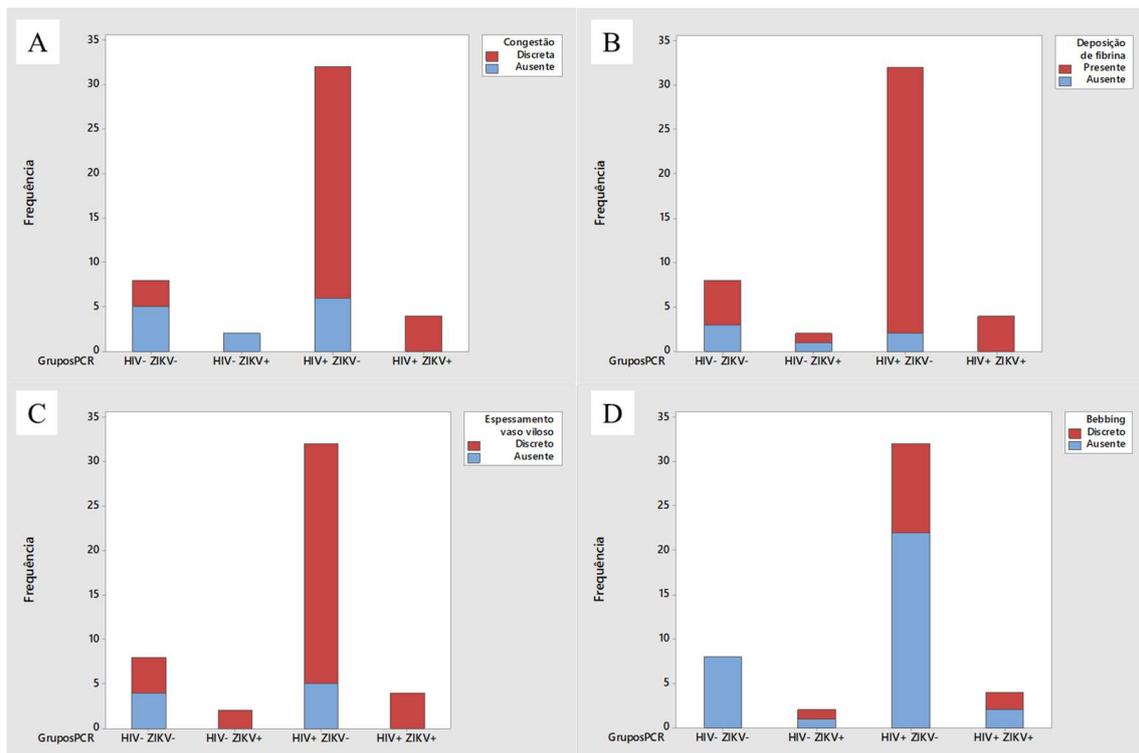


FIGURA 13 - Gráficos de barras das comparações de congestão (A), deposição de fibrina (B), espessamento de vaso viloso (C) e bebbing (D) entre os vírus HIV e ZIKV e na associação HIV/ZIKV.

Os gráficos da figura 13 mostram aparentes diferenças do grupo HIV+ZIKV+ em relação aos demais grupos para as variáveis congestão, deposição de fibrina e espessamento de vaso viloso, onde todos os casos apresentam alterações leves ou discretas. No caso do *bebbing*, há aparente similaridade nas frequências de alterações discretas dos grupos de placentas infectadas por vírus.

Em conjunto, os resultados do trabalho demonstram, além da diferenciada ocorrência de lesões patológicas placentárias associadas aos vírus HIV e ZIKV, a presença de material genético de ZIKV nas placentas de gestantes infectadas pelo HIV, apesar dos resultados negativos de testes molecular e imunológico no sangue periférico. Complementarmente, os resultados também indicam a ocorrência diferenciada de algumas lesões patológicas no contexto da infecção concomitante pelos vírus HIV e ZIKV.

6. DISCUSSÃO

O estudo caracterizou as lesões patológicas placentárias mais associadas aos vírus HIV e ZIKV e à infecção concomitante HIV/ZIKV, além da detecção da presença de material genético de ZIKV nas placentas de gestantes infectadas pelo HIV, apesar dos resultados negativos de testes molecular e imunológico no sangue periférico. Considerando os princípios do método científico e a adoção das boas práticas laboratoriais, esses resultados são interpretados como válidos.

Mesmo assim, alguns fatores podem ser compreendidos como limitações do estudo. Entre eles, merecem comentários a ausência de dados clínicos e a representatividade das amostras das placentas das gestantes dos grupos ZIKV e controle e a realização dos testes moleculares no tecido placentário. Por se tratar de amostragem obtida para exame histopatológico ou para descarte na rotina laboratorial somente para comparação com o HIV, não foi possível obter previamente e sistematicamente os dados clínicos das gestantes dos grupos ZIKV e controle. Considerando que os critérios para avaliação das lesões placentárias descritos por R. W. Redline (Redline, 2008/ Redline, 2015) podem ser aplicados a amostra única da placenta, esse viés de amostragem não restringiu a classificação das lesões. Em relação aos testes moleculares, apesar do uso de iniciadores e condições das reações diferentes daquelas realizadas no sangue periférico, foram utilizados neste estudo, iniciadores e condições publicadas na literatura e já reproduzidas e validadas no Laboratório de Patologia Molecular do Departamento de Anatomia Patológica da Faculdade de Medicina da UFMG.

Em relação aos resultados, o trabalho identificou que as gestantes acompanhadas no serviço de referência para gestantes portadoras de HIV não apresentaram diferenças no tratamento antirretroviral em relação ao estabelecido pelos protocolos atuais e, por isso, houve uma queda significativa da carga viral e aumento da contagem de linfócitos T-CD4+ detectados no momento do parto. Esses resultados reproduziram as evidências destacadas no protocolo oficial do Ministério da Saúde (Brasil, jul 2019). Já Ntlantsana et al (2019) observaram persistência da viremia (CV maior que 50 cópias/mL) em 20% das gestantes que receberam TARV em serviço de saúde na África do Sul, e aventou a possibilidade de baixa adesão ao tratamento com como causa.

Corroborando com nossos resultados, Myer et al (2016) também observaram redução da transmissão vertical com medidas no pré-natal como uso de TARV em gestantes da África do Sul. Gestantes com CV mais alta e com início de TARV mais tardio apresentaram menor queda da CV. Westling et al (2012) também observaram melhora da CV mesmo em gestantes com diagnóstico no final da gravidez com uso de Raltegravir, sendo opção com melhor perfil farmacocinético. Townsend et al (2008) também observaram que medidas como TARV, cesariana e outras recomendações do *guideline* britânico foram capazes de manter baixas as taxas de transmissão vertical. Palácios et al (2009) observaram aumento da contagem de linfócitos T-CD4 no final da gravidez em gestantes que fizeram uso de TARV. Achado também observado em nosso estudo com aumento médio de 604 na admissão para 720 ao parto.

Entre os outros resultados, as intercorrências apresentadas pelas gestantes do estudo, como diabetes gestacional, pré-eclâmpsia, infecção urinária foram dentro do esperado para a população em geral. Houve prevalência de partos prematuros de 13,5% no grupo estudado. Um pouco a mais que a observada na população em geral no Brasil que é de 9,4% (Santos, 2018). A minoria dos recém-nascidos apresentou baixo peso ao nascimento 10,8%, próximo a taxa nacional (Pedraza, 2013). Xiao et al (2015) observaram maior taxa de parto prematuro e baixo peso ao nascer em gestantes com HIV e que não houve melhora mesmo com uso de TARV.

Os resultados do exame macroscópico das placentas das gestantes infectadas pelo HIV evidenciaram que o peso e tamanho das placentas do estudo não diferiram da média da população. Vermaak et al (2012) por outro lado identificaram que placentas de gestante HIV positivo apresentaram baixo peso e maior frequência de infarto marginal. Adicionalmente, Obimbo et al (2019) identificaram alterações morfológicas nas placentas de fetos prematuros no Quênia, entre elas infarto e trombose. Este último resultado foi observado em 16,2% das placentas de nosso estudo.

As placentas das gestantes HIV positivo não apresentaram alterações morfológicas macroscópicas comparadas as da população em geral. Na microscopia houve achado significativo de hiperplasia vilosa distal, corangiiose, deposição de fibrina no espaço interviloso, calcificações, além de espessamento de vasos vilosos. Em comparação, as placentas de gestantes que apresentaram infecção pelo ZIKV na gestação exibiram hipoplasia vilosa distal

mais acentuada e não exibiram corangiose. Percentualmente a taxa de deposição de fibrina no espaço interviloso, calcificações, além de espessamento de vasos vilosos foram menos intensas. Mais detalhadamente sobre esses resultados da histopatologia e considerando que os vilos coriônicos normais devem apresentar poucos capilares (menos de cinco capilares por vilos) e que números maiores que esse são considerados hipervascularização, a corangiose representa vilos extremamente vascularizados, com mais de dez capilares, observados pelo menos em 10 campos de grande aumento (Vafaei et al, 2019). A corangiose, que está presente em 5 a 7% das placentas de recém-nascidos em unidade de tratamento intensivo e está relacionada a aumento da morbimortalidade, é relacionada a hipoperfusão e é mais prevalente em lesões placentárias agudas e crônicas relacionadas a hipóxia como anemia materna, tabagismo materno, gestações múltiplas, diabetes mellitus, além de relacionados a pré-eclâmpsia e crescimento intrauterino restrito (Vafaei et al, 2019). Por isso, consideramos que a alta taxa de corangiose observada nas gestantes de nosso estudo está relacionada a um estado crônico de hipoperfusão placentária e hipoxemia.

A deposição maciça de fibrina perivilosa e no assoalho é caracterizada pela extensa deposição de fibrina no espaço interviloso, estendendo-se da placa basal até a porção subcoriônica. As vilosidades aprisionadas pelo material fibrinoide tornam-se fibróticas e avasculares, com distorção da arquitetura placentária e risco aumentado de crescimento intrauterino restrito do feto, mortalidade perinatal e alteração do desenvolvimento neurológico do recém-nascido. A prevalência da forma grave é baixa (menos de 0,5%) e sua fisiopatologia ainda hoje é pouco entendida, havendo relação com doença materna autoimune prévia (Spinillo et al, 2019). As placentas do estudo exibiram baixas taxas de deposição de fibrina não ultrapassando 3% da área de amostragem.

A hipoplasia vilosa distal é uma condição em que não há desenvolvimento adequado das ramificações do tronco viloso, o que afeta o número de vilosidades coriônicas terminais e a superfície de troca entre o sangue materno do espaço interviloso e o sangue fetal dentro dos capilares sanguíneos vilosos (Parks et al, 2017). Spinillo et al (2019) observaram um maior desenvolvimento de hipoplasia vilosa distal e outros defeitos do desenvolvimento placentário relacionados a hipóxia, em placentas de fetos que apresentaram crescimento intrauterino restrito em uma fase mais inicial da gestação (menor que 32 semanas) comparados àqueles que desenvolveram em uma fase mais avançada (maior ou igual a 32 semanas). Tais achados

sugerem que lesões placentárias relacionadas a infecção pelo ZIKV estão associadas a hipoxemia já que foi observado que a placenta das gestantes portadoras do HIV exibia moderada hipoplasia vilosa distal. Já as placentas das pacientes que se infectaram pelo Zika vírus na gestação exibiram um acentuado grau de hipoplasia. Ronchi et al (2021) também observaram, por morfometria, dismaturidade vilosa mais acentuada no grupo infectado pelo ZIKV, com parado ao grupo HIV, que mostrou alterações mais discretas.

Em nosso estudo o grupo da coinfeção ZIKV+/HIV+ apresentou hipoplasia vilosa distal menos pronunciado quando comparado ao grupo ZIKV+/HIV-. Tal achado pode indicar que a infecção pelo HIV inibe os efeitos do ZIKV na placenta, reduzindo os danos no desenvolvimento placentário.

Em relação aos testes moleculares no tecido placentário, a pesquisa de HIV na placenta pela técnica RT-PCR foi positiva em 94,59% dos casos. Quatro casos (10,8%) apresentaram coinfeção pelo ZIKA vírus, detectado na placenta pela RT-PCR. A pesquisa para os arbovírus DENV e CHIKV foi negativa em todas as amostras. Esses resultados da RT-PCR permitiram o destaque dos seguintes pontos finais para discussão: características histopatológicas comuns nas infecções por HIV e ZIKV e persistência do ZIKV na placenta.

Sobre as características morfológicas observadas nas infecções por HIV e ZIKV, Schwartz D (2017) observou que placentas de mães infectadas com ZIKV caracteristicamente não apresentaram vilosite ou intervilosite, a despeito do que é observado nas infecções pelo grupo denominado TORCH. Também a infecção pelo HIV não cursa com achados de vilosite. Nosso estudo também não evidenciou vilosite no contexto de coinfeção pelo HIV e ZIKV, Rosenberg et al (2016) também não evidenciaram vilosite nas placentas de gestante que apresentaram ZIKV. Foi observada proliferação de células de Hofbauer no parênquima placentário, o que não foi observado em nosso estudo.

Por último, em relação à hipótese de persistência do ZIKV na placenta, Noronha (2018) observou anticorpo anti-ZIKV através de imuno-histoquímica, positivo em células de Hofbauer em placentas de 2º e 3º trimestre. A pesquisa de RT-PCR para Zika vírus foi positiva somente em duas placentas estudadas, o que foi atribuído, entre outras causas, a degradação do material para processamento.

Assim, os resultados do nosso estudo demonstram as principais lesões patológicas placentárias associadas aos vírus HIV e ZIKV, a ocorrência diferenciada de algumas lesões patológicas no contexto da infecção concomitante pelos vírus HIV e ZIKV e a presença de material genético de ZIKV nas gestantes infectadas pelo HIV, apesar dos resultados negativos de testes molecular e imunológico no sangue periférico.

7. CONCLUSÃO

Os resultados do nosso estudo fortalecem a hipótese da ação direta e independente dos vírus HIV e ZIKV na constituição de lesões patológicas placentárias e indicam redução do impacto do ZIKV na infecção concomitante com o HIV.

Entretanto, estudos analíticos dos tipos caso-controle e longitudinal e experimentais do tipo cultura de células ou tecido placentário, são essenciais para testar a hipótese da ação citopática da coinfeção pelo HIV e ZIKV.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALIOTA, Matthew; *et al.* **Zika in the Americas, year 2:** What have we learned? What gaps remain? A report from the Global Virus Network. Antiviral Research, 2017.

BARREIRO, Pablo. **First case of Zika virus infection in a HIV+ patient.** Aids Rev. Vol 18, 112-113, 2016.

BRASIL, Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Recomendações para profilaxia da transmissão vertical do HIV e terapia antirretroviral em gestantes.** Brasília, nº46, 2010.

BRASIL, Ministério da Saúde. **Boletim epidemiológico: Síndrome congênita associada à infecção pelo vírus Zika.** Situação epidemiológica, ações desenvolvidas e desafios de 2015 a 2019. Brasil, novembro 2019.

BRASIL, Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Protocolo clínico e diretrizes terapêuticas para prevenção da transmissão vertical de HIV, sífilis e hepatites virais.** Brasília, julho 2019.

BRASIL, Ministério da Saúde. **Boletim epidemiológico:** Situação epidemiológica da síndrome congênita associada à infecção pelo vírus ZIKA em 2020, até a SE 45. Brasil Vol 51, novembro 2020.

BRASIL, Ministério da Saúde. **Boletim epidemiológico. HIV/AIDS 2020.** Brasil, dezembro 2020.

BRASILEIRO FILHO, Geraldo. Bogliolo Patologia. 9ªedição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2016.

CARAGATA, Eric, *et al.* **Pathogen blocking in Wolbachia-infected *Aedes aegypti* is not affected by Zika and dengue virus co-infection.** Plos Negl Trop Dis. Vol 13 (5), 1 – 26, maio 2019.

CEVERNY, Lukas; MURTHI, Padma; STAUD, Frantisek. **HIV in pregnancy:** Mother-to-child transmission, pharmacotherapy and toxicity. Biochim Biophys Acta mol Basics of dis. Vol 1967 (10), outubro 2021.

COYNE, Carolyn, LAZEAR, Helen. **ZIKA virus – reigniting the TORCH.** Nat. Rev. Microbiol. Vol 14 (11), 707-7015, novembro, 2016.

JOHNSON, Erica, CHAKRABORTY, Rana. **HIV-1 at the placenta:** immune correlates of protection and infection. Curr. Opin. Infect. Dis. Vol 29 (3), 248-255, Junho 2016.

KALK, Emma, *et al.* **Placental pathology in HIV infection at term:** a comparison with HIV-uninfected women. Tropical Medicine and International Health. Vol 22 (5), 604-613, maio, 2017.

MINAS GERAIS, Secretaria de Estado de Saúde. **Manual técnico de atenção à saúde e resposta aos casos de infecção pelo vírus Zika em gestantes, fetos e recém-nascidos.** Belo Horizonte, março 2016.

MULDER, J. *et al.* **Rapid and simple PCR assay for quantitation of human immunodeficiency virus type 1 RNA in plasma:** Application to acute retroviral infection. *Journal of Clinical Microbiology*, Vol 32 (2), 292-300, fevereiro 1994.

MYER, L. *et al.* **HIV viraemia and mother-to-child transmission risk after antiretroviral therapy initiation in pregnancy in Cape Town, South Africa.** *HIV Medicine*. Vol. 1, 1-9, fevereiro 2016.

NTLANTSANA, Vuyokazi; HIFT, Richard; MPHATSWE, Wendy. **HIV viraemia during pregnancy in women receiving preconception antiretroviral therapy in KwaDukuza, KwaZulu-Natal.** *Southern African Journal of HIV Medicine*. 20(1), 2019.

OBIMBO, Moses M. *et al.* **Placental Structure in Preterm Birth Among HIV-Positive Versus HIV-Negative Women in Kenya.** *Acquir Immune Defic Syndr*. Vol. 80 (1), 1-9, Janeiro de 2019.

ODUYEBO, Titilope. *et al.* **Update: Interim Guidance for Health Care Providers Caring for Pregnant Women with Possible Zika Virus Exposure - United States (Including U.S. Territories).** *MMWR Morb Mortal Wkly*. Atlanta, 66, 29, p. 781-793, Jul. 2017.

PALACIOS, R. *et al.* **Short-term antiretroviral therapy to prevent mother-to-child transmission is safe and results in a sustained increase in CD4 T-cell counts in HIV-1-infected mothers.** *HIV Medicine*. Vol. 10, 157-162, 2009.

PARKS, W. Tony. **Manifestations of Hypoxia in the Second and Third Trimester Placenta.** *Birth Defects Research*. Vol. 109, 1345-1357, 2007.

PEDRAZA, Dixis Figueroa. **Baixo peso ao nascer no brasil: revisão sistemática de estudos baseados no sistema de informações sobre nascidos vivos.** *Revista de Atenção à Saúde*. Vol 12 (41), p. 37-50, dezembro de 2013.

RABELO, Kíssila; *et al.* **Placental Histopathology and Clinical Presentation of Severe Congenital Zika Syndrome in a Human Immunodeficiency Virus-Exposed Uninfected Infant.** *Front. Immunol*. Vol. 8, dezembro 2017.

REAGAN-STEINER, Sarah. *et al.* **Evaluation of Placental and Fetal Tissue Specimens for Zika Virus Infection - 50 States and District of Columbia.** *MMWR Morb Mortal Wkly*. Atlanta, 66, 24, p. 636-643, Jun. 2017.

REDLINE, Raymond. **Placental pathology: a systematic approach with clinical correlations.** *ScienceDirect*. *Placenta* 29, supplement A, *Trophoblast Research*, Vol. 22, S86 a S91. 2008.

REDLINE, Raymond. **Classification of placental lesions.** *Am. J. Obstet. Gynecol*. 213 (4 Suppl), S21-S28. Outubro 2015.

RONCHI, Daiane, *et al.* **Placental morphological similarities between ZIKV-positive and HIV-positive pregnant women.** Front. Immunol. Vol 12, junho 2021.

ROSENBERG *et al.* **Placental Pathology of Zika Virus: Viral Infection of the Placenta Induces Villous Stromal Macrophage (Hofbauer Cell) Proliferation and Hyperplasia.** Arch Pathol Lab Med. p. 1-6, 2016.

ROTHAN, Hussin; BDOKHTI, Mehdi; BRYRAREDDY, Siddappa. **Current concerns and perspectives on Zika vírus co-infection with arboriuses and HIV.** Journal of Autoimmunity 89, 11-20, janeiro 2018.

SANTOS, Robervaldo José dos. **Prematuridade no brasil: um estudo epidemiológico, no período de 2007 a 2016.** TCC – UFPE. Vitória de Santo Antão, p. 1-43. 2018.

SCHWARTZ, David A. **Viral infection, proliferation, and hyperplasia of Hofbauer cells and absence of inflammation characterize the placental pathology of fetuses with congenital Zika virus infection.** Arch Gynecol Obstet. Vol. 295, 1361-1368, abril 2017.

SPINILLO, Arsenio *et al.* **Pathologic placental lesions in early and late fetal growth restriction.** Acta Obstet Gynecol Scand. Vol. 00, 1-10, julho 2019.

SPINILLO, Arsenio *et al.* **The impact of placental massive perivillous fibrin deposition on neonatal outcome in pregnancies complicated by fetal growth restriction.** Placenta. Vol. 87, p. 46-52, 2019.

TOWNSEND, Claire L *et al.* **Low rates of mother-to-child transmission of HIV following effective pregnancy interventions in the United Kingdom and Ireland, 2000–2006.** AIDS. Vol. 22 (8), p. 973-981, 2008.

UNAIDS. **Site da UNAIDS**, 2021. Estatísticas sobre HIV e AIDS. Disponível em <https://unaid.org.br/estatisticas/> . Acesso em 16 ago. 2021.

VAF AEI, Homeira *et al.* **Association of placental chorangiosis with pregnancy complication and prenatal outcome: a case-control study.** BMC Pregnancy and Childbirth. Vol 2021, 2-8, Janeiro 2021.

VERMAAK, Anine *et al.* **Morphologic changes in the placentas of HIV-positive women and their association with degree of immune suppression.** Internation Journal of Gynecology and Obstetrics. Vol. 119, p. 239-243, 2012.

VILLAMIL-GÓMEZ, Wilmer, *et al.* **Zika virus and HIV co-infection in five patients from two areas of Colombia.** Journal of the Formosan Medical Association, 2018.

WESTLING, Katarina *et al.* **Rapid Decline in HIV Viral Load When Introducing Raltegravir-Containing Antiretroviral Treatment Late in Pregnancy.** Clinical and epidemiologic research. Vol. 26 (12), p. 714-717, 2012.

XIAO, Peng-Lei *et al.* **Association between maternal HIV infection and low birth weight and prematurity: a meta-analysis of cohort studies.** BMC Pregnancy & Childbirth. Vol. 15 (246), p. 1-11,

ZAGA-CLAVELLINA, Verónica. *et al.* **Central role of the placenta during viral infection: Immune-competences and miRNA defensive responses.** *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis.* Vol. 1867 (10), outubro 2021.

ZANLUCA, Camila. **First report of autochthonous transmission of *Zika* vírus in Brazil.** *Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*, Vol. 110(4), 569-572, junho 2015.

ANEXO 1



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - COEP

Projeto: CAAE – 66996217.7.2001.5149

Interessado (a) : Prof. Jorge Andrade Pinto
Departamento de Pediatria
Faculdade de Medicina - UFMG

DECISÃO

O Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG – COEP analisou e aprovou, no dia 28 de junho de 2017, o projeto de pesquisa intitulado: “**Estudo de coorte prospectivo de HIV e ZIKA em bebês e gestantes (HIV ZIP)**”. Versão 1.0 de 20 de março de 2017. Assim como os seguintes documentos:

- Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, para pais e responsáveis de gestantes menores de 18 anos inscritas no período pré-natal, Versão 1.0 – Adaptado para UFMG em 19/05/2017.
- Termo de Consentimento Livre e Esclarecido para gestantes inscritas no período pré-natal, Versão 1.0 – Adaptado para UFMG em 19/05/2017.
- Termo de Consentimento Livre e Esclarecido para bebês nascidos de mães inscritas no período pré-natal, Versão 1.0 – Adaptado para UFMG em 19/05/2017.
- Termo de Assentimento Livre e Esclarecido para gestantes menores de 18 anos de idade inscritas no período pré-natal, Versão 1.0 – Adaptado para UFMG em 19/05/2017.

O projeto de pesquisa envolve mais que o risco mínimo, mas apresenta prospectos de benefício direto para o sujeito individualmente.

Essa aprovação é válida por um ano (de 28/06/2017 a 27/06/2018).

O relatório final ou parcial deverá ser encaminhado ao COEP um ano após o início do projeto.


Prof. Dra. Vivian Resende

Coordenadora do COEP-UFMG

RECEBEMOS

EM 7 / 7 / 17
wv