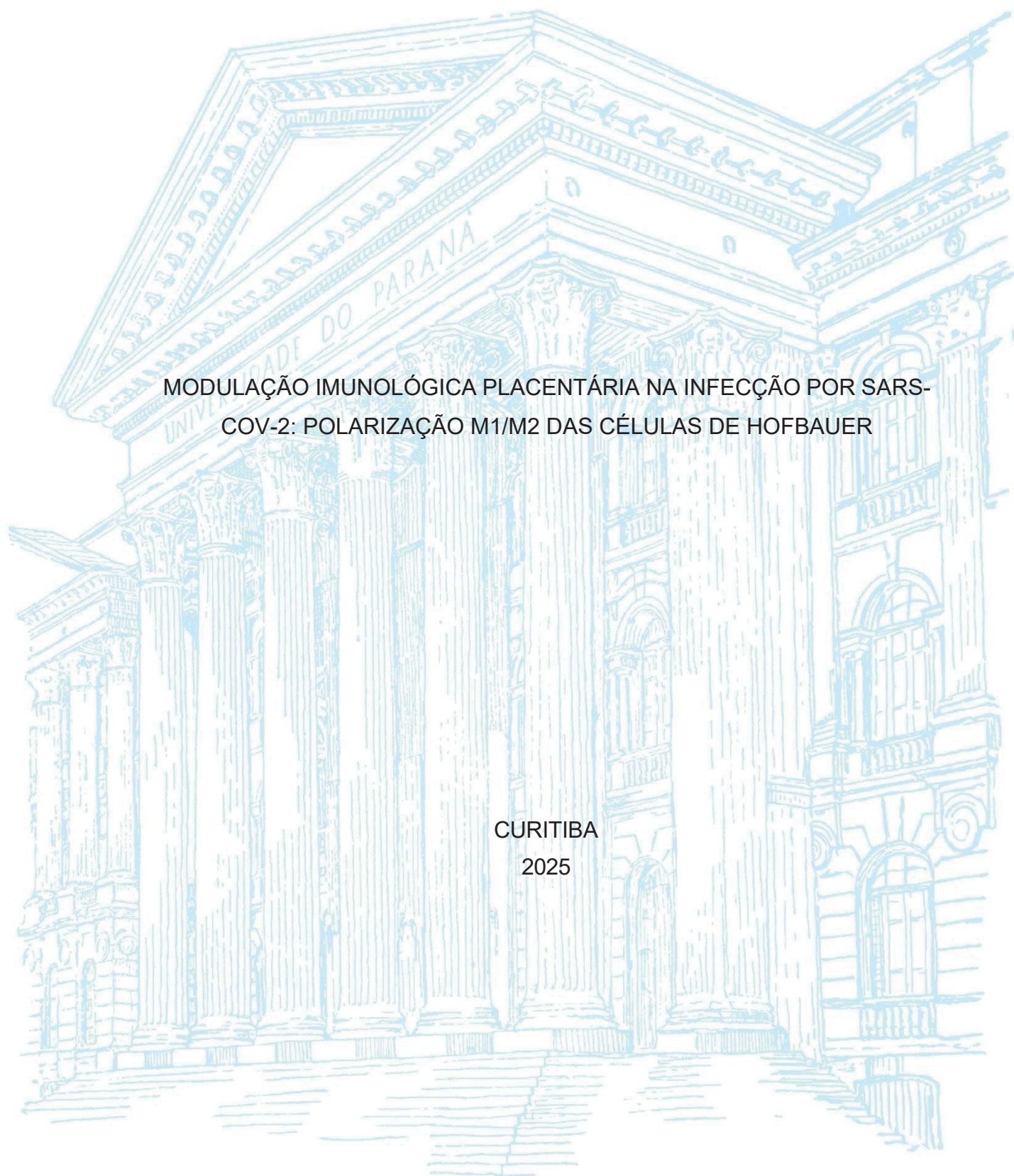


UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

VIVIAN TEREZINHA TORRECILHA GONÇALVES

MODULAÇÃO IMUNOLÓGICA PLACENTÁRIA NA INFECÇÃO POR SARS-COV-2: POLARIZAÇÃO M1/M2 DAS CÉLULAS DE HOFBAUER

CURITIBA
2025



VIVIAN TEREZINHA TORRECILHA GONÇALVES

MODULAÇÃO IMUNOLÓGICA PLACENTÁRIA NA INFECÇÃO POR SARS-
COV-2: POLARIZAÇÃO M1/M2 DAS CÉLULAS DE HOFBAUER

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Tocoginecologia e Saúde da Mulher, Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Tocoginecologia e Saúde da Mulher.

Orientação: Profª Drª. Meri Bordignon Nogueira

Co-Orientação: Profª Drª. Lucia de Noronha

CURITIBA

2025

G635	Gonçalves, Vivian Terezinha Torrecilha Modulação imunológica placentária na infecção por SARS-CoV-2: polarização M1/M2 das células de Hofbauer [recurso eletrônico] / Vivian Terezinha Torrecilha Gonçalves. – Curitiba, 2025. 82 f. : il. Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências da Saúde, Programa de Pós- Graduação em Tocoginecologia e Saúde da Mulher, 2025. Orientadora: Profa. Dra. Meri Bordignon Nogueira. Coorientadora: Profa. Dra. Lucia de Noronha. 1. COVID-19. 2. SARS-CoV-2. 3. Gravidez. 4. Imunidade. 5. Placenta. 6. Complicações Infecciosas na Gravidez. 7. Histiócitos. I. Universidade Federal do Paraná. II. Nogueira, Meri Bordignon. III. Noronha, Lucia de. IV. Título. NLMC: WQ 212
------	---

Catálogo na fonte elaborada pelo Sistema de Bibliotecas da UFPR,
Biblioteca de Ciências da Saúde – SD, com os dados fornecidos pela autora.
Bibliotecária: Nayara Késsia Veras Lemos CRB-9/2207



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SETOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO TOCOGINECOLOGIA E
SAÚDE DA MULHER - 40001016084P2

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação TOCOGINECOLOGIA E SAÚDE DA MULHER da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da dissertação de Mestrado de **VIVIAN TEREZINHA TORRECILHA GONÇALVES**, intitulada: **Modulação imunológica placentária na infecção por SARS-CoV-2: polarização M1/M2**

das células de Hofbauer, sob orientação da Profa. Dra. MERI BORDIGNON NOGUEIRA, que após terem inquirido a aluna e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa.

A outorga do título de mestra está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

CURITIBA, 27 de Novembro de 2025.

Assinatura Eletrônica

22/12/2025 10:25:34.0

MERI BORDIGNON NOGUEIRA

Presidente da Banca Examinadora

Assinatura Eletrônica

22/12/2025 17:56:34.0

SONIA MARA RABONI

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Assinatura Eletrônica

22/12/2025 11:05:09.0

CAMILA MARCON

Avaliador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

RUA GENERAL CARNEIRO, 181 - CURITIBA - Paraná - Brasil
CEP 80060-900 - Tel: (41) 3525-6855 - E-mail: pgtoco@ufpr.br

Documento assinado eletronicamente de acordo com o disposto na legislação federal Decreto 8539 de 08 de outubro de 2015.

Gerado e autenticado pelo SIGA-UFPR, com a seguinte identificação única: 505203

Para autenticar este documento/assinatura, acesse <https://siga.ufpr.br/siga/visitante/autenticacaoassinaturas.jsp> e insira o código 505203

AGRADECIMENTOS

Minha profunda gratidão a minha orientadora, Professora Dra. Meri Bordignon Nogueira, por sua orientação, seus ensinamentos, e pelo estímulo permanente e apoio incondicional ao longo deste processo.

Muito obrigada à Professora Dra. Lucia Noronha, minha co-orientadora, pela sua disponibilidade para me ensinar, por ter me feito compreender muitos aspectos da pesquisa, pelo aconselhamento assertivo, que muito contribuiu para melhorar a profundidade e a qualidade do trabalho.

Agradeço imensamente aos professores do Programa de Pós-graduação em Toginegologia e Saúde da Mulher, Seus ensinamentos foram muito importantes para a minha formação.

Aos meus estimados colegas da equipe de Virologia do Hospital de Clínicas da UFPR e Laboratório Multiusuário de Pesquisa em Virologia e Biologia Molecular da UFPR, pela contribuição de alguma maneira pra realização dessa jornada.

À toda equipe do Laboratório de Patologia da Pontifícia Universidade Católica do Paraná, onde grande parte deste trabalho foi realizado,

Às instituições que colaboraram para este projeto: Universidade Federal do Paraná, Complexo do Hospital de Clínicas da UFPR, Programa de Pós-Graduação em Tocoginecologia e Saúde da Mulher, Hospital Nossa Senhora das Graças e Pontifícia Universidade Católica do Paraná.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (**CAPES**), pela concessão de bolsas de pesquisa, que possibilitou maior dedicação ao projeto e do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo aprovação do projeto.

Um agradecimento especial à minha família, por seu amor e compreensão durante esses anos. À minha mãe, pela incansável luta pela minha educação, aos meus filhos por expressarem orgulho pelo meu trabalho, e ao meu marido, pelo suporte por toda a vida e encorajamento contínuo.

Às minhas queridas amigas, por acreditar no meu potencial durante todo o processo.

Agradeço a todos os participantes da pesquisa, cujas contribuições foram essenciais para a realização deste estudo.

Por fim, o sentimento de gratidão à providência divina por todas as oportunidades concedidas a mim, pela resiliência, e sobretudo pela tranquilidade para enfrentar os momentos difíceis.

“Os mais belos pensamentos nada são sem as obras.”
Santa Terezinha do Menino Jesus

RESUMO

A COVID-19, doença causada pelo Coronavírus da Síndrome respiratória aguda grave (SARS-CoV-2), foi declarada pandemia pela Organização Mundial da Saúde (OMS) em 2020 e se caracteriza por alta transmissibilidade por meio de gotículas respiratórias. Embora muitos casos sejam assintomáticos ou leves, indivíduos com comorbidades apresentam maior risco de evolução grave. Na gestação, as alterações fisiológicas maternas aumentam a suscetibilidade a complicações associadas a infecções respiratórias virais. Diante desse contexto, o presente estudo teve como objetivo analisar a resposta imunológica placentária em gestantes com COVID-19, com ênfase na identificação, quantificação e caracterização fenotípica dos histiócitos de Hofbauer, bem como na expressão dos imunomarcadores CD68, iNOS e esfingosina nos vilos placentários. Trata-se de um estudo transversal, com coleta retrospectiva de dados, realizado entre maio de 2020 e dezembro de 2021, em dois hospitais da cidade de Curitiba. Foram incluídas 71 placentas de gestantes com diagnóstico confirmado de COVID-19 e 11 placentas de gestantes sem histórico da infecção, coletadas no período pré-pandemia. As amostras foram submetidas à análise histopatológica, imunohistoquímica e à detecção molecular do SARS-CoV-2 por RT-qPCR. A imunomarcagem foi realizada utilizando anticorpos anti-CD68, marcador de macrófagos, iNOS, associado ao fenótipo pró-inflamatório M1, e esfingosina, relacionada ao fenótipo anti-inflamatório M2. A quantificação dos histiócitos de Hofbauer foi realizada por análise morfométrica das vilosidades placentárias, e os dados foram submetidos à análise estatística, considerando fatores maternos, gestacionais e do conceito. Observou-se aumento significativo na expressão de CD68 e esfingosina nas placentas de gestantes com COVID-19 ($p < 0,05$), indicando maior número de histiócitos de Hofbauer com predominância do fenótipo M2. A expressão de esfingosina apresentou valores mais elevados em gestantes com COVID-19 associada ao diabetes, embora essa associação não tenha atingido significância estatística quando analisada isoladamente segundo fatores maternos ou fetais. As comorbidades maternas foram mais frequentes no grupo COVID-19 (52,1% vs. 36,36%), sem diferença estatística, e os distúrbios hipertensivos da gestação ocorreram exclusivamente nesse grupo (11,3%). Não foram observadas diferenças significativas quanto à idade materna, idade gestacional ao parto, peso neonatal ou sexo dos recém-nascidos. As alterações histopatológicas placentárias foram frequentes em ambos os grupos, sem diferença estatisticamente significativa.

Palavras-chave: SARS-CoV-2; COVID-19; placenta; células de Hofbauer; gestantes.

ABSTRACT

COVID-19, a disease caused by the severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2), was declared a pandemic by the World Health Organization (WHO) in 2020 and is characterized by high transmissibility through respiratory droplets. Although many cases are asymptomatic or mild, individuals with comorbidities are at increased risk of severe disease progression. During pregnancy, maternal physiological changes increase susceptibility to complications associated with viral respiratory infections. In this context, the present study aimed to analyze the placental immune response in pregnant women with COVID-19, with emphasis on the identification, quantification, and phenotypic characterization of Hofbauer cells, as well as the expression of the immunomarkers CD68, iNOS, and sphingosine in placental villi. This was a cross-sectional study with retrospective data collection, conducted between May 2020 and December 2021 in two hospitals in the city of Curitiba, Brazil. A total of 71 placentas from pregnant women with confirmed COVID-19 and 11 placentas from pregnant women without a history of infection, collected during the pre-pandemic period, were included. The samples were subjected to histopathological and immunohistochemical analyses, as well molecular detection of SARS-CoV-2 by RT-qPCR. Immunostaining was performed using anti-CD68 antibodies, a macrophage marker; iNOS, associated with the pro-inflammatory M1 phenotype; and sphingosine, related to the anti-inflammatory M2 phenotype. Quantification of Hofbauer cells was carried out through morphometric analysis of placental villi, and the data were subjected to statistical analysis considering maternal, gestational, and fetal factors. A significant increase in the expression of CD68 and sphingosine was observed in the placentas of pregnant women with COVID-19 ($p < 0.05$), indicating a higher number of Hofbauer cells with predominance of the M2 phenotype. Sphingosine expression showed higher values in pregnant women with COVID-19 associated with diabetes; however, this association did not reach statistical significance when analyzed separately according to maternal or fetal factors. Maternal comorbidities were more frequent in the COVID-19 group (52.1% vs. 36.36%), with no statistically significant difference, and hypertensive disorders of pregnancy occurred exclusively in this group (11.3%). No significant differences were observed regarding maternal age, gestational age at delivery, neonatal birth weight, or newborn sex. Placental histopathological alterations were frequent in both groups, with no statistically significant difference between them.

Keywords: SARS-CoV-2; COVID-19; placenta; Hofbauer cells; pregnant women.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - Interface fetomaternal da placenta.....	24
FIGURA 2 - Estrutura do SARS-CoV-2 e seu meio de entrada na célula hospedeira.....	32
FIGURA 3 - Diferentes mecanismos de infecção viral e transmissão vertical do SARS- CoV-2 na placenta.....	33
FIGURA 4 - Esquema demonstrando confecção do TMA.....	40
FIGURA 5 - Fluxograma da análise morfométrica.....	42
FIGURA 6 - Contagem de células totais por marcador no grupo COVID-19 comparado ao grupo não COVID-19.....	48
FIGURA 7 - Análise quantitativa e histológica dos fenótipos das células de hofbauer em placentas de gestações com e sem COVID-19.....	50
FIGURA 8 - Alterações imunopatológicas nas vilosidades coriônicas de placentas de mães infectadas com SARS-CoV-2.....	51

LISTA DE QUADROS

QUADRO 1 – ALTERAÇÕES MICROSCÓPICAS AVALIADAS.....	39
--	----

LISTA DE TABELAS

TABELA 1- RELAÇÃO DOS ANTICORPOS MONOCLONAIS UTILIZADOS NO ESTUDO.....	41
TABELA 2 - COMPARAÇÃO ENTRE AS INFORMAÇÕES CLÍNICAS DAS GESTANTES DO GRUPO COVID-19 E NÃO COVID-19.....	47
TABELA 3 - PERFIL CLINICO DA COVID 19 NAS PACIENTES DURANTE A GRAVIDEZ.....	48
TABELA 4 - ANÁLISE DA EXPRESSÃO DE CD68, ESFINGOSINA E iNOS ENTRE OS GRUPOS COVID-19 E NÃO COVID-19.....	45
TABELA 5 - ANÁLISE DA EXPRESSÃO DE CD68, ESFINGOSINA E iNOS EM PACIENTES COM COVID-19: COMPARAÇÃO ENTRE INDIVÍDUOS COM E SEM COMORBIDADES.....	52
TABELA 6 - ANÁLISE DA EXPRESSÃO DE CD68, ESFINGOSINA E iNOS EM PACIENTES COM COVID-19: COMPARAÇÃO ENTRE INDIVÍDUOS COM E SEM DIABETES MELLITUS.....	52
TABELA 7 - ANÁLISE DA EXPRESSÃO DE CD68, ESFINGOSINA E iNOS EM PACIENTES COM COVID-19: COMPARAÇÃO ENTRE INDIVÍDUOS COM E SEM OBESIDADE.....	53
TABELA 8 - ANÁLISE DA EXPRESSÃO DE CD68, ESFINGOSINA E iNOS EM PACIENTES COM COVID-19: COMPARAÇÃO ENTRE INDIVÍDUOS COM E SEM DOENÇA HIPERTENSIVA ESPECÍFICA DA GESTAÇÃO.....	53
TABELA 9 - ANÁLISE DA EXPRESSÃO DE CD68, ESFINGOSINA E iNOS EM PACIENTES COM COVID-19: COMPARAÇÃO ENTRE OS TRIMESTRES DE INFECÇÃO.....	54
TABELA 10 - ANÁLISE DA EXPRESSÃO DE CD68, ESFINGOSINA E iNOS EM PACIENTES COM COVID-19: COMPARAÇÃO ENTRE A GRAVIDADE DA DOENÇA.....	55
TABELA 11 - ANÁLISE DA EXPRESSÃO DE CD68, ESFINGOSINA E iNOS EM PACIENTES COM COVID-19: ÓBITO NEONATAL	55
TABELA 12 - ANÁLISE DA EXPRESSÃO DE CD68, ESFINGOSINA E iNOS EM	

PACIENTES COM COVID-19: SEXO NEONATAL...	56
TABELA 13 - ANÁLISE DA EXPRESSÃO DE CD68, ESFINGOSINA E iNOS EM PACIENTES COM COVID-19: SINTOMAS NEONATAIS DE COVID- 19.....	57
TABELA 14 - ANÁLISE DA EXPRESSÃO DE CD68, ESFINGOSINA E iNOS EM PACIENTES COM COVID-19: COMPARAÇÃO ENTRE ANORMALIDADES PLACENTÁRIAS MACROSCÓPICAS.....	57
TABELA 15 - ANÁLISE DA EXPRESSÃO DE CD68, ESFINGOSINA E iNOS EM PACIENTES COM COVID-19: DETECÇÃO DE RNA SARS-COV-2 EM VILOSIDADES PLACENTÁRIAS.....	58

LISTA DE ABREVIATURAS

2019-nCoV	Novo Coronavírus de 2019
CD68	Agrupamento de Diferenciação 68 (do inglês, <i>Cluster of Differentiation 68</i>)
CGA	Campos de Grande Aumento
CHC-UFPR	Complexo Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná.
COVID-19	Doença causada pelo Coronavírus 19 (do inglês, <i>Corona Virus Disease 2019</i>)
DHEG	Doença Hipertensiva Específica da Gestação
DNA	Ácido Desoxirribonucleico (do inglês, <i>Deoxyribonucleic acid</i>)
ECA2	Enzima Conversora de Angiotensina 2
eNOS	Óxido Nítrico Sintase Endotelial (do inglês, <i>Endothelial Nitric Oxide Synthase</i>)
ERGIC	Compartimento Intermediário Retículo Endoplasmático-Golgi (do inglês, <i>Endoplasmic Reticulum-Golgi Intermediate Compartment</i>)
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana (do inglês, <i>Human Immunodeficiency Virus</i>)
HBC	Célula de Hofbauer (do inglês <i>Hofbauer cells</i>)
IFN- γ	Interferon γ
IgG	Imunoglobulina G
IL-10	Interleucina 10
IL-4	Interleucina-4
iNOS	Óxido Nítrico Sintase induzível (do inglês <i>Inducible Nitric Oxide synthase</i>)
kDa	Abreviação de quiloDalton
LPS	Lipopolissacarídeo (do inglês, <i>lipopolysaccharide</i>)
MERS-CoV	Coronavírus da Síndrome Respiratória do Oriente Médio (do inglês, <i>Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus</i>).
MHC	Complexo Principal de Histocompatibilidade (do inglês <i>major histocompatibility complex</i>)
NK	Exterminador Natural (do inglês, <i>Natural Killer</i>)

nNOS	Óxido Nítrico Sintase neuronal (do inglês, <i>Neuronal Nitric Oxide Synthase</i>)
NO	Óxido Nítrico (do inglês, <i>Nitric Oxide</i>)
NOS	Óxido Nítrico Sintase (do inglês, <i>Nitric Oxide Synthase</i>)
NSP	Proteína Não Estrutural (do inglês, <i>Non-Structural Protein</i>)
ORF	Quadro de Leitura Aberto (do inglês <i>Open Reading Frame</i>)
ORFs	Quadros de Leitura Abertos (do inglês, <i>Open Reading Frames</i>)
PGE2	Prostaglandina
RBD	Domínio de Ligação do Receptor (do inglês <i>Receptor Binding Domain</i>)
RBM	Proteínas de Motivo de Ligação a RNA (do inglês, RNA-binding motif proteins)
RE	Retículo Endoplasmático
RNA	Ácido Ribonucleico (do inglês, <i>Ribonucleic Acid</i>)
ROS	Espécies Reativas de Oxigênio (do inglês, <i>Reactive Oxygen Species</i>)
RTC	Complexo Replicase-Transcriptase
RT-qPCR	Transcrição Reversa seguida da Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real (do inglês <i>Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction</i>).
S1P	Esfingosina-1-Fosfato
SARS	Síndrome Respiratória Aguda Grave (do inglês <i>Severe Acute Respiratory Syndrome</i>).
SARS-CoV inglês	Coronavírus da Síndrome Respiratória Aguda Grave (do inglês <i>Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus</i>).
SARS-CoV-2	Coronavírus 2 da Síndrome Respiratória Aguda Grave (do inglês <i>Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2</i>)
SIVEP	Sistema de Informação de Vigilância Epidemiológica
SPHK1	Esfingosina Cinase do tipo 1
SRAG	Síndrome Respiratória Aguda Grave

ssRNA	Ácido ribonucleico de fita simples (do inglês, <i>single-stranded</i>
RNA) TCLE	Termo de consentimento livre e esclarecido
TMA	Microarranjo de Tecidos (do inglês, <i>Tissue Microarray</i>)
TMPRSS2	Serino Protease Transmembranar do Tipo 2 (do inglês, <i>Transmembrane Protease Serine 2</i>)

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	19
1.1 OBJETIVOS	20
1.1.1 Objetivo geral.....	20
1.1.2 Objetivos específicos.....	20
1.1.3 Justificativa	20
2. REVISÃO DE LITERATURA	22
2.1 A PLACENTA HUMANA	22
2.2 CÉLULAS DE HOFBAUER	24
2.3 PLASTICIDADE FENOTÍPICA DOS HISTIÓCITOS DE HOFBAUER.....	25
2.4 O MARCADOR CD68.....	26
2.5 O MARCADOR INOS	27
2.6 O MARCADOR ESFINGOSINA	27
2.7 O SARS-CoV-2	28
2.8 CICLO REPLICATIVO DO SARS-COV-2.....	29
2.9 PATOGÊNESE VIRAL	30
2.10 TRANSMISSÃO VERTICAL DO SARS-CoV-2.....	32
2.11 A COVID-19 EM GESTANTES	34
3 MATERIAL E MÉTODOS	36
3.1 DESENHO DO ESTUDO	36
3.2 COLETA DE DADOS CLÍNICOS, DEMOGRÁFICOS E EPIDEMIOLÓGICOS.....	36
3.3 CASUÍSTICA	36
3.4 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO	37
3.5 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO	37
3.6 COLETA DAS AMOSTRAS	37
3.7 ENSAIOS IMUNOHISTOQUÍMICOS.....	39
3.7.1 <i>Tissue Microarray</i>	39
3.7.2 Imunohistoquímica.....	40
3.8 ANÁLISE MORFOMÉTRICA (CONTAGEM DE HISTIÓCITOS DE HOFBAUER).....	41
3.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA	42
4 RESULTADOS	44
4.1 CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS E PATOLÓGICAS DAS GESTANTES	44
4.2 CONTAGEM DAS CÉLULAS MARCADAS COM CD68, INOS E ESFINGOSINA.....	47
4.3 ANÁLISE DA EXPRESSÃO DE CD68, INOS E ESFINGOSINA ENTRE O GRUPO COVID-19 E NÃO-COVID-19.	48
4.4 IMUNO-HISTOQUÍMICA	48
4.5 ANÁLISE DA EXPRESSÃO DE CD68, INOS E ESFINGOSINA EM PACIENTES COM COVID-19: COMPARAÇÃO ENTRE INDIVÍDUOS COM E SEM COMORBIDADES.....	50
4.6 ANÁLISE DA EXPRESSÃO DE CD68, INOS E ESFINGOSINA EM PACIENTES COM COVID-19: COMPARAÇÃO ENTRE INDIVÍDUOS COM E SEM DIABETES	51
4.7 ANÁLISE DA EXPRESSÃO DE CD68, INOS E ESFINGOSINA EM	

PACIENTES COM COVID-19: COMPARAÇÃO ENTRE INDIVÍDUOS OBESOS E NÃO OBESOS.....	52
4.8 ANÁLISE DA EXPRESSÃO DE CD68, INOS E ESFINGOSINA EM PACIENTES COM COVID-19: COMPARAÇÃO ENTRE INDIVÍDUOS COM E SEM DHEG	52
4.9 ANÁLISE DA EXPRESSÃO DE CD68, INOS E ESFINGOSINA EM DIFERENTES TRIMESTRES GESTACIONAIS	53
4.10 ANÁLISE DA EXPRESSÃO DE CD68, INOS E ESFINGOSINA EM RELAÇÃO À INTENSIDADE DA COVID (LEVE/ASSINTOMÁTICO, MODERADO, GRAVE)	54
4.11 ANÁLISE DA EXPRESSÃO DE CD68, INOS E ESFINGOSINA EM RELAÇÃO AO ÓBITO NEONATAL (DENTRO DO GRUPO COVID)	54
4.12 ANÁLISE DA EXPRESSÃO DE CD68, INOS E ESFINGOSINA EM RELAÇÃO AO SEXO DO RECÉM NATO NAS GESTANTES COM COVID-19	55
4.13 ANÁLISE DA EXPRESSÃO DE CD68, INOS E ESFINGOSINA EM RECÉM- NASCIDOS COM SINTOMAS DE COVID-19.....	55
4.14 ANÁLISE DA EXPRESSÃO DE CD68, INOS E ESFINGOSINA NA PRESENÇA DE ALTERAÇÕES MACROSCÓPICAS NA PLACENTA.....	56
4.15 ANÁLISE DA EXPRESSÃO DE CD68, INOS E ESFINGOSINA NA PRESENÇA DO SARS-COV-2 NA VILOSIDADE.....	57
5 DISCUSSÃO	58
6 CONCLUSÃO	62
REFERÊNCIAS	63
ANEXO I - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE).....	77
ANEXO 2 - PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA	80

1. INTRODUÇÃO

A síndrome respiratória aguda grave do coronavírus 2 (SARS-CoV-2), também conhecida como COVID-19, foi reconhecida como pandemia pela OMS em março de 2020 (Tolu; Ezech; Feyissa, 2021).

O SARS-CoV-2, agente etiológico da COVID-19, pode causar infecções assintomáticas ou leves, mas indivíduos com comorbidades têm maior risco de complicações e evolução para quadros graves (Nobrega *et al.*, 2021). Alterações fisiológicas da gestação aumentam a vulnerabilidade materna a formas graves de infecções respiratórias (Fenizia *et al.*, 2020), enquanto surtos anteriores pelo Coronavirus da Síndrome respiratória aguda grave (SARS-CoV) e o Coronavírus da Síndrome Respiratória do Oriente Médio (MERS-CoV) já indicavam aumento da morbimortalidade em gestantes (Nobrega *et al.*, 2021). No Brasil, até novembro de 2025, foram registrados 8034 casos de SRAG por COVID-19 em gestantes e puérperas, segundo o SIVEP-Gripe (OOBr, 2021).

As células de origem fetal, chamadas de células de Hofbauer (HBCs), são macrófagos placentários que auxiliam na prevenção da transmissão vertical de patógenos e na reestruturação do estroma, promovendo a plasticidade das vilosidades coriônicas (Allen; Barry, 1970). Como outros macrófagos, as HBCs apresentam diferentes perfis: M1 (pró-inflamatórios) e M2 (imunomoduladores e reparadores) (Mosser; Edwards, 2008).

Células de Hofbauer possuem alta plasticidade funcional, com predomínio do fenótipo M2 ao longo da gestação e maior presença de M1 no início e no final (Yao *et al.*, 2019).. A caracterização dos HBCs utiliza marcadores como CD68, uma glicoproteína lisossomal amplamente expressa por macrófagos (Holness; Simmons, 1993). Além disso, a Óxido nítrico sintase induzível (iNOS) está associada ao perfil inflamatório M1, enquanto a enzima esfingosina quinase 1 (SPHK1) e a molécula Esfingosina-1-fosfato (S1P) refletem funções anti-inflamatórias dos M2 (Sica; Mantovani, 2014). Esses marcadores auxiliam na compreensão dos papéis dos HBCs na saúde e na doença gestacional.

Sendo assim, a análise das Células de Hofbauer e de seus fenótipos, por meio da imunohistoquímica para marcadores como CD68, iNOS e esfingosina, é essencial para compreender os mecanismos de infecção transplacentária e seus desfechos fetais na COVID-19.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo geral

Identificar, quantificar, caracterizar fenotipicamente os Histiócitos de Hofbauer nos vilos placentários de acordo com o diagnóstico de COVID-19

1.1.2 Objetivos específicos

- Quantificar as células marcadas com CD68 na porção da vilosidade de acordo com a positividade no grupo de gestantes com COVID-19 e no grupo NÃO COVID-19.

- Comparar a expressão tecidual do imunomarcador iNOS na porção da vilosidade, entre o grupo de gestantes com COVID-19 e o grupo NÃO COVID-19.

- Comparar a expressão tecidual do imunomarcador Esfingosina na porção da vilosidade, entre o grupo de gestantes com COVID-19 e o grupo NÃO COVID-19.

- Analisar a expressão tecidual dos imunomarcadores iNOS e Esfingosina nas gestantes de acordo com fatores maternos (idade, comorbidades, intensidade da doença, etc), gestacionais (idade gestacional, características da placenta, etc) e fatores do conceito (Escala de APGAR, peso ao nascer, sexo, etc.).

- Comparar a expressão tecidual dos imunomarcadores iNOS e Esfingosina de acordo com a presença do SARS-CoV-2 na vilosidade no grupo das gestantes COVID-19.

1.1.3 Justificativa

A transmissão vertical do SARS-CoV-2 ainda apresenta lacunas importantes quanto aos mecanismos imunológicos que envolvem a placenta. Sendo assim, diante da escassez de evidências morfológicas e funcionais sobre os Histiócitos de Hofbauer em placentas infectadas, é fundamental investigar sua distribuição e possíveis alterações fenotípicas induzidas pelo vírus. Essa abordagem pode esclarecer o papel dessas células na contenção ou facilitação

da passagem transplacentária do SARS- CoV-2, ampliando o entendimento sobre os riscos à saúde materno-fetal.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 A PLACENTA HUMANA

A placenta é um órgão de formato discóide, medindo aproximadamente 22 cm de diâmetro, espessura central de 2,5 cm e peso médio de 500 g. Em suas superfícies estão a placa coriônica que fica de frente para o feto onde se liga o cordão umbilical, e a placa basal que se delimita com o endométrio materno. Entre as placas há uma cavidade chamada espaço interviloso, no qual se projetam 30 a 40 vilosidades fetais ramificadas. Cada árvore vilosa surge de uma vilosidade do caule fixada na superfície profunda da placa coriônica e se ramifica repetidamente criando um lóbulo globular com 1–3 cm de diâmetro, que representa uma unidade de troca materno-fetal independente (Burton, G. J.; Fowden, A. L., 2015).

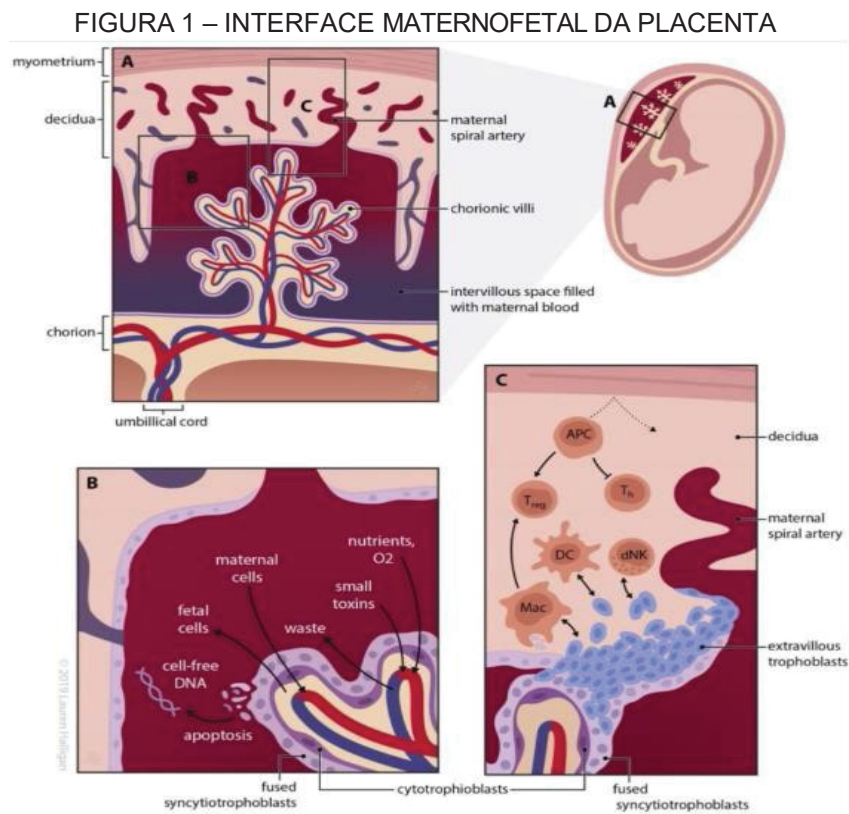
Entre suas funções, estão a proteção imunológica para o feto, o transporte de nutrientes e oxigênio e o descarte de produtos residuais fetais; também ajudam a reter fisicamente o conceito no trato reprodutivo, comandam o suprimento sanguíneo materno local, além de liberar hormônios metabólicos para ajustar as necessidades do feto aos recursos fornecidos pela mãe (Roberts, R. M.; Green, J. A.; Schulz, L. C., 2016.).

Nos primeiros estágios da gestação, o sistema imunológico materno é pró-inflamatório, ajudando no desenvolvimento do embrião e da placenta. Com a gravidez estabelecida, o sistema imunológico e os trofoblastos do feto e da placenta, liberam citocinas anti-inflamatórias para proteger o feto do ataque imunológico induzido pelo corpo da mãe. No terceiro trimestre, o sistema imunológico se torna pró-inflamatório novamente para induzir o parto e a separação da placenta após o nascimento (Mor G., Aldo P., Alvero A. B, 2017).

Ao refletir sobre como a mãe consegue sustentar, por semanas ou meses, um feto antigenicamente distinto sem que ocorra rejeição imunológica, surge o chamado “paradoxo de Medawar”. Proposto pelo biólogo Peter Medawar em 1953, esse conceito descreve o enigma de como um feto semi-alogênico sobrevive no útero materno sem ser reconhecido como corpo estranho, e, para explicar esse fenômeno, Medawar (1953) propôs três hipóteses principais: A primeira é a separação anatômica entre mãe e feto pela placenta; a segunda refere-se à imaturidade dos antígenos fetais, prejudicando

sua capacidade de provocar uma resposta imune efetiva e a terceira seria pela inércia do sistema imunológico materno durante a gravidez (Medawar, 1953). Suas hipóteses não foram provadas como corretas, e ainda hoje não se tem explicação para o paradoxo.

Na placenta, existe a interface materno-fetal, uma região especializada que equilibra o contato entre tecidos fetais e maternos, assegurando a nutrição do feto e a tolerância imunológica. Durante a implantação do embrião, trofoblastos fetais invadem a decídua materna e formam vilosidades coriônicas, que entram em contato direto com o sangue materno e permitem as trocas gasosas e nutricionais (Moore; Persaud; Torchia, 2020), assim, a placenta atua como barreira semipermeável, promovendo a passagem seletiva de substâncias ao feto e a eliminação de resíduos. Também ocorre apoptose dos sinciciotrofoblastos liberando fragmentos com Ácido Desoxirribonucleico (DNA) fetal na circulação materna, sendo esse ambiente regulado por macrófagos e células *natural killer* (NK) deciduais, enquanto a ausência de vasos linfáticos limita a ativação de respostas maternas contra o feto (Rendell, *et al.*, 2020).



FONTE: RENDELL V., BATH N. M., BRENNAN T. V., 2020.

(A) Trofoblastos fetais invadem a decídua materna, formando vilosidades coriônicas em contato

com o sangue materno para troca de nutrientes e oxigênio.
(B) A placenta atua como barreira semipermeável; apoptose do sinciotrofoblasto libera material fetal na circulação materna.
(C) A comunicação imune materno-fetal envolve células APC, macrófagos e células NK decíduais, essenciais para a tolerância imunológica.
NOTA: legenda modificada de RENDELL V., BATH N. M., BRENNAN T. V., 2020.

2.2. CÉLULAS DE HOFBAUER

Durante a gestação, a interface materno-fetal é rica em células imunes provenientes tanto do feto quanto da mãe. Esta é formada pelas vilosidades, originada do feto, e pela decídua, derivada da mãe. Seu papel é equilibrar as complexidades imunológicas da gestação, sem comprometer o desenvolvimento do feto ou a saúde materna (Megli, C., Coyne, C. B., 2021). As células de defesa localizadas nas vilosidades placentárias, derivadas do feto, são denominadas células de Hofbauer (HBCs), e foram descritas pela primeira vez por Hofbauer em 1903, em um estudo com placentas infectadas por *Treponema pallidum* (Hofbauer, 1903).

Também denominadas Histiócitos de Hofbauer, correspondem a um tipo específico de macrófago placentário. O termo histiócito foi introduzido por Aschoff e Kiyono (1913) para designar células fagocíticas presentes em tecidos, tendo origem na medula óssea e apresentando notável plasticidade, podendo se diferenciar de acordo com os sinais do microambiente, como citocinas e fatores de crescimento (Aschoff; Kiyono, 1913). Dessa maneira, podem evoluir para dois principais tipos celulares: as células dendríticas, responsáveis pela apresentação de antígenos ao sistema imunológico, ou macrófagos teciduais, especializados na digestão de partículas e microrganismos (Busam; Amin; Pulitzer, 2010).

Os HBCs derivam de macrófagos provenientes do saco vitelínico e representam componentes iniciais do sistema imunológico fetal. Durante estágios específicos do desenvolvimento embrionário, precursores de macrófagos oriundos do saco vitelínico migram para o embrião, majoritariamente por meio de tráfego intravascular, onde contribuem para a colonização de tecidos embrionários e o estabelecimento de populações residentes de macrófagos (Ginhoux *et al.*, 2022).

As células macrofágicas descritas acima são encontradas em abundância na placenta humana do primeiro trimestre, embora estejam presentes durante toda a gravidez. As HBCs são a única população de células imunes fetais dentro do

estroma da placenta saudável. Segundo Thomas *et al.*, os macrófagos placentários humanos são identificados no primeiro trimestre e as células de Hofbauer fazem uma proteção adicional por toda gestação (Thomas, *et al.*, 2020). As HBCs podem aumentar em número nas vilosidades coriônicas da placenta em caso de infecções, embora estejam presentes em menor número em gestações normais (Ferreira; Lima, 2018).

Reyes & Golos (2018) mostram que as células de Hofbauer apresentam perfil semelhante aos macrófagos M2 e são essenciais para o desenvolvimento placentário, atuando na vasculogênese e angiogênese. Em contextos inflamatórios, podem secretar citocinas pró-inflamatórias, comprometer a barreira vilosa e induzir fibrose. A expressão do marcador CD68 varia com a gestação, aumentando no segundo trimestre e reduzindo-se posteriormente (Reyes; Golos, 2018).

Em um outro estudo, Gosain *et al.* também observaram um aumento significativo no número de macrófagos CD68, localizados próximos às paredes dos vasos sanguíneos fetais dentro do estroma viloso, na placenta de gestantes portadoras de diabetes em relação aos controles (Gosain; Motwani; Anupama, 2022)

2.3. PLASTICIDADE FENOTÍPICA DOS HISTIÓCITOS DE HOFBAUER

Existem três populações distintas de macrófagos ativados, cada uma com suas particularidades fisiológicas (Mosser, D. M., Edwards J.P, 2008). O primeiro com perfil inflamatório associado a defesa do hospedeiro, é ativado por lipopolissacarídeo (LPS) e interferon- γ (IFN- γ), sendo denominado de ativação clássica e designado como M1. Por outro lado, estão os macrófagos M2, de ativação alternativa, possuindo funções de reparo, ocorrendo na presença de IL-4, e os de regulação imunológica, induzidos por fatores imunomoduladores (Mosser, D. M., Edwards J.P, 2008).

A plasticidade funcional dos macrófagos permite que essas células adaptem suas funções conforme os estímulos do microambiente, participando tanto da defesa contra patógenos quanto da regulação da resposta imune e da reparação tecidual. Os macrófagos M1 estão relacionados à ativação e manutenção da inflamação, enquanto os macrófagos M2 atuam na modulação da resposta

inflamatória, remodelação tecidual, eliminação de parasitas e manutenção da homeostase (Joerink, *et al.*, 2011; Martinez; Helming; Gordon, 2009). Esse equilíbrio entre os fenótipos M1 e M2 é essencial para a resposta imune eficaz e o controle de processos inflamatórios. Os Histiócitos de Hofbauer (HBCs) também apresentam plasticidade morfológica e funcional ao longo da gestação, modificando-se conforme as demandas do ambiente placentário (Reyes; Wolfe; Golos, 2017). Esses macrófagos fetais atuam na tolerância imunológica materno-fetal, exibindo predominantemente um fenótipo M2. Além disso, contribuem para a homeostase placentária, remoção de detritos celulares, regulação da resposta imune fetal e para processos fundamentais como a angiogênese e a vasculogênese (Goldstein *et al.*, 1988).

Yao *et al.* (2019) em sua revisão, demonstra a polarização dos macrófagos e seus mecanismos reguladores durante a gravidez, destacando os papéis dessas células em processos patológicos. Os macrófagos podem evoluir para fenótipos pró- inflamatórios (M1), predominantemente no primeiro trimestre associando-se à implantação e invasão do trofoblasto, ou anti-inflamatórios (M2) nos trimestres seguintes, enquanto próximo ao parto, há uma mudança do fenótipo M2 para M1 novamente (Yao, Y.; Xu, X.-H.; Jin, L., 2019).

2.4.O MARCADOR CD68

A proteína CD68 é uma glicoproteína transmembrana de aproximadamente 110 kDa, fortemente expressa em monócitos circulantes e macrófagos residentes nos tecidos. Embora sua função exata ainda não esteja completamente elucidada, sabe-se que ela é amplamente utilizada como marcador imunohistoquímico para identificação dessas células. Estudos demonstram que anticorpos direcionados ao CD68 reconhecem consistentemente essa proteína tanto em monócitos sanguíneos quanto em macrófagos teciduais, o que reforça sua confiabilidade como marcador macrofágico (Holness; Simmons, 1993; Knapp *et al.*, 1991).

Classificada como membro da família das glicoproteínas associadas a lisossomos, CD68 encontra-se predominantemente distribuída nos compartimentos intracelulares, como lisossomos e endossomos. Essa proteína contém um domínio produtor de muco extensamente glicosilado e apresenta a capacidade de migração rápida para a superfície celular em determinadas

condições (Chistiakov *et al.*, 2017). No contexto da placenta, CD68 tem sido amplamente aplicada na caracterização imunofenotípica dos macrófagos fetais, como os histiócitos de Hofbauer, e das células decíduais maternas, contribuindo para o entendimento de sua distribuição e função ao longo das diferentes fases gestacionais (Mezouar *et al.*, 2021).

2.5 O MARCADOR iNOS

Durante o processo de resposta imune, a fagocitose desempenha um papel fundamental na eliminação de agentes patogênicos, com os fagossomos se fundindo com os lisossomos durante a fagocitose, desencadeando a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS). Isso acontece também no estroma viloso, onde as HBCs também contribuem para a geração dessas moléculas, intensificando a resposta oxidativa (Thomas, *et al.*, 2020).

Nesse sentido, os macrófagos M1 produzem grandes quantidades de citocinas pró-inflamatórias, podendo gerar óxido nítrico (NO). Também expressam altos níveis de moléculas MHC, que tem como função eliminar patógenos e células tumorais (Sica, A.; Invernizzi, P.; Mantovani, A., 2014).

Nos mamíferos, a óxido nítrico sintase (NOS) apresenta três isoformas distintas: a neuronal (nNOS), expressa principalmente em neurônios; a endotelial (eNOS), presente nas células endoteliais; e a indutível (iNOS), cuja expressão é estimulada em determinadas condições (Kleinert; Schwarz; Förstermann, 2003). Entre elas, o iNOS é produzido predominantemente por macrófagos e, em condições normais, mantém-se em níveis muito baixos. Sua expressão aumenta significativamente quando essas células são ativadas por moléculas pró-inflamatórias, produtos bacterianos ou agentes infecciosos, desempenhando um papel importante na resposta imune e nos processos inflamatórios (Kleinert *et al.*, 2004).

2.6 O MARCADOR ESFINGOSINA

Os macrófagos M2 caracterizam-se pela produção de interleucinas, arginase 1 e da enzima esfingosina quinase tipo 1 (SPHK1), que possuem funções anti-inflamatórias e reparadoras de tecidos (SICA; Invernizzi; Mantovani, 2014). A

esfingosina gerada nesse processo é convertida em esfingosina-1-fosfato (S1P) por meio da ação das esfingosina quinases. A S1P atua como uma importante molécula sinalizadora, ligando-se a receptores específicos na membrana celular e ativando vias intracelulares relacionadas à migração celular, resposta imune e processos inflamatórios (Spiegel; Milstien, 2002).

Esses macrófagos M2, também conhecidos como macrófagos regulatórios, podem ser induzidos por diferentes estímulos, como imunocomplexos, lipopolissacarídeo (LPS), prostaglandina E2 (PGE2) e IL-10 (Mosser; Edwards, 2008). Dessa forma, exercem papel essencial na modulação da inflamação e na restauração da homeostase tecidual, contribuindo para o equilíbrio entre a defesa imunológica e a reparação dos tecidos.

2.7 O SARS-CoV-2

O SARS-CoV-2 é o agente responsável por aproximadamente 779 milhões de casos de COVID-19 notificados à Organização Mundial da Saúde (OMS) até outubro de 2025 (WHO, 2025). É um coronavírus que pertence à subfamília *Coronavirinae*, da família *Coronaviridae*, que é composta por quatro gêneros: *Alphacoronavirus*, *Betacoronavirus*, *Gammacoronavirus* e *Deltacoronavirus* (Wang, *et al.*, 2020).

O genoma dos coronavírus possui entre 27 e 32 kb (Brian; Baric, 2019), sendo seu genoma composto por uma molécula de ácido ribonucleico (RNA) de fita simples, com sentido positivo (+ssRNA) (Su, *et al.*, 2016). Trata-se do maior genoma entre os vírus de RNA conhecidos (Lee, *et al.*, 1991).

Análises genéticas iniciais mostraram que o novo coronavírus de 2019 (2019-nCoV) compartilha cerca de 88% de identidade genômica com coronavírus do tipo SARS isolados de morcegos. Estudos filogenéticos o classificaram no subgênero *Sarbecovirus*, do gênero *Betacoronavirus*, destacando sua relação evolutiva com o SARS-CoV. Modelagens por homologia indicaram que o vírus possui estrutura de domínio de ligação ao receptor (RBD) semelhante à do SARS-CoV, mas com diferenças em aminoácidos-chave, que podem alterar sua afinidade pelo receptor ECA2 e sua patogenicidade (Lu *et al.*, 2020).

Estruturalmente, o SARS-CoV-2 apresenta projeções de cerca de 200 Å de comprimento, com formato arredondado ou semelhante a pétalas, que lembram

uma coroa, característica responsável pela denominação da família *Coronaviridae* (Almeida *et al.*, 1968; Brian; Baric, 2019; Su *et al.*, 2016). Essas projeções correspondem às glicoproteínas de espícula (*spike*), estruturas fundamentais para o reconhecimento e a ligação do vírus às células hospedeiras, determinando, assim, sua capacidade de infecção e tropismo celular (Wrapp *et al.*, 2020).

2.8 CICLO REPLICATIVO DO SARS-COV-2

O SARS-CoV-2 inicia o processo de infecção ligando-se à enzima conversora de angiotensina (ECA2) por meio da proteína Spike (S) presente no envelope viral. Essa interação é seguida por fusão direta com a membrana plasmática, mediada pela protease TMPRSS2, ou por endocitose via endossomos, com ativação pela catepsina L (Hoffmann *et al.*, 2020; Jackson *et al.*, 2022).

Após a fusão, o genoma de RNA de fita simples e sentido positivo é liberado no citoplasma, pronto para tradução imediata (V'kovski *et al.*, 2021). O RNA do SARS-CoV-2 contém as regiões de leitura abertas (ORFs) 1a e 1b, responsáveis por produzir duas grandes poliproteínas, chamadas pp1a e pp1ab. Essas moléculas são produzidas por um deslizamento especial do ribossomo e posteriormente clivadas pelas enzimas virais NSP3 e NSP5, gerando proteínas não estruturais (NSP), as NSP1 até NSP16, que formam o complexo replicase-transcriptase (RTC), essencial para a multiplicação do vírus (Snijder *et al.*, 2020; Kim *et al.*, 2020).

O RTC sintetiza primeiro uma fita de RNA negativa (–), que serve de molde para a produção de novas fitas de RNA positivo e um conjunto de mRNAs subgenômicos, codificando proteínas estruturais (S, E, M, N) e acessórias (Kim *et al.*, 2020; Malone *et al.*, 2022). As proteínas S, E e M são sintetizadas no retículo endoplasmático (RE) e transportadas para o Compartimento Intermediário Retículo Endoplasmático-Golgi (ERGIC), onde ocorre a montagem dos novos vírions. O RNA genômico associa-se à proteína N, formando o nucleocapsídeo (Klein *et al.*, 2020; V'kovski *et al.*, 2021). Finalmente, os vírions são transportados em vesículas até a membrana plasmática e liberados por exocitose, completando o ciclo replicativo (V'kovski

et al., 2021; Klein *et al.*, 2020).

2.9 PATOGÊNESE VIRAL

Em relação às vias de transmissão, estudos têm demonstrado que os coronavírus humanos possuem diferentes mecanismos de disseminação entre os indivíduos. Estes são disseminados principalmente por meio de gotículas respiratórias, embora também possam ser transmitidos por aerossóis e pelo contato direto com superfícies contaminadas (Li, Y. *et al.*, 2005; Bueckert, M. *et al.*, 2020).

Nos primeiros relatos clínicos, os pacientes apresentavam sintomas como tosse, alterações pulmonares do tipo opacidades em vidro fosco e, em alguns casos, evolução para quadros de pneumonia grave. Essas evidências sintomáticas sugeriram que o SARS-CoV-2 seria transmitido por via respiratória, além disso, esta revisão sistemática apontou que o SARS-CoV-2 presente nas fezes é infeccioso, porém não foram encontradas evidências diretas e conclusivas de transmissão fecal-oral entre seres humanos (Harrison, A. G.; Lin, T.; Wang, P., 2020).

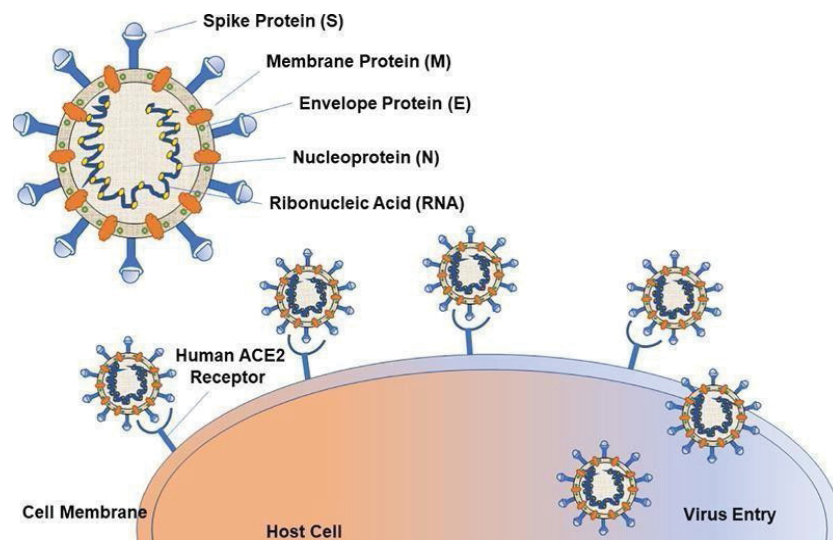
No que se refere às características genéticas, a filogenia da proteína *spike* do 2019-nCoV está relacionada a outros coronavírus do tipo SARS da linhagem β do gênero β . Esse vírus é ancestral tanto do SARS-CoV humano, cuja cepa epidêmica foi isolada em 2002, quanto das cepas de SARS-CoV de morcego, que utilizam a ECA2 para invadir e infectar as células (Wan, Y. *et al.*, 2020).

A transmissibilidade deste vírus entre humanos ocorre pela capacidade do SARS-CoV-2 em utilizar a ECA2 humana de forma tão eficiente (Letko; Marzi; Munster, 2020). Nesse contexto, destaca-se que a superfície da ECA2 possui dois pontos cruciais para a ligação com o vírus, sendo essenciais para a interação com o SARS-CoV. A proteína *spike* (S) do coronavírus se conecta ao seu receptor celular (ECA2), por meio de um domínio específico de ligação ao receptor (RBD). Este apresenta um núcleo e um ponto de ligação ao receptor (RBM), sendo este responsável pelos contatos com a ECA2 (Li, F. *et al.*, 2005).

É importante ressaltar que, além da proteína *spike*, outras proteínas virais também desempenham papéis fundamentais no ciclo de vida do vírus, como

revelou Naqvi e cols (2020) em sua pesquisa, demonstrando que as NSPs do SARS-CoV-2 estão envolvidas em muitos processos biológicos, como no processamento de proteínas, replicação do genoma viral, transcrição e proteólise (Naqvi, A. A. T. *et al.* 2020).

FIGURA 2 – ESTRUTURA DO SARS-COV-2 E SEU MEIO DE ENTRADA NA CÉLULA HOSPEDEIRA



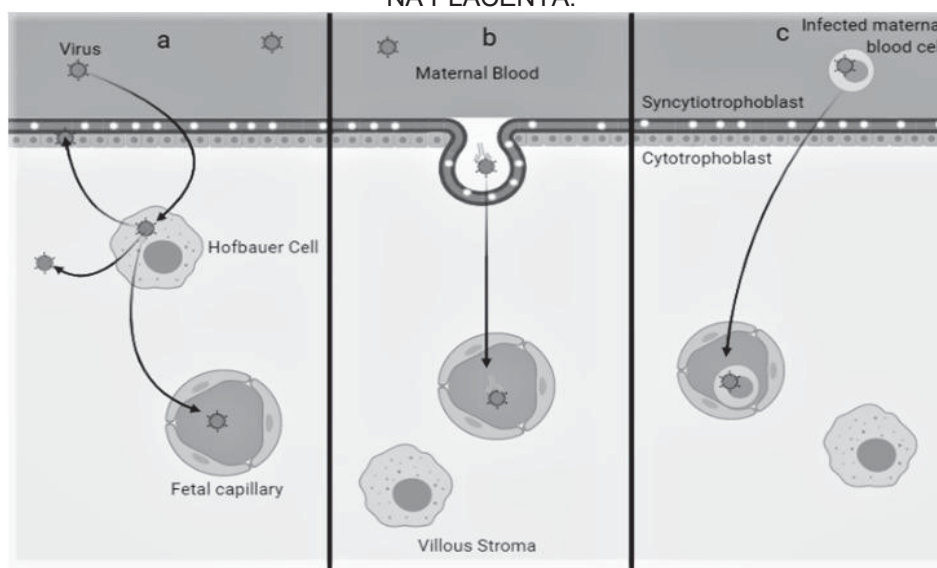
FONTE: NAQVI, A. A. T. *et al.* (2020)

LEGENDA: Esquema representativo da estrutura do SARS-CoV-2 e do seu mecanismo de entrada na célula- hospedeira. O virion apresenta a proteína S (“Spike Protein (S)”) na superfície, bem como a proteína M (“Membrane Protein (M)”) e a proteína E (“Envelope Protein (E)”). O material genético (RNA) está associado à proteína N (“Nucleoprotein (N)”) no interior do virion. A proteína S interage com o receptor celular ACE2 (“Human ACE2 Receptor”) na membrana da célula-hospedeira (“Host Cell”), desencadeando a fusão entre as membranas viral e celular (“Virus Entry”).

NOTA: legenda modificada de NAQVI, A. A. T. *et al.*(2020)

Quanto à via de transmissão placentária, Egloff *et al.* (2020) sugerem que, embora rara, a passagem do SARS-CoV-2 pela placenta pode ocorrer por mecanismos alternativos e ainda especulativos. Um deles seria a transcitose, em que partículas virais livres ou opsonizadas atravessam as células placentárias via endossomos, hipótese ainda não comprovada *in vivo*. Outro possível caminho é o transporte viral por células maternas infectadas, que poderiam levar o vírus até o ambiente fetal. Esses processos dependeriam de condições específicas, como alta carga viral materna. No entanto, as evidências atuais para ambos os mecanismos permanecem limitadas (Egloff *et al.*, 2020).

FIGURA 3 - DIFERENTES MECANISMOS DE INFECÇÃO VIRAL E TRANSMISSÃO VERTICAL NA PLACENTA.



FONTE: EGLOFF, C. (2020)

LEGENDA:

- a) Tropismo placentário (como células de Hofbauer) e replicação
- b) Transcitose de vírus opsonizado ou livre
- c) Vírus transportado por uma célula sanguínea infectada
- d) NOTA: legenda modificada de EGLOFF, 2020.

2.10 TRANSMISSÃO VERTICAL DO SARS-CoV-2

Em estudo com 19 placentas expostas ao SARS-CoV-2, foram avaliados achados histopatológicos e a expressão de ECA2 e TMPRSS2 por imuno-histoquímica, sendo a presença viral confirmada tanto por imuno-histoquímica quanto por detecção de RNA por hibridização *in situ*. Observou-se maior expressão de ECA2 no estroma das vilosidades coriônicas, enquanto citotrofoblastos e trofoblastos extravilosos também a apresentavam. Em contraste, o estroma viloso, células de Hofbauer e células endoteliais não expressaram ECA2. A TMPRSS2 foi detectada apenas no endotélio das vilosidades e raramente no sincitiotrofoblasto, sugerindo que a infecção placentária é possível, embora rara (Hecht *et al.*, 2020). A maioria dos estudos indicou a necessidade de investigações adicionais, devido à heterogeneidade metodológica e à insuficiência de dados para conclusões sobre gravidade da doença, transmissão viral ou complicações perinatais e neonatais (Arroyo-Sanchez *et al.*, 2020).

Para a confirmação da transmissão vertical intrauterina, recomendou-se a

detecção do vírus em vilosidades coriônicas por métodos de imuno-histoquímica ou de ácido nucleico, como hibridização *in situ*, combinada com RT-qPCR positivo em neonatos nas primeiras 72 horas de vida (Schwartz *et al.*, 2020). Critérios diagnósticos específicos incluem a identificação de SARS-CoV-2 em células fetais da placenta por métodos moleculares (Schwartz; Thomas, 2020).

O primeiro relato de transmissão vertical, em 2021, envolveu um recém-nascido prematuro no Irã, cuja mãe apresentava COVID-19 grave. Dois testes consecutivos de RT-qPCR confirmaram a infecção, indicando a possibilidade de transmissão intrauterina (Dehghan; Aghazadeh, 2019). Por outro lado, estudo com 16 gestantes mostrou que todos os neonatos testaram negativos, sem evidência de transmissão vertical (Askary *et al.*, 2021). Em outro caso, a placenta apresentou degeneração e necrose do sinciciotrofoblasto, além de intervillosite histiocítica crônica com histiócitos CD68⁺, confirmada por imuno-histoquímica (Schwartz *et al.*, 2021).

Um estudo observacional identificou apenas dois neonatos positivos para SARS-CoV-2, ambos assintomáticos (Moreira *et al.*, 2021). Experimentos *ex vivo* com cortes de placenta humana revelaram tropismo viral em sinciciotrofoblastos, trofoblastos, macrófagos de Hofbauer e células estromais (Fahmi *et al.*, 2021). Na China, 8,8% dos neonatos apresentaram RNA viral ou anticorpos, sugerindo risco de transmissão intrauterina (Chi *et al.*, 2021).

Revisões estimaram que 3,2% dos neonatos provavelmente adquiriram o vírus por transmissão vertical (Kotlyar, *et al.*, 2021), corroborado por achados imuno-histoquímicos que evidenciaram SARS-CoV-2 em células endoteliais das vilosidades coriônicas, com reforço perinuclear, enquanto células trofoblásticas permaneceram negativas (Sanchez, *et al.*, 2021). Casos de trigêmeos demonstraram proteína N do SARS-CoV-2 em sinciciotrofoblastos e, em menor extensão, em células de Hofbauer, confirmando a transmissão intrauterina (Disse *et al.*, 2021).

A evidência mais robusta de transmissão vertical do SARS-CoV-2 no contexto brasileiro foi apresentada por Stonoga e colaboradores, que demonstraram a presença de RNA viral tanto na placenta quanto no sangue de cordão umbilical, caracterizando de forma inédita a transmissão intrauterina no país (Stonoga *et al.*, 2021). Em investigação subsequente conduzida pelo

mesmo grupo de pesquisa, ao analisar a associação entre a gravidade dos sintomas de COVID-19 em gestantes e as características morfológicas placentárias, não foram observadas diferenças significativas na contagem de células de Hofbauer entre gestantes infectadas e o grupo controle (Rebutini et al., 2021).

Revisões sistemáticas reforçaram a raridade do fenômeno, sem detecção viral consistente em líquido amniótico, placenta, sangue de cordão ou leite humano (Sampieri; Montero, 2022; Yang *et al.*, 2022). Nos casos prováveis de transmissão vertical, o RNA viral foi identificado principalmente em sinciciotrofoblastos e citotrofoblastos, confirmando que a transmissão placentária é rara, mas possível (Almohammadi, 2022). Estudo de coorte com 109 gestantes sintomáticas revelou má perfusão vascular materna em 45% e fetal em 33,9% das placentas, sem diferenças significativas entre casos sintomáticos e assintomáticos (Arcos Júnior, *et al.*, 2022; Hessami, *et al.*, 2022).

Estudos recentes continuam a mostrar baixa frequência de transmissão vertical. Placentas de gestantes infectadas apresentaram depósitos de fibrina mais frequentes, sem registro de COVID-19 congênita (Sengül, *et al.*, 2023; Juseok, *et al.*, 2023). Lesão placentária induzida pelo SARS-CoV-2 pode reduzir a eficiência de transferência de anticorpos, sem alterar concentrações de IgG anti-RBD no sangue do cordão (Timi, *et al.*, 2023). Apesar de expressarem ECA2 e TMPRSS2, as células de Hofbauer e a barreira placentária mantêm função protetora na maioria dos casos (Becker, *et al.*, 2023).

Por fim, a resposta imune placentária parece variar conforme o sexo fetal e o tempo de infecção, onde placentas de fetos femininos com COVID-19 aguda apresentaram regulação negativa da proteína CD24 e presença de células T CD24⁺, enquanto em fetos masculinos pós-COVID-19 CD24 foi regulado positivamente nas células de Hofbauer, com redução do ligante CD24 siglec-10, sugerindo inflamação persistente e possível influência na suscetibilidade à transmissão vertical (Seefried, *et al.*, 2024).

2.11 A COVID-19 EM GESTANTES

Mudanças imunológicas na gestação podem agravar o estado

hiperinflamatório e aumentar a gravidade da infecção por SARS-CoV-2 (Rangchaikul; Venketaraman, 2021), podendo resultar em mais hospitalizações, admissões em UTI, necessidade de ventilação e maior risco de natimortos e partos prematuros. Além disso, podem surgir complicações como danos à placenta, desenvolvimento de pré-eclâmpsia ou condição similar, além de problemas de saúde mental, como ansiedade e depressão materna, e danos neurológicos em mães e bebês, incluindo a COVID-19 longa (Holland C., Hammond C., Richmond M. M., 2023).

Dados de 2023 coletados pelo Centro de Controle e Prevenção de Doenças (CDC) como parte da Rede de Vigilância para Ameaças Emergentes a Mães e Bebês, mostraram que entre 4.038 bebês nascidos de mães com COVID-19, para os quais havia informações sobre testes laboratoriais disponíveis e que foram testados durante a internação para o parto, 227 lactentes (5,6%) apresentaram PCR positivo para SARS-CoV-2 (CDC, 2023).

No Brasil, os dados do Observatório Obstétrico Brasileiro, relatam 8034 casos de Síndrome Respiratória Aguda Grave (SRAG) por SARS-CoV-2 em gestantes e puérperas, dados registrados no Sistema de Vigilância Epidemiológica SIVEP-GRIPE, até outubro de 2025 (OOBr, 2025).

Revisões de literatura e estudos observacionais demonstram que a maioria das gestantes infectadas pelo SARS-CoV-2 permanece assintomática ou desenvolve apenas quadros leves a moderados de COVID-19, sem progressão para formas graves da doença (Allotey *et al.*, 2020). Entretanto, há consenso de que a gestação constitui um estado de maior vulnerabilidade imunológica e fisiológica, estando associada a maior risco de agravamento clínico e a repercussões materno-fetais, quando comparada à população não gestante (Zaigham; Andersson, 2020).

Dessa forma, é importante observar que as alterações fisiológicas da gestação tornam as gestantes mais vulneráveis à infecção e às formas graves de COVID-19, com impactos significativos na saúde materna, fetal e neonatal.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 DESENHO DO ESTUDO

Este é um estudo transversal, com coleta retrospectiva de dados, envolvendo gestantes com COVID-19 e realizado em dois hospitais na cidade de Curitiba: Complexo Hospital de Clínicas – Universidade Federal do Paraná (CHC-UFPR) e Hospital Nossa Senhora das Graças (HNSG) no período de maio de 2020 a dezembro de 2021. O estudo incluiu gestantes maiores de 14 anos que testaram positivo para o SARS-CoV-2 em qualquer período gestacional, sintomáticas ou assintomáticas, atendidas nesses hospitais.

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do CHC-UFPR, sob o número CAAE: 35129820.6.0000.0096. As amostras foram coletadas após assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE).

3.2 COLETA DE DADOS CLÍNICOS, DEMOGRÁFICOS E EPIDEMIOLÓGICOS

Os dados demográficos, clínicos e epidemiológicos dos participantes foram coletados dos prontuários de internamento. As variáveis coletadas foram: resultado do teste de transcrição reversa seguida da reação em cadeia da polimerase em tempo real (RT-qPCR), idade, sexo, ocupação, departamento, exposição anterior a pacientes positivos, seja ambiente social ou de trabalho e presença de sintomas (febre, tosse, dispneia, astenia, mialgia, coriza, dor de garganta, dor de cabeça, ageusia ou disgeusia, anosmia ou parosmia, sintomas oculares, diarreia e náusea).

3.3 CASUÍSTICA

Para o desenvolvimento deste estudo, 82 amostras foram analisadas, sendo 71 pacientes compondo o grupo COVID-19 e 11 pacientes do grupo NÃO COVID-19.

Grupo COVID-19: Foram utilizados 71 amostras de cortes parafinados de placenta de parturientes, que apresentaram resultado Detectado para o SARS-CoV-2, na técnica da transcrição reversa seguida da reação em cadeia da polimerase em tempo real (RT-qPCR), em amostras de *swab* de nasofaringe, em

qualquer momento da gestação.

Grupo NÃO COVID-19: Composto por amostras que compreendem cortes histológicos de 11 placentas, provenientes de pacientes atendidas em anos anteriores a 2020. A escolha foi realizada com o pareamento com o grupo COVID-19 observando a idade materna, trimestre gestacional no momento do parto e comorbidades.

Essas amostras, foram testadas para as doenças congênitas do grupo TORCHZ (toxoplasmose, rubéola, citomegalovírus, herpes simples tipos 1 e 2 e Zika vírus) pela técnica de imuno- histoquímica, sendo todas negativas.

3.4 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

As placentas foram coletadas após o processo de dequitação natural. Nas duas instituições em que as placentas foram coletadas, foram instituídos os critérios de positividade materna, ou seja, que tiveram resultado de RT-qPCR detectado para SARS-CoV-2 como um fator determinante para a realização da avaliação placentária. Os demais critérios de submissão para exame da placenta rotineiramente utilizados nestas instituições incluíam: condições maternas ou fetais anteriormente diagnosticadas durante o atendimento pré-natal ou anormalidades graves observadas durante o parto.

3.5 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

Amostras insuficientes para a realização dos testes moleculares, ou amostras inadequadas para a técnica de imuno-histoquímica.

3.6 COLETA DAS AMOSTRAS

Os critérios para encaminhamento das amostras de placenta ao exame anatomopatológico da placenta incluíram condições maternas ou fetais previamente diagnosticadas durante o acompanhamento pré-natal, anomalias graves observadas no momento do parto, ou gestações múltiplas, conforme os protocolos aplicados regularmente nas duas instituições. Assim, o resultado positivo do teste RT-qPCR para SARS-CoV-2 foi classificado como uma condição

materna anômala, sendo um critério para a análise histopatológica da placenta.

Essas placentas foram avaliadas conforme um protocolo padronizado, que envolveu a fixação em formalina tamponada a 10% por 72 horas após o parto. Em seguida, realizou-se um exame macroscópico, medindo as dimensões e o comprimento da placenta, além da pesagem do disco placentário após o corte do cordão umbilical e das membranas fetais. Foram feitas seções seriadas com intervalos de 1,5 cm e realizada a inspeção da superfície de corte. Quaisquer alterações macroscópicas foram registradas e amostradas.

As amostras de placenta, previamente renomeadas para garantir a leitura cega, foram avaliadas sistematicamente por dois patologistas perinatais experientes. A análise histológica seguiu o processamento de rotina, com cortes de 4 µm e coloração por hematoxilina e eosina. A avaliação morfológica qualitativa foi realizada de acordo com a Declaração de Consenso do Grupo de Workshop de Placenta de Amsterdam. Os parâmetros analisados foram registrados como “presentes” ou “ausentes”, e a extensão das alterações específicas foi categorizada conforme as recomendações do protocolo de Amsterdam. Os demais parâmetros foram classificados em três categorias (<30%, 30–70% e >70%), indicando a presença e a extensão das alterações observadas (Quadro 1).

QUADRO 1: ALTERAÇÕES MICROSCÓPICAS AVALIADAS

Características de má perfusão vascular materna	Infarto viloso Hipoplasia vilosa distal Maturação vilosa acelerada/aumento de nós sinciciais Aterose aguda decidual Necrose fibrinóide vascular decidual com ou sem células espumosas Hipertrofia mural vascular decidual Perivasculite crônica decidual Ausência de remodelamento da artéria espiral Trombose arterial decidual Persistência de trofoblastos intramurais endovasculares
Características de má perfusão vascular fetal	Trombose vascular fetal Deposição de fibrina intramural vascular fetal Vilo avascular Obliteração de vasos da haste ou esclerose fibromuscular Cariorrexis vascular-estromal vilosa

	Ectasia vascular
Características de resposta inflamatória materna	Corionite Corioamnionite
Características resposta inflamatória fetal	Vasculite umbilical Funisite
Características de inflamação crônica	Decídua crônica Vilite Intervilosite
Outras características	Atraso da maturação vilosa Trombos intervilosos Focos de microcalcificação Corangiose Coloração de mecônio Hemossiderina da membrana

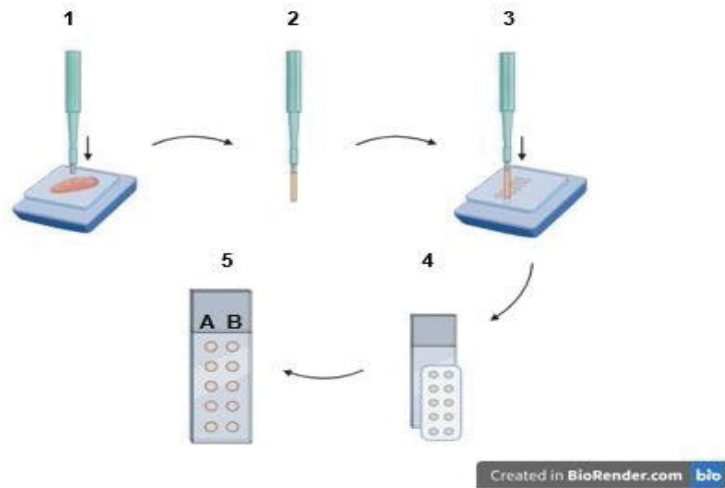
FONTE: modificado de Rebutini *et al.* (2025).

3.7 ENSAIOS IMUNOHISTOQUÍMICOS

3.7.1 *Tissue Microarray*

Para realização dos ensaios imuno-histoquímicos foi utilizada a técnica de *Tissue Microarray* (TMA). Por esta técnica são obtidos fragmentos de oito milímetros de diâmetro dos blocos originais (blocos doadores) e um novo bloco de parafina multiamostras é formado.

FIGURA 4 - ESQUEMA DEMONSTRANDO A CONFECÇÃO DO TMA



FONTE: A autora (2025).

LEGENDA: Para este estudo em específico, cada bloco de TMA foi composto por 4 casos, sendo que cada caso apresentava 2 amostras de 8 mm, denominadas A e B, sendo amostra A colocada no lado esquerda da lâmina correspondendo a amostra da decídua materna (face materna) e a amostra B fixada do lado direito da lâmina correspondendo a amostra de vilosidade corial (face fetal) respectivamente. 1) Bloco original. 2) Retirada do bloco doador. 3) Transferência para o bloco de parafina multiamostras. 4) Confecção da lâmina. 5) Lâmina com as amostras de decídua e vilosidade.

3.7.2 Imunohistoquímica

A técnica de imunohistoquímica foi utilizada com o intuito de identificar a imunoexpressão do CD68, iNOS e Esfingosina

Os cortes histológicos da placenta a partir do TMA, foram fixados em lâminas de vidro eletricamente carregadas e subsequentemente foram desparafinadas com xilol, desidratadas por sucessíveis banhos de etanol absoluto com soluções de concentração decrescente e reidratadas com água. Foram realizados dois bloqueios de peroxidases endógenas, primeiramente com álcool metílico e peróxido de hidrogênio e em seguida com uma solução de água e peróxido de hidrogênio.

Os ensaios de imunohistoquímica foram realizados por meio de um protocolo de incubação dos anticorpos primários (tabela 1) em câmara úmida, com temperatura entre 2°C e 8°C, *overnight*. Na sequência, o polímero secundário *Reveal Polyvalent HRP-DAB Detection System, Spring Bioscience, Pleasanton, CA,*) foi aplicado no material testado por 25 minutos em temperatura ambiente. A tabela 1 contém os dados dos anticorpos empregados na imunohistoquímica, incluindo o CD68, do tipo monoclonal, clone KP-1, utilizado na diluição de 1:400 (BioSB); a iNOS, policlonal, clone EAB—14252, diluída em 1:800 (Elabscience); e a Esfingosina, policlonal, clone Ab71700, utilizada na diluição de 1:400 (Abcam).

TABELA 1 - RELAÇÃO DOS ANTICORPOS MONOCLONAIS UTILIZADOS NO ESTUDO

Anticorpo	Tipo	Clone	Diluição	Marca
CD68	Monoclonal	KP-1	1:400	BioSB
iNOS	Policlonal	EAB—14252	1:800	Elabscience
Esfingosina	Policlonal	Ab71700	1:400	Abcam

FONTE: A autora (2025).

LEGENDA: CD68(Agrupamento de Diferenciação 68 ,do inglês Cluster of Differentiation 68); iNOS (Óxido nítrico sintase induzível ,do inglês *inducible nitric oxide synthase*).

A revelação das reações foi obtida com a adição do complexo 2, 3,

Diaminobenzidina + substrato peróxido de hidrogênio, por tempos suficientes para o desenvolvimento da cor castanha, seguida de contra-coloração com Hematoxilina de Harris. Na sequência foi realizada a desidratação com banhos de álcool etílico em concentrações crescentes, clarificação em xilol e seladas com Bálsamo do Canadá.

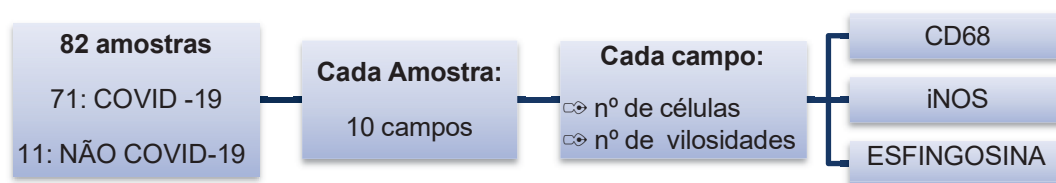
Os resultados foram confirmados pela reatividade de um controle positivo, onde uma amostra tecidual com imunomarcção sabidamente positiva para o anticorpo é alocada juntamente com as amostras testadas.

3.8 ANÁLISE MORFOMÉTRICA (CONTAGEM DE HISTIÓCITOS DE HOFBAUER)

A análise morfométrica foi realizada em um microscópio óptico Nikon Eclipse 200 (Nikon Corporation, Tóquio, Japão), utilizando objetiva de 40x. Para cada amostra, foram selecionados aleatoriamente dez campos de grande aumento (CGA) contendo vilosidades coriônicas. Em cada campo, procedeu-se à contagem manual dos histiócitos de Hofbauer (HBCs) imunomarcados com os anticorpos anti-CD68, anti- iNOS e anti-Esfingosina (SPHK1). O número total de células positivas obtido foi dividido por dez, correspondendo ao número de campos analisados, obtendo-se assim a média de células marcadas por campo.

O cálculo da razão marcador/vilosidade, considerou o número de vilosidades presentes em cada campo. A partir desses valores, foi determinada a razão média de células positivas por área vilosa para cada marcador. Essa abordagem quantitativa permitiu comparar a densidade dos HBCs e a distribuição fenotípica entre os grupos COVID-19 e NÃO COVID-19. Os resultados obtidos foram posteriormente submetidos à análise estatística .

FIGURA 5 - FLUXOGRAMA DA ANÁLISE MORFOMÉTRICA



FONTE: A autora (2025).

LEGENDA: Foram analisadas 82 amostras, das quais 71 eram de gestantes com COVID-19 e 11 de gestantes NÃO COVID-19. Em cada amostra, foram avaliados 10 campos, sendo registrados em cada campo: (i) número de células e (ii) número de vilosidades para os três marcadores

estudados. RT-qPCR PARA SARS-COV-2

As amostras de tecidos também foram testadas para verificar a presença de RNA do SARS-CoV-2 no tecido parafinado da placenta. A coleta das amostras de tecido parafinado para a pesquisa do SARS-CoV-2 foi realizada de maneira direcionada, com auxílio de bisturi estéril, o material foi retirado do bloco de parafina o mais próximo possível da área em que foram encontradas alterações microscópicas.

A extração de RNA viral foi realizada com *RNeasy FFPE*, kit de extração de parafina disponível comercialmente (Qiagen® - Hilden, Alemanha) em que ocorre uma etapa de desparafinização com utilização de xilol, seguida de digestão com auxílio de proteinase K e finalmente a passagem da amostra por coluna para separação do material genético viral.

O teste de RT-qPCR utilizado para detecção do SARS-CoV-2 foi *Allplex SARS-CoV-2 Assay* (Seegene® - Seul, Coreia do Sul) que consiste em uma PCR em tempo real multiplex capaz de detectar de três genes virais: gene N; gene RdRP/S; e gene E (compartilhado entre todos os integrantes do subgênero *Sarbecovirus*).

Os genes pesquisados são responsáveis pela decodificação de proteínas estruturais do vírus: O gene N decodifica o Nucleocapsídeo, o gene E decodifica o envelope e o gene RdRP decodifica a RNA polimerase dependente de RNA que faz parte da porção ORF-1ab da proteína S.

A amplificação de um gene endógeno humano foi utilizada como controle de validação de extração e foi realizada em uma segunda e RT-qPCR com kit BIOMOL OneStep/COVID-19 do Instituto de Biologia Molecular do Paraná (IBMP). As duas reações de RT-qPCR foram realizadas em equipamento *Applied Biosystems 7500* (*Applied Biosystems*® California, EUA) e as análises realizadas no *software* do mesmo equipamento, seguindo as instruções de protocolo de cada um dos fabricantes dos kits.

3.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram avaliados utilizando o *software* JMP Pro® versão 14.0.0 (SAS Institute, Cary, NC). Para a descrição dos resultados, empregaram-se medidas como médias, medianas, desvios padrão, valores extremos, frequências

absolutas e percentuais. As variáveis categóricas foram apresentadas em números absolutos e proporções, sendo analisadas pelo teste do qui-quadrado ou, quando apropriado, pelo teste exato de Fisher. A normalidade das variáveis numéricas foi verificada pelo teste de Shapiro-Wilk. As variáveis com distribuição paramétrica foram comparadas pelo teste t de Student e as não paramétricas, pelo teste de U de Mann-Whitney. Considerou-se estatisticamente significativo $p \leq 0,05$.

4 RESULTADOS

4.1 CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS E PATOLÓGICAS DAS GESTANTES

As características clínicas e obstétricas dos grupos COVID-19 e não COVID-19 foram organizadas em uma tabela comparativa. Entre as variáveis analisadas, incluíram-se o tipo de parto (cesárea ou normal), presença de comorbidades como a doença hipertensiva específica da gestação (DHEG), diabetes, hipertensão, distúrbios tireoidianos, infecções como HIV e sífilis, além do tabagismo. Também foram avaliados dados neonatais, como o sexo do recém-nascido, ocorrência de óbito intraútero ou neonatal, e a presença de alterações nas placentas (Quadro 1). Variáveis quantitativas, como o peso do recém-nascido, idade materna, idade gestacional, duração da internação e intervalo entre internação e parto, complementaram a análise. Na tabela 2 estão os resultados obtidos que demonstram diferenças entre gestantes com e sem diagnóstico de COVID-19, embora sem significância estatística para a maioria das variáveis analisadas. Observou-se uma maior proporção de partos cesáreos no grupo COVID-19 em comparação ao grupo NÃO COVID-19, enquanto o parto normal foi mais frequente entre as gestantes não infectadas. Comorbidades foram mais comuns entre as gestantes com COVID-19, embora complicações específicas, como hipertensão, diabetes e distúrbios da tireoide, tenham sido pouco frequentes em ambos os grupos. Obesidade esteve presente apenas no grupo COVID-19, e o tabagismo foi raro nos dois grupos.

O sexo dos recém-nascidos e a ocorrência de óbito neonatal não diferiram significativamente entre os grupos, sendo este registrado apenas em casos do grupo COVID-19. Alterações macroscópicas da placenta foram observadas em grande parte das amostras, sem distinção entre os grupos. Parâmetros como peso ao nascer, idade materna, idade gestacional e duração do internamento apresentaram variações, mas sem diferenças significativas, embora a idade gestacional tenha sido ligeiramente menor nas gestantes com COVID-19.

TABELA 2 - COMPARAÇÃO ENTRE AS INFORMAÇÕES CLÍNICAS DAS GESTANTES DO GRUPO COVID-19 E NÃO COVID-19

			(continua)
VARIÁVEIS	GRUPO COVID-19 (N = 71)	GRUPO NÃO COVID-19 (N = 11)	Valor <i>p</i>

Tipo de parto			
Cesárea	54 (76,1%)	5 (45,46%)	
Normal	17 (23,9%)	6 (54,54%)	
Comorbidades			0,05
Sim	37 (52,1%)	4 (36,36%)	
Não	34 (47,9%)	7 (63,64%)	
DHEG			0,589
Sim	8 (11,3%)	0 (0%)	
Não	63 (88,7%)	11 (100%)	
Diabetes			1
Sim	10 (14,1%)	2 (18,18%)	
Não	61 (85,9%)	9 (81,82%)	
Hipertensão			0,340
Sim	1 (1,4%)	2 (18,18%)	
Não	70 (98,6%)	9 (81,82%)	
Obesidade			0,348
Sim	10(14,08%)	0 (0%)	
Não	85(85,92%)	11(100%)	
Hipertiroidismo			
Sim	1 (1,4%)	0 (0%)	
Não	70 (98,6%)	11 (100%)	
Hipotiroidismo			
Sim	7 (9,9%)	2 (18,2%)	
Não	64 (90,1%)	9 (81,8%)	
HIV			
Positivo	2 (2,8%)	0 (0%)	
Negativo	69 (97,2%)	11 (100%)	
Sífilis			
Sim	2 (2,8%)	0 (0%)	
Não	69 (97,2%)	11 (100%)	
Tabagista			
Sim	4 (5,6%)	1 (9,1%)	
Não	67 (94,4%)	10 (90,9%)	
Sexo RN			1
Feminino	41 (57,7%)	5 (45,5%)	
Masculino	30 (42,3%)	6 (54,5%)	
Óbito neonatal			1
Sim	2 (2,82%)	0 (0%)	
Não	69 (97,18%)	11 (100%)	

TABELA 2 - COMPARAÇÃO ENTRE AS INFORMAÇÕES CLÍNICAS DAS GESTANTES DO GRUPO COVID-19 E NÃO COVID-19

			(conclusão)
Placenta- alterações macroscópicas			0,675
Sim	54 (76,06%)	9 (81,82%)	
Não	17 (23,94%)	2 (18,18%)	
MED (Min-Max)			
Peso do RN	2.773 (610 - 3.855)	2656 (1.180 - 3.810)	0.708
Idade da gestante (anos)	30,89 (14 - 42)	27,53 (16 - 42)	0.400
Idade gestacional (semanas)	35,33 (27 - 41)	39,33 (39 - 40)	0.157
Duração internamento (dias)	7,91 (1 - 48)		
Intervalo internamento - parto (dias)	2,17 (0 - 30)		

FONTE: A autora (2025).

LEGENDA: DHEG (doença hipertensiva específica da gestação); RN (recém-nato); HIV (do inglês, *Human Immunodeficiency Virus*).

NOTA: As comparações entre os grupos foram realizadas utilizando o teste U de Mann-Whitney, com $p \leq 0,05$ considerado estatisticamente significativo. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$.

Na tabela 3, estão demonstrados os dados das gestantes que compõem o grupo COVID-19. Observa-se que a principal razão para internação foi a própria infecção pelo coronavírus, seguida pela realização do parto. A maioria das infecções ocorreu no terceiro trimestre da gestação, a gravidade da doença variou entre pacientes assintomáticas ou com manifestações leves, casos moderados e quadros graves. Além disso, a infecção foi analisada de acordo com o trimestre gestacional no qual ocorreu, sendo categorizada em primeiro, segundo ou terceiro trimestre. Da mesma forma, a realização do teste RT-qPCR para detecção do RNA viral também foi classificada conforme o trimestre da gestação.

Das 71 placentas estudadas, foram detectados RNA do SARS-CoV-2 em quatro amostras tanto na decídua quanto na vilosidade. Foram sete positivas apenas na porção da decídua e quatro positivas apenas na porção da vilosidade.

Encontram-se na tabela 03 os dados referentes ao grupo de gestantes diagnosticadas com COVID-19 (N=71), sendo que a maioria das internações ocorreu devido à própria infecção pelo SARS-CoV-2 (54,93%), enquanto 45,07% foram internadas por motivos obstétricos. Observou-se que 70,40% das pacientes apresentaram quadro leve ou moderado e 29,58% evoluíram com formas graves da infecção. A distribuição da infecção por trimestre gestacional revelou uma predominância significativa de casos no terceiro trimestre (84,50%), com menor

ocorrência no segundo (11,30%) e no primeiro trimestre (4,20%).

TABELA 3 - PERFIL CLÍNICO DA COVID-19 NAS PACIENTES DURANTE A GRAVIDEZ

CARACTERÍSTICAS RELACIONADAS A DOENÇA - GRUPO COVID-19	N (71)	%
Motivo do internamento		
COVID-19	39	54,93%
Parto	32	45,07%
Intensidade da doença		
Leve ou Moderado	50	70,40%
Grave	21	29,58%
Trimestre da infecção por SARS-CoV-2		
Primeiro	3	4,20%
Segundo	8	11,30%
Terceiro	60	84,50%

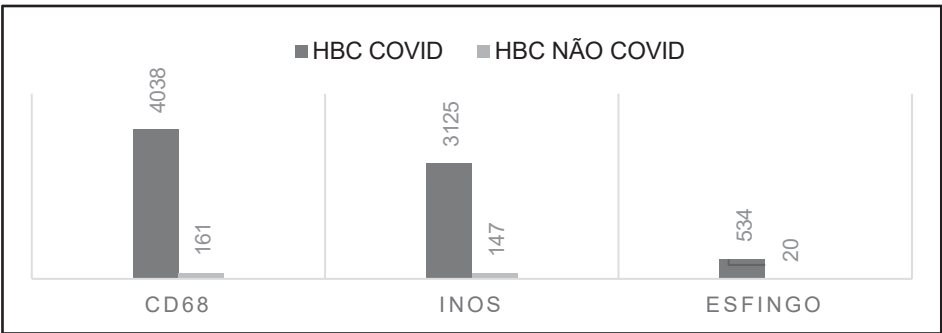
FONTE: A autora (2025).

LEGENDA: COVID-19 (Doença causada pelo coronavírus 19); SARS-CoV-2 (Coronavírus 2 da Síndrome Respiratória Aguda Grave).

4.2 CONTAGEM DAS CÉLULAS MARCADAS COM CD68, INOS E ESFINGOSINA

A figura 6 apresenta a contagem morfométrica das células de Hofbauer (HBC) em placentas de gestantes com COVID-19 e sem COVID-19, com base na expressão dos marcadores CD68, iNOS e Esfingosina. Especificamente, a contagem total de células CD68 foi de 4.038 no grupo COVID-19, 161 no grupo NÃO COVID-19. Para o marcador iNOS, o grupo COVID-19 apresentou 3.125 células, enquanto o grupo NÃO COVID-19 teve 147. No caso da Esfingosina, a contagem foi de 534 células no grupo COVID-19 e 20 no grupo NÃO COVID-19.

FIGURA 6 – CONTAGEM DE CÉLULAS TOTAIS POR MARCADOR NO GRUPO COVID-19 COMPARADO AO GRUPO NÃO COVID-19



FONTE: A autora (2025).

4.3 ANÁLISE DA EXPRESSÃO DE CD68, iNOS E ESFINGOSINA ENTRE O GRUPO COVID-19 E NÃO-COVID-19.

Foram realizadas análises da comparação da expressão dos marcadores CD68, iNOS e Esfingosina entre gestantes, sendo 71 com diagnóstico de COVID-19 e 11 sem diagnóstico, representando o grupo NÃO-COVID-19. O resultado das análises indicam diferença estatisticamente significativa na expressão de CD68 e Esfingosina entre os grupos COVID-19 e NÃO-COVID-19, enquanto a expressão de iNOS não apresentou diferença significativa (tabela 4).

TABELA 4 - ANÁLISE DA EXPRESSÃO DE CD68, ESFINGOSINA E iNOS ENTRE OS GRUPOS COVID-19 E NÃO COVID-19

IMUNOMARCADOR	N	MEDIANA	IQR	Valor de p
CD 68: GRUPO COVID	71	0,688	0,650	< 0,001**
CD 68: GRUPO NÃO-COVID	11	0,104	0,213	
ESFINGOSINA: GRUPO COVID	71	0,113	0,204	0,032*
ESFINGOSINA: GRUPO NÃO COVID	11	0,0377	0,0485	
iNOS: GRUPO COVID	71	0,450	0,811	0,182
iNOS: GRUPO NÃO-COVID	11	0,220	0,255	

FONTE: A autora (2025).

LEGENDA: CD68 (Agrupamento de Diferenciação 68); iNOS (Óxido nítrico sintase induzível).

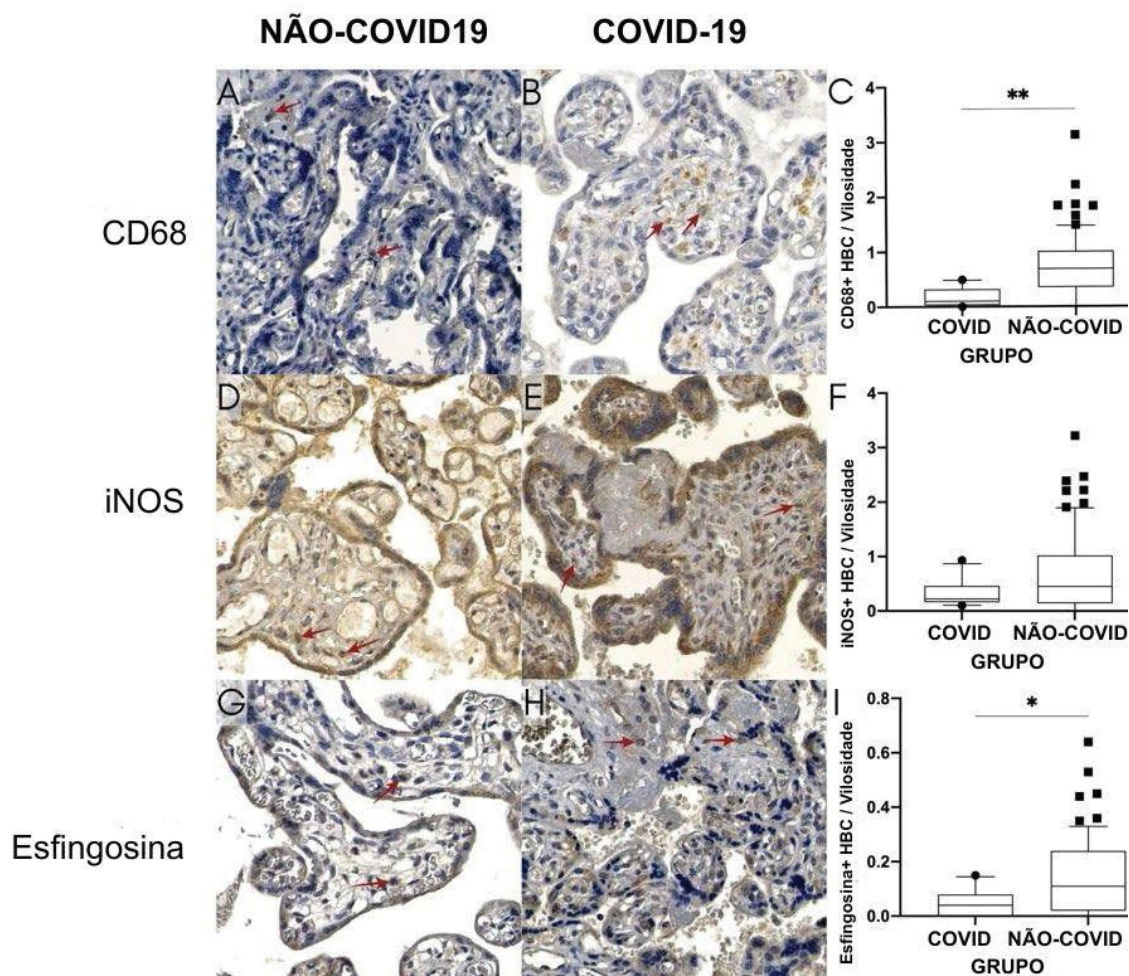
NOTA: Os dados são expressos como mediana e intervalo interquartil (IQR). As comparações entre os grupos foram realizadas utilizando o teste U de Mann-Whitney, com $p \leq 0,05$ considerado estatisticamente significativo. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$.

4.4 IMUNO-HISTOQUÍMICA

A técnica de imuno-histoquímica foi utilizada com a finalidade de identificar a expressão tecidual dos anticorpos CD68, iNOS e Esfingosina, após foi realizada a quantificação e a comparação dos dados através de métodos estatísticos. A Figura 7 ilustra as principais alterações imunopatológicas observadas nas vilosidades coriônicas de placentas de gestantes infectadas pelo SARS-CoV-2. Nota-se um aumento expressivo na densidade de células de Hofbauer, evidenciado pela imunomarcagem para CD68⁺, indicando hiperplasia desses macrófagos placentários. Além disso, observa-se a ativação da resposta inflamatória, demonstrada pela expressão de iNOS. Em conjunto, esses achados, com expressão preservada de esfingosina, marcador da polarização M2 dos macrófagos, sugerem um papel modulador dessas células na resposta placentária à infecção pelo SARS-CoV-2. A figura 8 mostra as alterações imunopatológicas nas

vilosidades coriônicas de placentas de mães infectadas com SARS-CoV-2.

FIGURA 7: ANÁLISE QUANTITATIVA E HISTOLÓGICA DOS FENÓTIPOS DAS CÉLULAS DE HOFBAUER EM PLACENTAS DE GESTAÇÕES COM E SEM COVID-19.

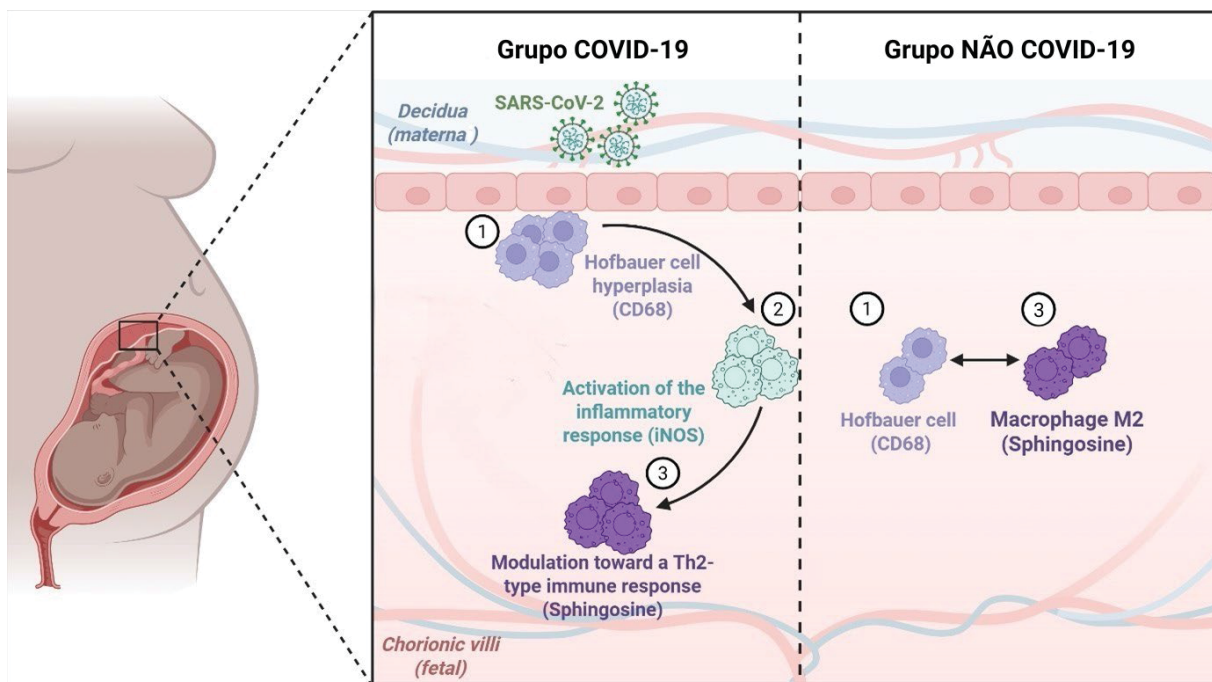


FONTE: A autora (2025).

LEGENDA: (A–C) Imunomarcção de CD68 em placentas sem COVID-19 (A) e com COVID-19 (B), e gráfico de caixa da contagem de células de Hofbauer (HBCs) positivas para CD68 (C) por vilosidade; (D–F) Expressão de iNOS em placentas sem COVID-19 (D) e com COVID-19 (E), e gráfico de caixa correspondente da contagem de CH positivas para iNOS (F) por vilosidade; (G–I) Expressão da esfingosina quinase 1 (SPHK1) em placentas sem COVID-19 (G) e com COVID-19 (H), e gráfico de caixa da contagem de CH positivas para SPHK1 (I) por vilosidade; As setas vermelhas indicam regiões do tecido viloso e células com imunomarcção positiva para os respectivos anticorpos. Ampliação de 400X..

NOTA: Os dados são expressos como mediana e intervalo interquartil (IQR). As comparações entre os grupos foram realizadas utilizando o teste U de Mann-Whitney, com $p \leq 0,05$ considerado estatisticamente significativo. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$.

FIGURA 8 - ALTERAÇÕES IMUNOPATOLÓGICAS NAS VILOSIDADES CORIÔNICAS DE PLACENTAS DE MÃES INFECTADAS COM SARS-COV-2.



FONTE: A autora (2025).

LEGENDA: No grupo COVID-19, as vilosidades coriônicas apresentaram hiperplasia de células de Hofbauer (quantificada pela contagem de células imunomarcadas com CD68⁺) e ativação da resposta inflamatória (avaliada pela expressão de iNOS), ambas associadas à expressão preservada de esfingosina, marcador de macrófagos polarizados M2. Embora as células de Hofbauer exibam naturalmente um fenótipo M2 (1), com perfil imunológico voltado à resposta Th2, a infecção viral desencadeia inicialmente uma modulação pró-inflamatória do tipo Th1 (2), seguida pelo retorno ao padrão Th2 (3), que contribui para a regulação imunológica e manutenção da homeostase placentária. Em contraste, as placentas do grupo NÃO COVID-19 apresentam células de Hofbauer dispersas (CD68⁺) que mantêm seu fenótipo M2 (1), caracterizado pela expressão de esfingosina e pela modulação homeostática da resposta imune do tipo Th2(3).

4.5 ANÁLISE DA EXPRESSÃO DE CD68, INOS E ESFINGOSINA EM PACIENTES COM COVID-19: COMPARAÇÃO ENTRE INDIVÍDUOS COM E SEM COMORBIDADES

Foram feitas análises da expressão dos marcadores CD68, iNOS e Esfingosina em pacientes com COVID-19, de acordo com a presença ou ausência de comorbidades, demonstrado pela tabela 5. A amostra foi composta por 39 indivíduos com comorbidades e 32 indivíduos sem comorbidades, analisados para os três marcadores. Os resultados da análise estatística dos biomarcadores CD68, iNOS e Esfingosina a partir da razão HBC/VILO, indicam que não houve diferença estatisticamente significativa na expressão dos marcadores entre pacientes com e sem comorbidades dentro do grupo COVID-19.

TABELA 5 - ANÁLISE DA EXPRESSÃO DE CD68, ESFINGOSINA E iNOS EM PACIENTES COM COVID-19: COMPARAÇÃO ENTRE INDIVÍDUOS COM E SEM COMORBIDADES

IMUNOMARCADOR	N	MEDIANA	IQR	Valor de <i>p</i>
CD 68: COM COMORBIDADES	39	0,778	0,827	0,078
CD 68: SEM COMORBIDADES	32	0,600	0,643	
ESFINGOSINA: COM COMORBIDADES	39	0,125	0,219	0,317
ESFINGOSINA: SEM COMORBIDADES	32	0,0870	0,185	
iNOS: COM COMORBIDADES	39	0,508	0,825	0,147
iNOS: SEM COMORBIDADES	32	0,398	0,672	

FONTE: A autora (2025).

LEGENDA: CD68(Agrupamento de Diferenciação 68); iNOS (Óxido nítrico sintase induzível).

NOTA: Os dados são expressos como mediana e intervalo interquartil (IQR). As comparações entre os grupos foram realizadas utilizando o teste U de Mann-Whitney, com $p \leq 0,05$ considerado estatisticamente significativo. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$

4.6 ANÁLISE DA EXPRESSÃO DE CD68, iNOS E ESFINGOSINA EM PACIENTES COM COVID-19: COMPARAÇÃO ENTRE INDIVÍDUOS COM E SEM DIABETES

Na tabela 6 demonstra-se as análises da expressão dos marcadores CD68, iNOS e Esfingosina em pacientes com COVID-19, de acordo com a presença ou ausência de diabetes mellitus (DM). A amostra foi composta por 10 indivíduos com diabetes e 61 indivíduos sem diabetes, analisados para os três marcadores. A análise dos resultados mostrou que não houve diferença estatisticamente significativa na expressão dos marcadores CD68 e iNOS entre os grupos avaliados. Contudo, observou-se aumento significativo na imunomarcção de Esfingosina nas placentas de mulheres com diabetes em comparação às não diabéticas, sugerindo uma possível modulação do fenótipo M2 nesse subgrupo.

TABELA 6: ANÁLISE DA EXPRESSÃO DE CD68, ESFINGOSINA E iNOS EM PACIENTES COM COVID-19: COMPARAÇÃO ENTRE INDIVÍDUOS COM E SEM DIABETES MELLITUS

IMUNOMARCADOR	N	MEDIANA	IQR	Valor de <i>p</i>
CD 68: COM DIABETES	10	0,640	0,708	0,568
CD 68: SEM DIABETES	61	0,695	0,643	
ESFINGOSINA: COM DIABETES	10	0,0125	0,0722	0,005**
ESFINGOSINA: SEM DIABETES	61	0,130	0,201	
iNOS: COM DIABETES	10	0,334	0,487	0,199
iNOS: SEM DIABETES	61	0,457	0,867	

FONTE: A autora (2025).

LEGENDA: CD68(Agrupamento de Diferenciação 68); iNOS (Óxido nítrico sintase induzível).

NOTA: Os dados são expressos como mediana e intervalo interquartil (IQR). As comparações entre os grupos foram realizadas utilizando o teste U de Mann-Whitney, com $p \leq 0,05$ considerado estatisticamente significativo. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$.

4.7 ANÁLISE DA EXPRESSÃO DE CD68, iNOS E ESFINGOSINA EM PACIENTES COM COVID-19: COMPARAÇÃO ENTRE INDIVÍDUOS OBESOS E NÃO OBESOS

Foram realizadas análises da expressão dos marcadores CD68, iNOS e Esfingosina em pacientes com COVID-19, estratificados de acordo com a presença ou ausência de obesidade, demonstrado pela tabela 7. A amostra foi composta por 61 indivíduos não obesos e 10 indivíduos obesos, analisados para os três marcadores.

Os resultados indicam que não houve diferença estatisticamente significativa na expressão dos marcadores CD68, iNOS e Esfingosina entre pacientes obesos e não obesos dentro do grupo COVID-19.

TABELA 7: ANÁLISE DA EXPRESSÃO DE CD68, ESFINGOSINA E iNOS EM PACIENTES COM COVID-19: COMPARAÇÃO ENTRE INDIVÍDUOS COM E SEM OBESIDADE

IMUNOMARCADOR	N	MEDIANA	IQR	Valor de <i>p</i>
CD 68: SEM OBESIDADE	61	0,688	0,634	0,830
CD 68: OBESIDADE	10	0,685	0,940	
ESFINGOSINA: SEM OBESIDADE	61	0,113	0,186	0,544
ESFINGOSINA: OBESIDADE	10	0,114	0,193	
iNOS: SEM OBESIDADE	61	0,424	0,883	0,524
iNOS: OBESIDADE	10	0,671	0,572	

FONTE: A autora (2025).

LEGENDA: CD68(Agrupamento de Diferenciação 68); iNOS (Óxido nítrico sintase induzível).

NOTA: Os dados são expressos como mediana e intervalo interquartil (IQR). As comparações entre os grupos foram realizadas utilizando o teste U de Mann-Whitney, com $p \leq 0,05$ considerado estatisticamente significativo. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$.

4.8 ANÁLISE DA EXPRESSÃO DE CD68, iNOS E ESFINGOSINA EM PACIENTES COM COVID-19: COMPARAÇÃO ENTRE INDIVÍDUOS COM E SEM DHEG

Foram avaliadas as expressões dos marcadores CD68, iNOS e Esfingosina em pacientes com COVID-19, considerando a presença ou ausência de doença hipertensiva específica da gestação (DHEG), demonstrado pela tabela 8. A análise incluiu 8 gestantes com DHEG e 63 sem hipertensão, examinando-se os três marcadores em todos os casos. Os resultados demonstraram que não houve diferença estatisticamente significativa na expressão de CD68, iNOS e Esfingosina entre pacientes com DHEG e aquelas sem hipertensão no contexto da

COVID-19.

TABELA 8: ANÁLISE DA EXPRESSÃO DE CD68, ESFINGOSINA E iNOS EM PACIENTES COM COVID-19: COMPARAÇÃO ENTRE INDIVÍDUOS COM E SEM DOENÇA HIPERTENSIVA ESPECÍFICA DA GESTAÇÃO (DHEG)

IMUNOMARCADOR	N	MEDIANA	IQR	Valor de <i>p</i>
CD 68: COM DHEG	8	0,821	0,364	0,536
CD 68: SEM DHEG	63	0,645	0,665	
ESFINGOSINA: COM DHEG	8	0,131	0,278	0,510
ESFINGOSINA: SEM DHEG	63	0,106	0,188	
iNOS: COM DHEG	8	0,636	0,675	0,377
iNOS: SEM DHEG	63	0,421	0,829	

FONTE: A autora (2025).

LEGENDA: CD68(Agrupamento de Diferenciação 68); iNOS (Óxido nítrico sintase induzível).

NOTA: Os dados são expressos como mediana e intervalo interquartil (IQR). As comparações entre os grupos foram realizadas utilizando o teste U de Mann-Whitney, com $p \leq 0,05$ considerado estatisticamente significativo. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$.

4.9 ANÁLISE DA EXPRESSÃO DE CD68, iNOS E ESFINGOSINA EM DIFERENTES TRIMESTRES GESTACIONAIS

Foram realizadas análises da expressão dos marcadores CD68, iNOS e Esfingosina em pacientes com COVID-19, em relação aos diferentes trimestres gestacionais, demonstrado pela tabela 9. A amostra foi composta por 4 gestantes no primeiro trimestre de gravidez, 7 do segundo e 60 do terceiro trimestre, analisados para os três marcadores. Os resultados indicam que não houve diferença estatisticamente significativa na expressão dos marcadores CD68, iNOS e Esfingosina entre as gestantes.

TABELA 9: ANÁLISE DA EXPRESSÃO DE CD68, ESFINGOSINA E iNOS EM PACIENTES COM COVID-19: COMPARAÇÃO ENTRE OS TRIMESTRES DE INFECÇÃO

IMUNOMARCADOR	N	MEDIANA	IQR	Valor de <i>p</i>
CD 68: PRIMEIRO	4	0,544	0,933	0,250
CD 68: SEGUNDO	7	1,01	0,519	
CD 68: TERCEIRO	60	0,665	0,648	
ESFINGOSINA: PRIMEIRO	4	0,0500	0,120	0,171
ESFINGOSINA: SEGUNDO	7	0,190	0,179	
ESFINGOSINA: TERCEIRO	60	0,110	0,205	
iNOS: PRIMEIRO	4	0,0435	0,293	0,181
iNOS: SEGUNDO	7	0,747	1,02	
iNOS: TERCEIRO	60	0,437	0,729	

FONTE: A autora (2025).

LEGENDA: CD68(Agrupamento de Diferenciação 68); iNOS (Óxido nítrico sintase induzível).

NOTA: Os dados são expressos como mediana e intervalo interquartil (IQR). As comparações entre os grupos foram realizadas utilizando o teste U de Mann-Whitney, com $p \leq 0,05$ considerado estatisticamente significativo. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$.

4.10 ANÁLISE DA EXPRESSÃO DE CD68, INOS E ESFINGOSINA EM RELAÇÃO À INTENSIDADE DA COVID (LEVE/ASSINTOMÁTICO, MODERADO, GRAVE)

Considerando a intensidade da doença foram realizadas análises da expressão dos marcadores CD68, iNOS e Esfingosina em pacientes com COVID-19, demonstrado pela tabela 10. A amostra foi composta por 37 intensidade leve ou assintomática, 13 com quadro moderado e 21 consideradas grave. Os resultados indicam que não houve diferença estatística na expressão dos marcadores CD68, iNOS e Esfingosina entre as gestantes.

TABELA 10: ANÁLISE DA EXPRESSÃO DE CD68, ESFINGOSINA E iNOS EM PACIENTES COM COVID-19: COMPARAÇÃO ENTRE A GRAVIDADE DA DOENÇA

IMUNOMARCADOR	N	MEDIANA	IQR	Valor de <i>p</i>
CD 68: LEVE/ASSINTOMÁTICO	37	0,688	0,588	0,895
CD 68: MODERADO	13	0,612	0,862	
CD 68: GRAVE	21	0,695	0,643	
ESFINGOSINA: LEVE/ASSINTOMÁTICA	37	0,113	0,215	0,801
ESFINGOSINA: MODERADA	13	0,120	0,162	
ESFINGOSINA: GRAVE	21	0,106	0,208	
iNOS: LEVE/ASSINTOMÁTICO	37	0,450	0,790	0,542
iNOS: MODERADO	13	0,508	1,32	
iNOS: GRAVE	21	0,301	0,670	

FONTE: A autora (2025).

LEGENDA: CD68(Agrupamento de Diferenciação 68); iNOS (Óxido nítrico sintase induzível).

NOTA: Os dados são expressos como mediana e intervalo interquartil (IQR). As comparações entre os grupos foram realizadas utilizando o teste U de Mann-Whitney, com $p \leq 0,05$ considerado estatisticamente significativo. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$.

4.11 ANÁLISE DA EXPRESSÃO DE CD68, INOS E ESFINGOSINA EM RELAÇÃO AO ÓBITO NEONATAL (DENTRO DO GRUPO COVID)

A análise da expressão dos biomarcadores CD68, iNOS e Esfingosina foi realizada dentro do grupo de neonatos expostos à COVID-19, considerando a ocorrência de óbito neonatal, demonstrado pela tabela 11. A distribuição amostral foi de 2 neonatos que foram a óbito e 69 recém natos sem óbito neonatal. Os valores obtidos para a análise da expressão desses biomarcadores não demonstraram diferença estatística.

TABELA 11: ANÁLISE DA EXPRESSÃO DE CD68, ESFINGOSINA E iNOS EM PACIENTES COM COVID-19: ÓBITO NEONATAL

IMUNOMARCADOR	N	MEDIANA	IQR	Valor de <i>p</i>
CD 68: SEM ÓBITO NEONATAL	69	0,688	0,654	0,085
CD 68 ÓBITO NEONATAL	2	1,33	0,0535	
ESFINGOSINA: SEM ÓBITO NEONATAL	69	0,113	0,214	0,128
ESFINGOSINA: ÓBITO NEONATAL	2	0,0125	0,0125	
iNOS: SEM ÓBITO NEONATAL	69	0,450	0,741	0,931
iNOS: ÓBITO NEONATAL	2	0,659	0,524	

FONTE: A autora (2025).

LEGENDA: CD68(Agrupamento de Diferenciação 68); iNOS (Óxido nítrico sintase induzível).

NOTA: Os dados são expressos como mediana e intervalo interquartil (IQR). As comparações entre os grupos foram realizadas utilizando o teste U de Mann-Whitney, com $p \leq 0,05$ considerado estatisticamente significativo. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$.

4.12 ANÁLISE DA EXPRESSÃO DE CD68, INOS E ESFINGOSINA EM RELAÇÃO AO SEXO DO RECÉM NATO NAS GESTANTES COM COVID-19

A análise da expressão dos biomarcadores CD68, iNOS e Esfingosina foi realizada dentro do grupo de neonatos expostos à COVID-19, considerando o sexo fetal, demonstrado pela tabela 12. Os resultados para os biomarcadores analisados não apresentaram diferença estatística entre os dois sexos.

TABELA 12: ANÁLISE DA EXPRESSÃO DE CD68, ESFINGOSINA E iNOS EM PACIENTES COM COVID-19: SEXO NEONATAL

IMUNOMARCADOR	N	MEDIANA	IQR	Valor de <i>p</i>
CD 68: FEMININO	30	0,666	0,791	0,853
CD 68: MASCULINO	30	0,654	0,619	
ESFINGOSINA: FEMININO	30	0,0866	0,199	0,461
ESFINGOSINA: MASCULINO	30	0,127	0,191	
iNOS: FEMININO	30	0,599	0,659	0,876
iNOS: MASCULINO	30	0,419	0,954	

FONTE: A autora (2025).

LEGENDA: CD68(Agrupamento de Diferenciação 68); iNOS (Óxido nítrico sintase induzível).

NOTA: Os dados são expressos como mediana e intervalo interquartil (IQR). As comparações entre os grupos foram realizadas utilizando o teste U de Mann-Whitney, com $p \leq 0,05$ considerado estatisticamente significativo. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$.

4.13 ANÁLISE DA EXPRESSÃO DE CD68, INOS E ESFINGOSINA EM RECÉM-NASCIDOS COM SINTOMAS DE COVID-19

A presente análise descritiva investigou a expressão dos biomarcadores CD68, iNOS e esfingosina na relação HBC/VILO em recém-nascidos sintomáticos e assintomáticos

para COVID-19, demonstrado pela tabela 13. Foram analisadas amostras de 70 recém-nascidos, dos quais 66 eram assintomáticos e 4 apresentavam sintomas da doença. Os resultados para os biomarcadores analisados não apresentaram diferença estatística entre recém-nascidos sintomáticos e assintomáticos.

TABELA 13: ANÁLISE DA EXPRESSÃO DE CD68, ESFINGOSINA E iNOS EM PACIENTES COM COVID-19: SINTOMAS NEONATAIS DE COVID-19

IMUNOMARCADOR	N	MEDIANA	IQR	Valor de <i>p</i>
CD 68: ASSINTOMÁTICO	66	0,688	0,658	0,859
CD 68: SINTOMÁTICO	4	0,710	0,571	
ESFINGOSINA: ASINTOMÁTICA	66	0,110	0,208	0,674
ESFINGOSINA: SINTOMÁTICA	4	0,0882	0,216	
iNOS: ASSINTOMÁTICO	66	0,478	0,847	0,829
iNOS: SINTOMÁTICO	4	0,440	0,321	

FONTE: A autora (2025).

LEGENDA: CD68(Agrupamento de Diferenciação 68); iNOS (Óxido nítrico sintase induzível).

NOTA: Os dados são expressos como mediana e intervalo interquartil (IQR). As comparações entre os grupos foram realizadas utilizando o teste U de Mann-Whitney, com $p \leq 0,05$ considerado estatisticamente significativo. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$.

4.14 ANÁLISE DA EXPRESSÃO DE CD68, INOS E ESFINGOSINA NA PRESENÇA DE ALTERAÇÕES MACROSCÓPICAS NA PLACENTA

A análise descritiva foi conduzida para avaliar a relação entre alterações macroscópicas placentárias e a expressão dos biomarcadores CD68, iNOS e Esfingosina, demonstrado pela tabela 14. Foram examinadas 64 placentas, sendo que as alterações macroscópicas foram examinadas e classificadas segundo um protocolo vigente no serviço de patologia descrito em Rebutini *et al* (2021).

TABELA 14: ANÁLISE DA EXPRESSÃO DE CD68, ESFINGOSINA E iNOS EM PACIENTES COM COVID-19: COMPARAÇÃO ENTRE ANORMALIDADES PLACENTÁRIAS MACROSCÓPICAS

IMUNOMARCADOR	N	MEDIANA	IQR	Valor de <i>p</i>
CD 68: AUSENTE	10	0,738	0,413	0,624
CD 68: PRESENTE	54	0,688	0,691	
ESFINGOSINA: AUSENTE	10	0,116	0,159	0,933
ESFINGOSINA: PRESENTE	54	0,110	0,185	
iNOS: AUSENTE	10	0,459	0,908	0,767
iNOS: PRESENTE	54	0,437	0,760	

FONTE: A autora (2025).

LEGENDA: CD68(Agrupamento de Diferenciação 68); iNOS (Óxido nítrico sintase induzível).

NOTA: Os dados são expressos como mediana e intervalo interquartil (IQR). As comparações entre os grupos foram realizadas utilizando o teste U de Mann-Whitney, com $p \leq 0,05$ considerado estatisticamente significativo. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$.

4.15 ANÁLISE DA EXPRESSÃO DE CD68, INOS E ESFINGOSINA NA PRESENÇA DO SARS-COV-2 NA VILOSIDADE

Para determinar se a presença de SARS-CoV-2 nas vilosidades placentárias influenciou diretamente a imunomarcacão de células de Hofbauer (HBC), a análise de RT-qPCR identificou sete amostras placentárias positivas para RNA viral, demonstrado pela tabela 15. Essas placentas positivas para SARS-CoV-2 foram então comparadas com as 11 do grupo de controle não COVID-19 para isolar o efeito da infecção viral direta nos perfis imunológicos da placenta. Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas na expressão de CD68, Esfingosina ou iNOS entre placentas positivas para SARS-CoV-2 e controles.

TABELA 15: ANÁLISE DA EXPRESSÃO DE CD68, ESFINGOSINA E iNOS EM PACIENTES COM COVID-19: DETECÇÃO DE RNA SARS-COV-2 EM VILOSIDADES PLACENTÁRIAS

IMUNOMARCADOR	N	MEDIANA	Valor de p
CD 68: COVID -19	7	2,10	0,526
CD 68: NÃO COVID-19	11	1,00	
ESFINGOSINA: COVID -19	7	0,00	0,925
ESFINGOSINA: NÃO COVID -19	11	0,200	
iNOS: COVID -19	7	1,10	0,586
iNOS: NÃO COVID -19	11	1,00	

FONTE: A autora (2025).

LEGENDA: CD68(Agrupamento de Diferenciação 68); iNOS (Óxido nítrico sintase induzível).

NOTA: Os dados são expressos como mediana e intervalo interquartil (IQR). As comparações entre os grupos foram realizadas utilizando o teste U de Mann-Whitney, com $p \leq 0,05$ considerado estatisticamente significativo. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$.

5 DISCUSSÃO

Como principal interface imunológica entre mãe e feto, a placenta desempenha um papel crucial no desenvolvimento e proteção fetal. Macrófagos derivados do feto, conhecidos como células de Hofbauer (HBCs), habitam o estroma das vilosidades, onde participam da remodelação tecidual, vasculogênese e regulação imunológica (Reyes; Golos, 2018; Reyes; Wolfe; Golos, 2017). Essas células exibem notável plasticidade fenotípica, alternando entre perfis M1 (pró-inflamatório) e M2 (anti-inflamatório e reparador), de acordo com a idade gestacional e o microambiente local (Mosser; Edwards, 2008; Yao; Xu; Jin, 2019). Marcadores imuno-histoquímicos como CD68 (pan-macrófago), óxido nítrico sintase induzível – iNOS (marcador M1) – e esfingosina quinase 1 – SPHK1 (marcador M2) – são amplamente utilizados para caracterizar o estado funcional dessas células (Holness; Simmons, 1993; Sica; Invernizzi; Mantovani, 2014).

Durante o início e o meio da gestação, os HBCs exibem predominantemente um fenótipo M1, caracterizado pela expressão de citocinas pró-inflamatórias que favorecem a implantação e a remodelação vascular (Mezouar; Mege; Mezouar *et al.*, 2018). No final do segundo e ao longo do terceiro trimestre, adquirem um fenótipo M2 associado à produção de IL-10 e ao fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), o que contribui para a remodelação tecidual e a tolerância imunológica (Gustafsson *et al.*, 2008). Estudos anteriores demonstraram o papel dos macrófagos placentários na proteção imunológica durante infecções maternas, incluindo HIV e vírus Zika (De Noronha *et al.*, 2016; Schwartz, 2017; Johnson *et al.*, 2015). Mais recentemente, a atenção se voltou para o SARS-CoV-2, com relatos de infiltração de macrófagos CD68⁺ e polarização do tipo M2 em placentas positivas para COVID-19 (Vivanti *et al.*, 2020; Facchetti *et al.*, 2020). Entretanto, a consistência e a relevância biológica desses achados ainda permanecem incertas, ressaltando a necessidade de definir melhor a resposta das células de Hofbauer no contexto da infecção materna por SARS-CoV-2.

Nossos resultados estão em concordância com os achados de Doratt *et al.* (2023), que observaram aumento de células de Hofbauer e infiltração de macrófagos maternos nas vilosidades fetais, mesmo na ausência de transmissão

vertical. Nesse estudo, a elevação de quimiocinas e a ativação de monócitos sugerem a ocorrência de uma resposta inflamatória intrauterina, possivelmente refletida no aumento da expressão de CD68, o que reforça os dados obtidos em nossa análise (Doratt, *et al.*, 2023).

De forma geral, nossos achados indicam que as placentas de gestantes com COVID-19 apresentam um perfil imunofenotípico distinto ao termo, caracterizado por um aumento significativo de células de Hofbauer CD68-positivas e pela maior expressão do marcador M2 (SPHK1), enquanto o marcador associado ao fenótipo M1 (iNOS) permaneceu inalterado. Esses resultados sugerem uma modulação seletiva da resposta macrofágica na interface materno-fetal diante da infecção pelo SARS-CoV-2. Isso sugere que a infecção materna por SARS-CoV-2, em vez de amplificar a ativação pró-inflamatória, promove uma polarização compensatória do tipo M2, refletindo uma adaptação imunorreguladora do microambiente placentário. Esses resultados estão de acordo com estudos recentes que relatam aumento de marcadores M2 e expansão de macrófagos em placentas com COVID-19 (Vivanti *et al.*, 2020; Facchetti *et al.*, 2020), apoiando a hipótese de que essas alterações representam remodelação estromal e proteção tecidual.

Em condições fisiológicas, os HBCs mantêm um fenótipo predominantemente M2, que sustenta o reparo tecidual e a tolerância materno-fetal (Reyes; Golos, 2018; Zulu *et al.*, 2019). Modelos experimentais demonstram que, mesmo sob desafio inflamatório, esses macrófagos exibem capacidade limitada de transição para o fenótipo M1 (Schliefsteiner; Ibesich; Wadsack, 2020; Swieboda, *et al.*, 2020). A hiperplasia de CD68 observada e a regulação positiva de SPHK1 reforçam essa plasticidade intrínseca: no contexto da COVID-19 materna, os HBCs parecem proliferar e preservar um fenótipo reparador em resposta à inflamação sistêmica, em vez de adotar um perfil pró-inflamatório. A ausência de aumento da iNOS sugere que a modulação imune placentária reflete efeitos sistêmicos mediados por citocinas, e não replicação viral local (Enninga *et al.*, 2024; Shook *et al.*, 2024).

Além disso, observou-se que a modulação fenotípica dos HBCs não foi influenciada por comorbidades maternas, trimestre de infecção, gravidade da doença, resultados neonatais ou alterações histopatológicas placentárias. Essa consistência entre os subgrupos clínicos indica uma assinatura imunológica

uniforme associada à COVID-19 materna. Apenas o diabetes mellitus se correlacionou com o aumento da expressão de SPHK1, em conformidade com evidências de que as placentas diabéticas tendem a apresentar predominância de macrófagos M2 (Tauber *et al.*, 2024; Zhang; Cui; Yang, 2022). Esses achados sugerem que os efeitos imunomoduladores observados estão principalmente relacionados à COVID-19, independentemente de distúrbios metabólicos ou hipertensivos pré-existentes.

Por fim, para investigar se as alterações imunológicas foram impulsionadas por infecção viral direta, compararam-se placentas positivas e negativas para RNA do SARS-CoV-2. Não foram detectadas diferenças significativas na expressão dos marcadores de HBC entre os grupos, indicando que tais efeitos não dependem da presença viral no tecido viloso. Essa observação é compatível com estudos moleculares que demonstram mínima detecção de RNA viral nas vilosidades, apesar da remodelação inflamatória e ativação macrofágica (Gabby *et al.*, 2025; Wardhana *et al.*, 2024; Coler *et al.*, 2023).

Foram identificadas diferenças significativas nos marcadores imunológicos placentários entre mulheres com e sem COVID-19, evidenciando a notável plasticidade das células de Hofbauer diante da infecção viral e das comorbidades maternas. O aumento da expressão de CD68 no grupo COVID-19 indica hiperplasia de células de Hofbauer, sugerindo que o SARS-CoV-2 pode levar seu recrutamento além do que seria esperado apenas do estado clínico materno. Esse achado reforça o papel central da placenta na regulação dos processos inflamatórios e adaptativos. Níveis elevados de esfingosina sugerem ainda uma mudança compensatória em direção ao fenótipo M2 anti-inflamatório, apoiando o equilíbrio imunológico e a função placentária no contexto da infecção.

Assim, os dados apontam para a importância de se considerar o contexto clínico e fisiopatológico no qual as alterações fenotípicas das HBCs ocorrem. Futuros estudos com maior poder amostral e análises funcionais detalhadas dos subtipos celulares e vias de sinalização envolvidas poderão esclarecer os mecanismos que regulam essa plasticidade imune na placenta, especialmente em cenários de comorbidades como a COVID-19 (Young *et al.*, 2014).

O uso de amostras embebidas em parafina fornece apenas um registro estático das condições placentárias no parto, restringindo a avaliação de alterações imunológicas dinâmicas ao longo do tempo. Além disso, a triagem de

RNA viral foi realizada em seções parciais de blocos histológicos, podendo subestimar a detecção viral. A maioria das amostras correspondeu a infecções no terceiro trimestre, o que limitou a análise de padrões imunológicos em estágios gestacionais anteriores — períodos em que os fenótipos macrofágicos diferem acentuadamente. Estudos futuros com tecido fresco, transcriptômica de célula única e amostragem seriada serão essenciais para elucidar a evolução temporal das respostas das células de Hofbauer à infecção materna.

6 CONCLUSÃO

Ao quantificar as células marcadas com CD68 na porção da vilosidade, entre o grupo de gestantes com COVID-19 e o grupo NÃO COVID verificou-se um aumento no número de Histiócitos de Hofbauer nas placentas de gestantes que tiveram COVID-19.

O resultado das análises indicam diferença estatisticamente significativa na Esfingosina entre os grupos COVID-19 e NÃO-COVID, enquanto a expressão de iNOS não apresentou diferença significativa

Somente as gestantes do grupo COVID-19 portadoras de Diabetes Mellitus tiveram uma maior expressão tecidual de Esfingosina. Não há significância estatística ao analisar a expressão tecidual dos imunomarcadores iNOS e Esfingosina nas gestantes do grupo COVID-19, de acordo com fatores maternos, gestacionais e fatores do conceito.

Não foram encontrados quaisquer outros resultados significativos na expressão dos biomarcadores analisados na presença do RNA do SARS-CoV-2 nas vilosidades placentárias quando se compara a expressão tecidual dos imunomarcadores iNOS e Esfingosina na vilosidade no grupo das gestantes COVID- 19.

Esses resultados reforçam a necessidade de estudos adicionais para elucidar os mecanismos subjacentes à resposta imunológica placentária em condições de infecção viral e comorbidades gestacionais, visando uma melhor compreensão do impacto dessas interações na saúde materno-fetal e na transmissão vertical.

REFERÊNCIAS

- ALLEN, C.; BARRY, F. **The cytology of Hofbauer cells**. *Anatomical Record*, [s.l.], v. 167, n. 2, p. 231-251, 1970. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/5445027/>. Acesso em: 18 out. 2023.
- ALLOTEY, J. *et al.* **Clinical manifestations, risk factors, and maternal and perinatal outcomes of coronavirus disease 2019 in pregnancy: living systematic review and meta-analysis**. *BMJ*, Londres, v. 370, p. m3320, 2020. DOI: 10.1136/bmj.m3320.
- ALMEIDA, J. D. *et al.* **Virology: Coronaviruses**. *Nature*, [s.l.], v. 220, n. 5168, p. 650, 1968. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/220650b0>. Acesso em: 10 out. 2024.
- ALMOHAMMADI, N. H. **A review of the main placenta histopathological findings reported in coronavirus disease 2019**. *Journal of Taibah University Medical Sciences*, [s.l.], v. 17, n. 2, p. 165-173, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jtumed.2022.02.009>. Acesso em: 18 out. 2023.
- ARCOS JÚNIOR, G. F. *et al.* **Placental pathological findings in coronavirus disease 2019: perinatal outcomes**. *Placenta*, [s.l.], v. 128, p. 23-28, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.placenta.2022.07.007>. Acesso em: 18 out. 2023.
- ARROYO-SANCHEZ, A. S. *et al.* **Gestantes con enfermedad por coronavirus 2019 y transmisión vertical intrauterina: una revisión sistemática**. *Revista Peruana de Ginecología y Obstetricia*, [s.l.], v. 66, n. 3, 2020. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.31403/rpgo.v66i2277>. Acesso em: 18 out. 2023.
- ASCHOFF, L.; KIYONO, K. **On the question of the large mononuclear cells**. *Folia Haematologica*, [s.l.], v. 15, p. 383-390, 1913.
- ASHRAF, M. A. *et al.* **Coronavirus disease 2019 (COVID-19): A systematic review of pregnancy and the possibility of vertical transmission**. *Journal of Reproduction & Infertility*, [s.l.], v. 21, n. 3, p. 157-168, 2020. Acesso em: 18 out. 2023.
- ASKARY, E. *et al.* **Coronavirus disease 2019 (COVID-19) manifestations during pregnancy in all three trimesters: a case series**. *International Journal of Reproductive Biomedicine*, [s.l.], v. 19, n. 2, p. 191-204, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.18502/ijrm.v19i2.8477>. Acesso em: 18 out. 2023.
- BECKER, J. *et al.* **Immunofluorescence studies on the expression of the SARS-CoV-2 receptors in human term placenta**. *Cells Tissues Organs*, [s.l.], v. 212, n. 2, p. 138-146, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1159/000521436>.

Acesso em: 18 out. 2023.

BRIAN, D. A.; BARIC, R. S. **Coronavirus genome structure and replication**. *Current Topics in Microbiology and Immunology*, [s.l.], v. 287, p. 1-30, 2019. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15609507/>. Acesso em: 18 out. 2023.

BUECKERT, M. et al. **Infectivity of SARS-CoV-2 and other coronaviruses on dry surfaces: potential for indirect transmission**. *Materials*, [s.l.], v. 13, n. 22, p. 5211, 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33218120/>. Acesso em: 14 out. 2024.

BURTON, G. J.; FOWDEN, A. L. **The placenta: a multifaceted, transient organ**. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, [s.l.], v. 370, n. 1663, p. 20140066, 2015. Disponível em: <https://royalsocietypublishing.org/doi/10.1098/rstb.2014.0066>. Acesso em: 18 ago. 2024.

BUSAM, K. J.; AMIN, B.; PULITZER, M. **Dermatopathology**. Philadelphia: Saunders/Elsevier, 2010.

CARTER, J. **Virology: Principles and Applications**. 1st ed. Chichester: Wiley, 2007.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). **Care for Breastfeeding People: Interim Guidance on Breastfeeding and Breast-Milk Feeds in the Context of COVID-19**. Atlanta: CDC, 25 fev. 2022. Disponível em: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/hcp/care-for-breastfeeding-people.html>. Acesso em: 15 nov. 2025.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). **Coronavirus Disease 2019: Healthcare Professionals**. Disponível em: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/hcp/index.html>. Acesso em: 18 out. 2023.

CHI, H. et al. **Clinical features of neonates born to mothers with coronavirus disease-2019: A systematic review of 105 neonates**. *J Microbiol Immunol Infect.*, v. 54, n. 1, p. 69-76, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jmii.2020.07.024>. Acesso em: 18 out. 2023.

CHISTIAKOV, D. A. et al. **CD68/macrosialin: not just a histochemical marker**. *Laboratory Investigation*, v. 97, n. 1, p. 4–13, jan. 2017. DOI: <https://doi.org/10.1038/labinvest.2016.116>.

COLER, B. et al. **Placental immune activation and Hofbauer cell responses in SARS-CoV-2-positive pregnancies**. *Placenta*, v. 155, p. 45–56, 2023.

DE LUCA, D. et al. **Transmission of SARS-CoV-2 from mother to fetus or**

neonate: What to know and what to do? *Seminars in Fetal & Neonatal Medicine*, v. 28, n. 1, p. 101429, 2023. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10010052/>. Acesso em: 18 ago. 2024.

DE NORONHA, L. et al. **Zika virus infection at different pregnancy stages: Anatomopathological findings, target cells and viral persistence in placental tissues.** *Frontiers in Microbiology*, v. 7, p. 112–120, 2016.

DEHGHAN, K.; AGHAZADEH, S. **Vertical Transmission of Coronavirus Disease 2019: A Case Report.** *Iranian Journal of Neonatology*, v. 12, n. 3, p. 98-99, 2021. DOI: 10.22038/ijn.2021.50271.1878. Acesso em: 18 out. 2023.

DISSE, S. C. et al. **COVID-19 in 28-Week Triplets Caused by Intrauterine Transmission of SARS-CoV-2 – Case Report.** *Front Pediatr.*, v. 9, n. 8, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fped.2021.812057>. Acesso em: 18 out. 2023.

DORATT, B. M. et al. **Mild/asymptomatic COVID-19 in unvaccinated pregnant mothers impairs neonatal immune responses.** *JCI Insight*, v. 8, n. 19, p. e172658, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1172/jci.insight.172658>. Acesso em: 18 out. 2023.

DORATT, B. M. et al. **Mild/Asymptomatic Maternal SARS-CoV-2 Infection Leads to Immune Paralysis in Fetal Circulation and Immune Dysregulation in Fetal-Placental Tissues.** *BioRxiv*, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1101/2023.05.10.540233>. Acesso em: 18 out. 2023.

EGLOFF, C. et al. **Evidence and possible mechanisms of rare maternal-fetal transmission of SARS-CoV-2.** *Journal of Clinical Virology*, v. 128, 2020. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7233246/>. Acesso em: 12 nov. 2024.

ELBERSON, V. **Coronavirus Disease 2019 in a Premature Infant: Vertical Transmission and Antibody Response or Lack Thereof.** *AJP Reports*, v. 10, n. 3, p. 224-227, 2020. Disponível em: <https://dx.doi.org/10.1055/s-0040-1715176>. Acesso em: 18 out. 2023.

ENNINGA, E. A. L. et al. **Maternal immune responses to SARS-CoV-2 infection during pregnancy: Modulation of placental macrophage phenotypes.** *American Journal of Pathology*, v. 194, n. 3, p. 512–526, 2024.

FACCHETTI, F. et al. **SARS-CoV-2 vertical transmission with adverse effects on the newborn revealed through integrated immunohistochemical, electron microscopy and molecular analyses of placenta.** *EBioMedicine*, v. 59, p. 29–51, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2020.102951>. Acesso em: 18 out. 2023.

FAHMI, A. et al. **SARS-CoV-2 can infect and propagate in human placenta explants.** *Cell Reports Medicine*, v. 2, n. 12, 2021. Disponível em:

<https://doi.org/10.1016/j.xcrm.2021.100456>. Acesso em: 18 out. 2023.

FENIZIA, C. et al. **Analysis of SARS-CoV-2 vertical transmission during pregnancy.** *Nature Communications*, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41467-020-18933-4>. Acesso em: 18 out. 2023.

FERREIRA, D. A.; LIMA, I. O. **Morfocitologia das Células de Hofbauer, Enfatizando Processos Imunopatogênicos, Observando Seu Papel na Placenta.** *Revista de Ciências da Saúde Nova Esperança*, v. 16, n. 3, p. 75–82, 2018. Disponível em: http://www.facene.com.br/wp-content/uploads/2018/12/CAP-09_N3-1.pdf. Acesso em: 10 nov. 2024.

FRIGERIO, L. et al. **Vertical transmission of coronavirus disease 2019: severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 RNA on the fetal side of the placenta in pregnancies with coronavirus disease 2019-positive mothers and neonates at birth.** *American Journal of Obstetrics & Gynecology MFM*, v. 2, n. 3, p. 100145, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ajogmf.2020.100145>. Acesso em: 18 out. 2023.

GABBY, K. et al. **Lack of evidence for productive SARS-CoV-2 infection in human placenta despite inflammation.** *Nature Communications*, v. 16, p. 217–230, 2025.

GINHOUX, F. et al. **Erythro-myeloid progenitor origin of Hofbauer cells in the early mouse placenta.** *Development*, Cambridge, v. 149, n. 8, p. dev200104, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1242/dev.200104>.

GOLDSTEIN, J.; BRAVERMAN, M.; SALAFIA, C.; BUCKLEY, P. **The phenotype of human placental macrophages and its variation with gestational age.** *American Journal of Pathology*, Baltimore, v. 133, n. 3, p. 648-659, dez. 1988. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3264459/>. Acesso em: 9 ago. 2025.

GOSAIN, R.; MOTWANI, R.; ANUPAMA, H. **CD68 expression in the placenta of gestational diabetic mothers: A case–control study.** *Indian Journal of Pathology and Microbiology*, v. 66, n. 4, p. 727–731, 2022. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38084523/>. Acesso em: 10 nov. 2024.

GUPTA, A. et al. **In utero vertical transmission of coronavirus disease 2019 in a severely ill 29-week preterm infant.** *AJP Reports*, v. 10, n. 3, p. 270-274, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1055/s-0040-1715177>. Acesso em: 18 out. 2023.

GUSTAFSSON, C. et al. **Gene expression profiling of human decidual macrophages: Evidence for immunosuppressive phenotype.** *PLoS ONE*, v. 3, n. 4, p. e2078, 2008.

HARRISON, A. G.; LIN, T.; WANG, P. **Mechanisms of SARS-CoV-2 Transmission and Pathogenesis.** *Trends in Immunology*, v. 41, n. 12, p.

1100–1115, 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33132005/>. Acesso em: 15 ago. 2024.

HECHT, J. L. et al. **SARS-CoV-2 can infect the placenta and is not associated with specific placental histopathology: a series of 19 placentas from COVID-19-positive mothers.** *Modern Pathology*, v. 33, n. 11, p. 2091-2103, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41379-020-0639-4>. Acesso em: 18 out. 2023.

HESSAMI, K. et al. **Placental vascular and inflammatory findings from pregnancies diagnosed with coronavirus disease 2019: a systematic review and meta-analysis.** *American Journal of Perinatology*, v. 39, n. 15, p. 1643-1653, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1055/a-1787-7933>. Acesso em: 18 out. 2023.

HOEFFEL, G.; GINHOUX, F. **Fetal monocytes and the origins of tissue-resident macrophages.** *Cell Immunology*, v. 330, p. 5-15, 2018. DOI: 10.1016/j.cellimm.2018.01.001.

HOFBAUER, J. **Über das konstante vorkommen bisher unbekannter zelliger Formelemente in der Chorionzotte der menschlichen Plazenta und über Embryotrophe.** *Klinische Wochenschrift*, v. 16, p. 871-873, 1903. Acesso em: 18 out. 2024.

HOFFMANN, M. et al. **SARS-CoV-2 cell entry depends on ACE2 and TMPRSS2 and is blocked by a clinically proven protease inhibitor.** *Cell*, v. 181, n. 2, p. 271-280.e8, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.02.052>.

HOLLAND, C.; HAMMOND, C.; RICHMOND, M. M. **COVID-19 and Pregnancy: Risks and Outcomes.** *Nursing for Women's Health*, v. 27, n. 3, p. 31–41, 2023. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36528073/>. Acesso em: 18 out. 2023.

HOLNESS, C. L.; SIMMONS, D. L. **Molecular cloning of CD68, a human macrophage marker related to lysosomal glycoproteins.** *Blood*, v. 81, n. 6, p. 1607–1613, 15 mar. 1993.

HOLNESS, C. L.; SIMMONS, D. L. **Molecular cloning of CD68, a human macrophage marker related to lysosomal glycoproteins.** *Journal of Immunology*, v. 150, n. 11, p. 4719– 4729, 1993.

JACKSON, C. B. et al. **Mechanisms of SARS-CoV-2 entry into cells.** *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, v. 23, p. 3-20, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41580-021-00418-x>.

JOERINK, M.; RINDSJÖ, E.; VAN RIEL, B.; ALM, J.; PAPADOGIANNAKIS, N. **Placental macrophage (Hofbauer cell) polarization is independent of maternal allergen- sensitization and presence of chorioamnionitis.** *Placenta*,

v. 32, n. 5, p. 380–385, 2011. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0143400411000889?via%3Dihub>. Acesso em: 5 out. 2024.

JOHNSON, E. L. et al. **Placental Hofbauer cells limit HIV-1 replication and potentially offset mother-to-child transmission by induction of innate restriction factors.** *Journal of Virology*, v. 89, n. 23, p. 11652–11665, 2015.

JUSEOK, Y. et al. **Impact of Coronavirus Disease 2019 in Cesarean Delivery and Neonates: A Case-Control Study.** *Clinical and Experimental Obstetrics & Gynecology*, v. 50, n. 6, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.31083/j.ceog5006120>. Acesso em: 18 out. 2023.

KIM, D. et al. **The Architecture of SARS-CoV-2 Transcriptome.** *Cell*, v. 181, n. 4, p. 914- 921.e10, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.04.011>.

KLEIN, S. et al. **SARS-CoV-2 structure and replication characterized by in situ cryo- electron tomography.** *Nature Communications*, v. 11, n. 1, p. 5885, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41467-020-19619-7>.

KLEINERT, H.; PAUTZ, A.; LINKER, K.; SCHWARZ, P. M. **Regulation of the expression of inducible nitric oxide synthase.** *European Journal of Pharmacology*, v. 500, n. 1-3, p. 255– 266, 2004. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15464038/>. Acesso em: 10 nov.2024.

KLEINERT, H.; SCHWARZ, P. M.; FÖRSTERMANN, U. **Regulation of the Expression of Inducible Nitric Oxide Synthase.** *Biological Chemistry*, v. 384, n. 10-11, 2003. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14669979/>. Acesso em: 5 nov. 2024.

KNAPP, W. et al. **Leukocyte typing IV: leukocyte differentiation antigens.** Oxford: Oxford University Press, 1991. p. 78.

KOTLYAR, A. M. et al. **Vertical transmission of coronavirus disease 2019: a systematic review and meta-analysis.** *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, v. 224, n. 1, p. 35-53, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2020.07.049>. Acesso em: 18 out. 2023.

KUHN, M. **Building predictive models in R using the caret package.** *Journal of Statistical Software*, v. 28, n. 5, 2008. Disponível em: <https://www.jstatsoft.org/article/view/v028i05>. Acesso em: 1 dez. 2024.

LEE, H. J. et al. **The complete sequence (22 kilobases) of murine coronavirus gene 1 encoding the putative proteases and RNA polymerase.** *Virology*, v. 180, n. 2, p. 567–582, 1991. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1846489/>. Acesso em: 10 set. 2024.

LETKO, M.; MARZI, A.; MUNSTER, V. **Functional assessment of cell entry and**

receptor usage for SARS-CoV-2 and other lineage B betacoronaviruses. *Nature Microbiology*, v. 5, n. 4, p. 562–569, 2020. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41564-020-0688-y>. Acesso em: 20 ago. 2024.

LI, F. et al. **Structure of SARS Coronavirus Spike Receptor-Binding Domain Complexed with Receptor.** *Science*, v.309, n.5742, p. 1864–1868, 2005. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16166518/>. Acesso em: 20 ago. 2024.

LI, P.; XIE, M.; ZHANG, W. **Clinical characteristics and intrauterine vertical transmission potential of coronavirus disease 2019 infection in 9 pregnant women: a retrospective review of medical records.** *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, v. 223, n. 6, p. 955-956, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2020.08.059>. Acesso em: 18 out. 2023.

LI, Y. et al. **Role of air distribution in SARS transmission during the largest nosocomial outbreak in Hong Kong.** *Indoor Air*, v. 15, n. 2, p. 83–95, 2005. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15737151/>. Acesso em: 14 out. 2024.

LU, R. et al. **Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding.** *The Lancet*, v. 395, n. 10224, p. 565– 574, 2020. Disponível em: [https://www.thelancet.com/article/S0140-6736\(20\)30251-8/fulltext](https://www.thelancet.com/article/S0140-6736(20)30251-8/fulltext). Acesso em: 14 out. 2024.

MALONE, B. et al. **Structural basis for backtracking by the SARS-CoV-2 replication– transcription complex.** *Proceedings of the National Academy of Sciences (PNAS)*, v. 119, n. 4, e2102516119, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.2102516119>.

MARTINEZ, F. O.; HELMING, L.; GORDON, S. **Alternative Activation of Macrophages: An Immunologic Functional Perspective.** *Annual Review of Immunology*, v. 27, n. 1, p. 451–483, 2009. Disponível em: <https://pdfs.semanticscholar.org/305c/4eba520a743b0476994fc45125bca3c1af3e.pdf>. Acesso em: 8 nov. 2024.

MARZOLLO, R. et al. **Possible Coronavirus Disease 2019 Pandemic and Pregnancy: Vertical Transmission Is Not Excluded.** *Pediatric Infectious Disease Journal*, v. 39, n. 9, p. 261-262, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1097/inf.0000000000002816>. Acesso em: 18 out. 2023.

MCHUGH, M. L. **Interrater reliability: the kappa statistic.** *Biochemia Medica*, v. 22, n. 3, p. 276–282, 2012. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23092060/>. Acesso em: 1 dez. 2024.

MEDAWAR, P. B. **Some immunological and endocrinological problems raised by the evolution of viviparity in vertebrates.** *Symposia of the Society for Experimental Biology*, v. 7, p. 320–338, 1953. Disponível em: DOI: 10.1038/1951323a0. Acesso em: 20 ago. 2024.

MEGLI, C.; COYNE, C. B. **Gatekeepers of the fetus: Characterization of placental macrophages.** *Journal of Experimental Medicine*, v. 4, n. 1, p. 218, 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33601417/>. Acesso em: 20 out. 2024.

MEZOUAR, S. et al. **Placental macrophages: origin, heterogeneity, function and role in pregnancy-associated infections.** *Placenta*, v. 103, p. 94–103, jan. 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.placenta.2020.10.017>.

MEZOUAR, S.; MEGE, J. L.; MEZOUAR, L. et al. **Macrophage activation states in placental development and viral infection: A review.** *Placenta*, v. 72, p. 1–9, 2018.

MOORE, K. L.; PERSAUD, T. V. N.; TORCHIA, M. G. **Embriologia clínica.** 11. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2020.

MOR, G.; ALDO, P.; ALVERO, A. B. **Os aspectos imunológicos e microbianos únicos da gravidez.** *Nature Reviews Immunology*, v. 17, n. 8, p. 469–482, 2017. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nri.2017.64>. Acesso em: 20 ago. 2024.

MOREIRA, L. M. O. et al. **SARS-CoV-2 infection in pregnant women and newborns in two maternity hospitals in Salvador-Bahia, Brazil.** *Brazilian Journal of Infectious Diseases*, v. 25, n. 3, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bjid.2021.101591>. Acesso em: 18 out. 2023.

MOSSER, D. M.; EDWARDS, J. P. **Exploring the full spectrum of macrophage activation.** *Nature Reviews Immunology*, v. 8, n. 12, p. 958–969, 2008. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nri2448>. Acesso em: 20 out. 2024.

MOTTA JUNIOR, J. da S. et al. **Mast Cells in Alveolar Septa of COVID-19 Patients: A Pathogenic Pathway That May Link Interstitial Edema to Immunothrombosis.** *Frontiers in Immunology*, v. 11, 2020.

NAQVI, A. A. T. et al. **Insights into SARS-CoV-2 genome, structure, evolution, pathogenesis and therapies: Structural genomics approach.** *Biochimica et Biophysica Acta – Molecular Basis of Disease*, v. 1866, n. 10, p. 165878, 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32544429/>. Acesso em: 12 out. 2024.

NOBREGA, G. M. et al. **Placental sampling for understanding viral infections –**

a simplified protocol for the COVID-19 pandemic. *Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia*, v. 43, n. 5, p. 377–383, maio 2021.

DOI: 10.1055/s-0041-1729146. Disponível em: <https://www.thieme-connect.com/products/ejournals/abstract/10.1055/s-0041-1729146>. Acesso em: 2 jul. 2025.

OBSERVATÓRIO OBSTÉTRICO BRASILEIRO. **OOBr SRAG: Síndrome respiratória aguda grave em gestantes e puérperas.** 2021. Disponível em: https://observatorioobstetrico.shinyapps.io/covid_gesta_puerp_br. Acesso em: 10 nov. 2024.

PATANÈ, L. et al. **Clinical course of coronavirus disease-2019 in pregnancy.** *Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica*, v. 99, n. 7, p. 839–847, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/aogs.13921>. Acesso em: 18 out. 2023.

QIANCHENG, X. et al. **Coronavirus disease 2019 in pregnancy.** *International Journal of Infectious Diseases*, v. 95, p. 376–383, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2020.04.065>. Acesso em: 18 out. 2023.

R CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing.** Vienna: R Foundation for Statistical Computing, 2021. Disponível em: <https://www.r-project.org/>.

RANGCHAIKUL, P.; VENKETARAMAN, V. **SARS-CoV-2 and the Immune Response in Pregnancy with Delta Variant Considerations.** *Infectious Disease Reports*, v. 13, n. 4, p. 993–1008, 2021.

REBUTINI, P. Z. et al. **Association Between COVID-19 Pregnant Women Symptoms Severity and Placental Morphologic Features.** *Frontiers in Immunology*, v. 12, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.685919>. Acesso em: 18 out. 2023.

RENDELL, V.; BATH, N. M.; BRENNAN, T. V. **Medawar's Paradox and Immune Mechanisms of Fetomaternal Tolerance.** *OBM Transplantation*, v. 4, n. 1, p. 26, 2020. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7314236/>. Acesso em: 12 out. 2024.

RESTA, L. et al. **SARS-CoV-2, Placental Histopathology, Gravity of Infection and Immunopathology: Is There an Association?** *Viruses*, v. 14, n. 6, p. 1330, 2022. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35746801/>. Acesso em: 14 nov. 2024.

REYES, L.; GOLOS, T. G. **Hofbauer Cells: Their Role in Healthy and Complicated Pregnancy.** *Frontiers in Immunology*, v. 9, 2018. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2018.02628/full>. Acesso em: 9 nov. 2024.

REYES, L.; GOLOS, T. G. **Placental Hofbauer cells: Macrophages with developmental roles beyond immunity.** *Placenta*, v. 69, p. 21–27, 2018.

REYES, L.; WOLFE, B.; GOLOS, T. G. **Hofbauer Cells: Placental Macrophages of Fetal Origin.** *Results and Problems in Cell Differentiation*, v. 62, p. 45–60, 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28455705/>. Acesso em: 14 nov. 2024.

REYES, L.; WOLFE, B.; GOLOS, T. G. **Hofbauer cells: Their role in pregnancy and perinatal infection.** *Placenta*, v. 62, p. 121–128, 2017.

RIVERA-HERNANDEZ, P. et al. **The Evolution of the Placenta.** *Reproduction*, v. 152, n. 5, p. R179–R189, 2016. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC5033709/>. Acesso em: 20 ago. 2024.

SAMPIERI, C.L.; MONTERO, H. **Review of new evidence about the possible vertical transmission of coronavirus disease-2019.** *GAC SANIT*, v. 36, n. 2, p. 166-172, 2022. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0213911120301370>. Acesso em: 18 out. 2023.

SANCHEZ, J. et al. **Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 detected in placentas of 2 coronavirus disease 2019-positive asymptomatic pregnant women— case report.** *AJOG Glob Rep.*, v. 1, n. 1, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.xagr.2020.100001>. Acesso em: 18 out. 2023.

SCHLIEFSTEINER, M.; IBESICH, S.; WADSACK, C. **Placental Hofbauer cells and their role in maternal-fetal tolerance and immune regulation.** *Frontiers in Immunology*, v. 11, p. 597– 607, 2020.

SCHWARTZ, D.A. **An Analysis of 38 Pregnant Women With COVID-19, Their Newborn Infants, and Maternal-Fetal Transmission of SARS-CoV-2: Maternal Coronavirus Infections and Pregnancy Outcomes.** *Arch Pathol Lab Med*, v. 144, n. 7, p. 799-805, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.5858/arpa.2020-0901-SA>. Acesso em: 18 out. 2023.

SCHWARTZ, D.A. et al. **Chronic Histiocytic Intervillositis With Trophoblast Necrosis Is a Risk Factor Associated With Placental Infection From Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) and Intrauterine Maternal-Fetal Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) Transmission in Live-Born and Stillborn Infants.** *Arch Pathol Lab Med*, v. 145, n. 5, p. 517-528, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.5858/arpa.2020-0771-SA>. Acesso em: 18 out. 2023.

SCHWARTZ, D.A. et al. **Hofbauer Cells and COVID-19 in Pregnancy.** *Arch Pathol Lab Med*, v. 145, n. 11, p. 1328-1340, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.5858/arpa.2021-0296-SA>. Acesso em: 18 out. 2023.

SCHWARTZ, D.A. **Viral infection, proliferation, and hyperplasia of Hofbauer cells and absence of inflammation characterize the placental pathology of fetuses with congenital Zika virus infection.** *Archives of Gynecology and Obstetrics*, v. 295, n. 6, p. 1361–1368, 2017.

SCHWARTZ, D.A.; MOROTTI, D.; BEIGI, B.; MOSHFEGH, F.; ZAFARANLOO, N.; PATANÈ, L. **Confirming Vertical Fetal Infection With Coronavirus Disease 2019: Neonatal and Pathology Criteria for Early Onset and Transplacental Transmission of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 From Infected Pregnant Mothers.** *Arch Pathol Lab Med*, v. 144, n. 12, p. 1451-1456, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.5858/arpa.2020-0442-SA>. Acesso em: 18 out. 2023.

SCHWARTZ, D.A.; THOMAS, K.M. **Characterizing COVID-19 maternal-fetal transmission and placental infection using comprehensive molecular pathology.** *EBioMedicine*, v. 60, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2020.102983>. Acesso em: 18 out. 2023.

SEEFRIED, M.C. et al. **Expression of the Mucin-like Glycoprotein CD24 and Its Ligand Siglec-10 in Placentas with Acute and Post SARS-CoV-2 Infection.** *Journal of Reproductive Immunology*, vol. 167, 2024.

ŞENGÜL, M.; ŞEN SELİM, H.; ŞEN, S.; ÖCAL, İ.; AYDOĞMUŞ, H.; ÇIRALI, C. **The Effects**

of Asymptomatic Coronavirus Disease-2019 on Placenta at Third Trimester Pregnancy: A Comprehensive Study. *J Clin Obstet Gynecol*, v. 33, n. 1, p. 1-5, 2023. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.5336/jcog.2022-90084>. Acesso em: 18 out. 2023.

SHOOK, L.L. et al. **Placental immune signatures associated with maternal SARS-CoV-2 infection.** *Nature Medicine*, v. 30, p. 125–138, 2024.

SICA, A.; INVERNIZZI, P.; MANTOVANI, A. **Macrophage plasticity and polarization in liver homeostasis and pathology.** *Hepatology*, v. 59, n. 5, p. 2034–2042, 2014. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24115204/>. Acesso em: 1 nov. 2024.

SICA, A.; INVERNIZZI, P.; MANTOVANI, A. **Macrophage plasticity and polarization in tissue repair and remodeling.** *Journal of Pathology*, v. 232, n. 2, p. 290–297, 2014.

SISINO, G. et al. **Diabetes during pregnancy influences Hofbauer cells, a subtype of placental macrophages, to acquire a pro-inflammatory phenotype.** *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*, v. 1832, n. 12, p. 1959–1968, dez. 2013.

SNIJDER, E.J. et al. **A unifying structural and functional model of the**

coronavirus replication organelle: Tracking down RNA synthesis. *PLoS Biology*, v. 18, n. 6, e3000715, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3000715>.

SPIEGEL, S.; MILSTIEN, S. **Sphingosine 1 phosphate: a key cell signaling molecule.** *Journal of Biological Chemistry*, v. 277, p. 25851–25854, 2002.

STONOGA, E.T.S. et al. **Intrauterine Transmission of SARS-CoV-2.** *Emerg Infect Dis*, v. 27, n. 2, p. 638-641, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3201/eid2702.203824>. Acesso em: 18 out. 2023.

STREMMEL, C. et al. **Yolk sac macrophage progenitors traffic to the embryo during defined stages of development.** *Nature Communications*, v. 9, n. 1, 8 jan. 2018.

SU, S. et al. **Epidemiology, Genetic Recombination, and Pathogenesis of Coronaviruses.** *Trends in Microbiology*, v. 24, n. 6, p. 490–502, 2016. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27012512/>. Acesso em: 18 out. 2023.

SWIEBODA, D. et al. **Macrophage-derived Hofbauer cells and the maintenance of fetal tolerance: Insights into their immunoregulatory function.** *Frontiers in Immunology*, v. 11, p. 581–590, 2020.

TAUBER, M. et al. **Diabetes mellitus alters macrophage polarization in the placenta: Implications for fetal development.** *Diabetologia*, v. 67, p. 243–256, 2024.

TERMANSEN, M.B.; FRISCHE, S. **Fecal-oral transmission of SARS-CoV-2: A systematic review of evidence from epidemiological and experimental studies.** *American Journal of Infection Control*, v. 15, n. 12, p. 1430–1437, 2023. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37121473/#:~:text=No%20strong%20epidemiologic%20evidence%20was,of%20transmission%20in%20human%20populations>. Acesso em: 15 ago. 2024.

THOMAS, J.R. et al. **Phenotypic and functional characterization of first-trimester human placental macrophages, Hofbauer cells.** *Journal of Experimental Medicine*, v. 218, n. 1, p. e20200891, 2020. Disponível em: <https://rupress.org/jem/article/218/1/e20200891/211477/Phenotypic-and-functional-characterization-of>. Acesso em: 10 out. 2024.

TIMI, P. et al. **Placental Injury and Antibody Transfer after Coronavirus Disease 2019 In Pregnancy** *Infect Dis*, v. 227, n. 7, p. 850–854, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/infdis/jiac270>. Acesso em: 18 out. 2023.

TOLU, L.B.; EZEH, A.; FEYISSA, G.T. **Vertical transmission of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2: A scoping review.** *PloS One*, v. 16, n. 4, p. e0250196, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41467-020-18933-4>. Acesso em: 18 out. 2023.

VIVANTI, A.J. et al. **Transplacental transmission of SARS-CoV-2 infection.** *Nature Communications*, v. 11, p. 3572, 2020.

V'KOVSKI, P. et al. **Coronavirus biology and replication: implications for SARS-CoV-2.** *Nature Reviews Microbiology*, v. 19, p. 155–170, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41579-020-00468-6>.

WAN, Y. et al. **Receptor recognition by novel coronavirus from Wuhan: An analysis based on decade-long structural studies of SARS.** *Journal of Virology*, v. 94, n. 7, 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31996437/>. Acesso em: 15 ago. 2024.

WANG, M.Y. et al. **SARS-CoV-2: Structure, Biology, and Structure-Based Therapeutics Development.** *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, v. 10, n. 587269, 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33324574/>. Acesso em: 18 out. 2023.

WARDHANA, A. et al. **Placental macrophage responses in pregnancies affected by SARS-CoV-2 infection: Morphometric and molecular analyses.** *Histopathology*, v. 84, p. 665–678, 2024.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard.** 2025. Disponível em: <https://data.who.int/dashboards/covid19>. Acesso em: 17 nov. 2025.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Definition and categorization of the timing of mother- to-child transmission of SARS-CoV-2.** 2021. WHO: WHO/2019-nCoV/mother-to-child_transmission/2021.1. Acesso em: 18 out. 2023.

WRAPP, D. et al. **Cryo-EM structure of the 2019-nCoV spike in the prefusion conformation.** *Science*, v. 367, n. 6483, p. 1260–1263, 2020.

YANG, Z.; WANG, M.; ZHU, Z.; LIU, Y. **Coronavirus disease 2019 (COVID-19) and pregnancy: a systematic review.** *J Matern Fetal Neonatal Med*, v. 35, n. 8, p. 1619–1622, 2022. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32354293/>. Acesso em: 18 out. 2023.

YAO, Y.; XU, X.H.; JIN, L. **Macrophage polarization in physiological and pathological pregnancy.** *Frontiers in Immunology*, v. 10, p. 792, 2019. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/immunology/articles/10.3389/fimmu.2019.00792/full>. Acesso em: 20 nov. 2024.

YOUNG, O.M. et al. **Toll-like Receptor-Mediated Responses by Placental Hofbauer Cells (HBCs): A Potential Pro-Inflammatory Role for Fetal M2 Macrophages.** *American Journal of Reproductive Immunology*, v. 73, n. 1, p. 22–35, 2014.

ZAIGHAM, M.; ANDERSSON, O. Maternal and perinatal outcomes with COVID-19: a systematic review of 108 pregnancies. **Acta Obstetricia et Gynecologica Scandinavica**, Estocolmo, v. 99, n. 7, p. 823–829, 2020. DOI: 10.1111/aogs.13867.

ZHANG, L.; CUI, Y.; YANG, Y. **Altered macrophage polarization and placental dysfunction in gestational diabetes mellitus.** *Frontiers in Endocrinology*, v. 13, p. 102412, 2022.

ZULU, M.Z. et al. **Characterization of Hofbauer cells in the human placenta during normal and preterm labor.** *Placenta*, v. 85, p. 39–47, 2019.

ANEXO I - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE) PARA PARTICIPAÇÃO EM PESQUISA

Título do Projeto de Pesquisa: Avaliação anatomopatológica de placentas de gestante com COVID 19

INVESTIGADORES DO ESTUDO

Patricia Zadorosnei Rebutini 1 , Aline Cristina Zanchettin 2 , Emanuele Therezinha Schueda Stonoga 3 , Daniele Margarita Marani Pra´ 1, Andre´ Luiz Parmegiani de Oliveira1 , Felipe da Silva Deziderio 1

, Aline Simoneti Fonseca 2 , Julio Cesar Honorio Dagostini 3 , Elisa Carolina Hlatchuk 3, Isabella Naomi Furuie 4 , Jessica da Silva Longo4 , Bárbara Maria Cavalli 5 , Carolina Lumi Tanaka Dino 5 , Viviane Maria de Carvalho Hessel Dias 1 , Ana Paula Percicote 3 , Meri Bordignon Nogueira 5 , Sonia Mara Rabon i6 , Newton Sergio de Carvalho 5 , Cleber Machado-Souza 2* and Lucia de Noronha 1 Postgraduate Program of Health Sciences, School of Medicine, Pontif´icia Universidade Católica do Paraná -PUCPR, Curitiba, Brazil, Postgraduate Program in Biotechnology Applied in Health of Children and Adolescent, Pele´ Pequeno Príncipe, Research Institute, Faculdades Pequeno Príncipe, Curitiba, Brazil, Department of Medical Pathology, Clinical Hospital, Universidade Federal do Paraná -UFPR, Curitiba, Brazil, Department of Tocogynecology, Clinical Hospital, Universidade Federal do Paraná, UFPR, Curitiba, PR, Brazil, Postgraduate Program of Tocogynecology and Women’s Health, Clinical Hospital, Universidade Federal do Parana´ - UFPR, Curitiba, Brazil, Department of Infectious Disease, Clinical Hospital, Universidade Federal do Parana´-UFPR, Curitiba, Brazil

Você está sendo convidado(a) a participar do estudo “**Avaliação Anatomopatológica de Placentas de Gestante com COVID 19**”. Este estudo está sendo realizado em parceria das seguintes instituições: Pontifca Universidade Católica, Hopital de Clinicas da UFPR e Hospital Nossa Senhora das Graças. Este Termo de Consentimento explica porque este estudo está sendo realizado e qual será a sua participação (ou do seu familiar) , caso você aceite o convite. Este documento também descreve os possíveis riscos e benefícios se você quiser participar. Após analisar as informações com a pessoa que explica este Termo de Consentimento, e esclarecer suas dúvidas, você deverá ter o conhecimento necessário para tomar uma decisão esclarecida sobre sua participação ou não neste estudo.

JUSTIFICATIVA PARA O ESTUDO

Uma nova cepa do coronavírus respiratório (SARS-CoV-2) emergiu na China no final de 2019, espalhou-se pelo planeta, infectando milhões de pessoas e causando milhares de mortes em todo mundo. Até 29 de junho de 2020 o vírus já infectou mais de 10 milhões de pessoas, causando em torno de 500 mil mortes (WHO-2020). Especialmente neste momento da pandemia do coronavírus, para melhor conhecer seus efeitos nos organismos das gestantes, dos fetos e dos recém-nascidos, se faz necessária e oportuna esta pesquisa.

OBJETIVO DO ESTUDO

Avaliação anatomopatológica de placentas de gestantes com COVID 19

PROCEDIMENTOS

Para execução deste estudo solicitamos que o senhor (a) autorize utilização de material biológico – PLACENTA - a qual será submetida ao exame anatomopatológico. Também solicitamos autorização para revisão do seu prontuário médico (ou da sua familiar gestante). Todos estes dados serão utilizados de forma sigilosa

RISCOS E DESCONFORTOS PARA OS PARTICIPANTES

Não haverá riscos ou desconforto ao paciente uma vez que a retirada da placenta faz parte do procedimento obstétrico da cesárea ou parto vaginal.

BENEFÍCIOS ESPERADOS

Neste momento o mundo concentra esforços para o entendimento da fisiopatologia da infecção causada pelo SARS-CoV-2 para que possamos encontrar tratamento adequado o mais rápido possível.

LIBERDADE DE RECUSA

A sua participação (ou do seu familiar) neste estudo é voluntária e não é obrigatória. Você pode aceitar participar do estudo e depois desistir a qualquer momento. Você também poderá pedir a qualquer momento que as suas

informações (ou as informações do seu familiar) sejam excluídas completamente deste estudo e que elas não sejam usadas para outros fins.

Se você tiver dúvidas sobre seus direitos como participante de pesquisa, você pode contatar também o Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos (CEP/SD) do Setor de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Paraná, pelo telefone 3360- 7259. O Comitê de Ética em Pesquisa é um órgão colegiado multi e transdisciplinar, independente, que existe nas instituições que realizam pesquisa envolvendo seres humanos no Brasil e foi criado com o objetivo de proteger os participantes de pesquisa, em sua integridade e dignidade, e assegurar que as pesquisas sejam desenvolvidas dentro de padrões éticos (Resolução nº 466/12 Conselho Nacional de Saúde).

Eu,___li esse Termo de Consentimento e compreendi a natureza e objetivo do estudo do qual concordei em participar. A explicação que recebi menciona os riscos e benefícios. Eu entendi que sou livre para interromper minha participação a qualquer momento sem justificar minha decisão e sem qualquer prejuízo para mim, e sem que esta decisão afete meu tratamento ou atendimento.

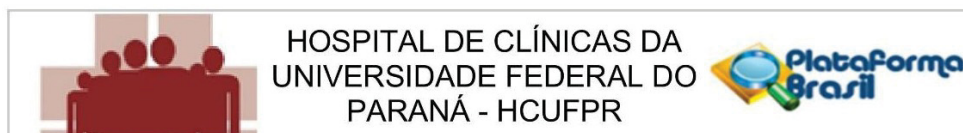
Eu concordo voluntariamente em participar deste estudo. Curitiba, _de _de

[Assinatura do Participante de Pesquisa ou Responsável Legal]

[Assinatura do Pesquisador Responsável ou quem aplicou o TCLE]

Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos do Setor de Ciências da Saúde da UFPR
| CEP/SD Rua Padre Camargo, 285 | 1º andar | Alto da Glória | Curitiba/PR | CEP 80060-240
| cometica.saude@ufpr.br – telefone (041) 3360-725

ANEXO 2 - PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: Avaliação de Resultados Maternos e Perinatais em Gestantes com COVID-19 em Hospitais Terciários de Curitiba - Paraná

Pesquisador: NARCIZO LEOPOLDO EDUARDO DA CUNHA SOBIERAY

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 35129820.6.0000.0096

Instituição Proponente: Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 6.845.872

Apresentação do Projeto:

O estudo será prospectivo, observacional, com delineamento tipo caso-controle

Objetivo da Pesquisa:

Avaliar as características da doença na gestação e as implicações nos resultados maternos e perinatais de gestantes infectadas pelo SARS-CoV-2

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

As pacientes assintomáticas avaliadas no pré-natal do Hospital de Clínicas ou no PAGO que testarem positivo para o COVID-19 serão imediatamente avisadas para que tomem medidas de isolamento social conforme determinado pelos órgãos competentes. Essas pacientes serão monitoradas remotamente e em consultas de pré-natal periódicas a fim de identificar possíveis sintomas e qualquer sinal de gravidade para que venham a comprometer a saúde materna ou fetal.

Durante o acompanhamento do atendimento, admissão hospitalar e acompanhamento do internamento e parto das gestantes positivas para o COVID-19, todos os profissionais envolvidos no atendimento, na coleta e no processamento dos materiais da pesquisa utilizarão as medidas de precaução padronizadas (EPIs) pela CCIH do Complexo Hospital de Clínicas, a fim de evitar a contaminação da equipe.

Endereço: Rua Gal. Carneiro, nº181, Anexo G, 4º andar
Bairro: Alto da Glória **CEP:** 80.060-900
UF: PR **Município:** CURITIBA
Telefone: (41)3360-1041 **Fax:** (41)3360-1041 **E-mail:** cep@hc.ufpr.br

