



**UNIVERSIDADE DO SUL DE SANTA CATARINA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**  
**LIA KARINA VOLPATO**

**CONTRIBUIÇÃO DE MEDIADORES PLASMÁTICOS E PLACENTÁRIOS,  
INFLAMATÓRIOS E PRÓ-RESOLUTIVOS PARA O TRABALHO DE PARTO  
INDUZIDO EM HUMANOS**

**LIA KARINA VOLPATO**

**CONTRIBUIÇÃO DE MEDIADORES, PLASMÁTICOS E PLACENTÁRIOS,  
INFLAMATÓRIOS E PRÓ-RESOLUTIVOS PARA O TRABALHO DE PARTO  
INDUZIDO EM HUMANOS**

**LINHA DE PESQUISA: INVESTIGAÇÃO DE AGRAVOS CRÔNICOS À SAÚDE**

Tese de Doutorado apresentada ao  
Programa de Pós-Graduação em Ciências  
da Saúde para obtenção do título de  
Doutora em Ciências da Saúde.

Orientadora: Profa. Anna Paula Piovezan, Dra.

Palhoça  
2021



## PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE - DOUTORADO

Título da Tese

Contribuição de mediadores, plasmáticos e placentários, inflamatórios e pró-resolutivos para o trabalho de parto induzido em humanos

**LIA KARINA VOLPATO**

AUTOR

Aprovado pela Banca Avaliadora de Defesa da Tese em 06 de dezembro de 2021.

Doutora Anna Paula Piovezan (Orientador)

Doutor Alberto Trapani Júnior (Avaliador externo - UFSC) – *presente por videoconferência*

Doutora Regina de Sordi (Avaliador externo - UFSC) – *presente por videoconferência*

Doutora Fabricia Cardoso Petronilho (Avaliador interno - PPGCS) – *presente por videoconferência*

Doutora Franciane Bobinski (Avaliador interno - PPGCS) – *presente por videoconferência*

*Professor Doutor Jefferson Luiz Traebert*

COORDENADOR DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE - UNISUL

Unisul - Universidade do Sul de Santa Catarina, Sede, Reitoria - Av. José Acácio Moreira, 787, Bairro Dehon - 88704-900, Tubarão, SC - Fone 48 3621.3000

• Unisul Região Sul

- Campus Tubarão - Avenida José Acácio Moreira, 787, Bairro Dehon, Caixa Postal 370 - 88704-900, Tubarão, SC - Fone 48 3621.3000
- Campus Araranguá - Rodovia Governador Jorge Lacerda, 3201, Bairro Urussanguinha - 88905-355, Araranguá, SC - Fone 0800 970 7000 - 48 3521-3000
- Campus Braço do Norte - Rodovia SC 370, 1023, Rio Bonito - 88750-000, Braço do Norte, SC - Fone 0800 970 7000 - 48 3621-3925
- Campus Içara - Rua Linha Três Ribeirões, Loteamento Centenário, 250, Bairro Liri - 88820-000, Içara, SC - Fone 0800 970 7000 - 48 3621-3460

• Unisul Região Grande Florianópolis

- Campus Pedra Branca - Avenida Pedra Branca, 25, Cidade Universitária Pedra Branca, 88137-270, Palhoça, SC - Fone 48 3279.1000
- Campus Florianópolis - Rua DIB Mussi, 366, Centro - 88015-110, Florianópolis, SC - Fone 48 3279.1000
- Rua Trajano, 219, Centro - 88010-010, Florianópolis, SC - Fone 48 3279.1000

- Campus Unisul Digital - Av. Pedra Branca, 25 - Cidade Universitária Pedra Branca - 88137-900, Palhoça, SC - Fone 48 3279.1200

V89      Volpato, Lia Karina, 1976 -  
            Contribuição de mediadores, plasmáticos e placentários,  
            inflamatórios e pró-resolutivos para o trabalho de parto induzido em  
            humanos / Lia Karina Volpato. – 2021.

96 f. : il. ; 30 cm

Tese (Doutorado) – Universidade do Sul de Santa Catarina, Pós-  
graduação em Ciências da Saúde.

Orientação: Profa. Dra. Anna Paula Piovezan

1. Parto (Obstetrícia). 2. Gravidez. 3. Inflamação – Tratamento. I.  
Piovezan, Anna Paula. II. Universidade do Sul de Santa Catarina. IV.  
Título.

CDD (21. ed.) 618.4

#### Dedicatória

Aos meus pais, Zilio (in memoriam) e Ana Zaira, por me darem asas para voar e raízes para voltar, sempre servindo como exemplo de perseverança.

## **AGRADECIMENTOS**

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior-Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

Agradeço especialmente...

... à Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Anna Paula Piovezan pela atenção, paciência, confiança, incentivo e orientação.

... à Dr.<sup>a</sup> Verônica Vargas Horewicz, cuja participação e conhecimento foi fundamental para a conclusão deste trabalho.

... à Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Suchita Nadkarni, pelo acolhimento e ensinamentos durante o período sanduiche realizado no Williams Harvey Research Institute em Londres.

... aos colegas obstetras, residentes de ginecologia e obstetrícia e técnicos de enfermagem da maternidade do Hospital Regional de São José, pelo auxílio no recrutamento das pacientes e coleta das amostras.

... aos bioquímicos e técnicos do Laboratório Bioclínico de São José pelo processamento das amostras de sangue.

... às Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Franciane Bobinski e Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Fabrícia Petronilho, pela contribuição preciosa na banca de qualificação, e disponibilidade para a banca de defesa da tese.

... ao Prof. Dr. Alberto Trapani Junior e à Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Regina de Sordi e pela disponibilidade em participar da banca de defesa desta dissertação.

... àqueles que, direta ou indiretamente, colaboram com esta pesquisa.

E, por fim, agradeço às mulheres, pacientes ou não, pois sem elas este estudo não teria sentido.

*“O homem só é eterno quando sua obra permanece”.*  
*(Sergio Viegas)*

## RESUMO

**Introdução:** O início do trabalho de parto (TP) envolve vários eventos fisiológicos, porém, os mecanismos que o desencadeiam não são totalmente compreendidos, apesar do conhecimento de que são regulados por fatores endócrino, nervoso e imunológico.

**Objetivo:** Comparar os níveis de citocinas inflamatórias no plasma e placenta, o imunocnteúdo da Anexina A1 (ANXA1) e do FPR2/ALX e o número de neutrófilos na placenta de gestantes com TP espontâneo àquelas submetidas a indução de parto por gestação a termo tardio.

**Método:** O estudo incluiu gestantes saudáveis admitidas para parto (16 pacientes) ou indução de parto (24 gestantes, com falha na indução em 4 delas). As amostras foram avaliadas por ELISA, no plasma e na placenta, para TNF, IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8 e IL-10, por Western Blotting para ANXA1 e FPR2/ALX e imunofluorescência para o anticorpo CD15+ (neutrófilo) na placenta. Os dados foram analisados pelo teste de Kruskal-Wallis seguido do método de Dunn e correlação de Spearman. O valor de p foi considerado significativo quando  $\leq 0,05$ .

**Resultados:** Observou-se redução dos níveis de TNF plasmático pós indução no grupo em que houve falha de indução ( $p = 0,023$ ). Encontrou-se maior concentração de IL-8 na placa amniótica ( $p = 0,049$ ) e de TNF ( $p < 0,001$ ) e IL-10 ( $p < 0,001$ ) no trofoblasto das pacientes com TP espontâneo. Também, foi observada maior densidade de ANXA1 no trofoblasto daquelas com falha de indução ( $p = 0,041$ ). Identificou-se correlação positiva moderada do tempo de indução com a densidade de ANXA1 no trofoblasto ( $r=0,580$ ) e com o nível de IL-6 na placa amniótica ( $r=0,517$ ) e correlação positiva fraca entre o tempo de TP e a densidade de ANXA1 no trofoblasto ( $r= 0,419$ ). Além disso, foi identificado aumento significativo na imunomarcacão de células CD15+ entre os grupos com TP espontâneo comparadas com o grupo em que houve falha de indução ( $p < 0,001$ ).

**Conclusão:** Pode-se concluir que o processo inflamatório no TP envolve a participação tanto materna quanto fetal. Os resultados encontrados solidificam os achados de estudos anteriores, contudo outros ensaios são necessários para determinar os gatilhos ao desencadeamento do TP.

**Descritores:** Gestação. Trabalho de parto. Inflamação. Resolução da inflamação.

## ABSTRACT

**Introduction:** The onset of labor involves several physiological events. However, the mechanisms that trigger it are not fully understood, despite knowing that endocrine, nervous and immunological factors regulate them.

**Objective:** To compare the levels of inflammatory cytokines in plasma and placenta and the density of Annexin A1 (ANXA1) and FPR2/ALX, and the number of neutrophils in the placenta of pregnant women with spontaneous PT with those undergoing labor induction by late-term pregnancy.

**Method:** The study included healthy pregnant women admitted for delivery (16 patients) or induction of labor (24 pregnant women, with induction failure in 4 of them). Samples were collected from plasma and placenta and evaluated by ELISA for TNF, IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, and IL-10 and Western Blotting for ANXA1 and FPR2/ALX in the placenta and immunofluorescence to CD15+ antibody. The data were analyzed using the Kruskal-Wallis's test followed by Dunn method and Spearman correlation. The p-value was considered significant when  $\leq 0.05$ .

**Results:** There was a reduction in plasma TNF levels after induction in the group with induction failure ( $p = 0.023$ ). A higher concentration of IL-8 was found in the amniotic plaque ( $p = 0.049$ ) and of TNF ( $p < 0.001$ ) and IL-10 ( $p < 0.001$ ) in the trophoblast of patients with spontaneous labor. Also, higher ANXA1 density in the trophoblast was observed in those with induction failure ( $p = 0.041$ ). A moderate positive correlation of induction time with ANXA1 density in the trophoblast ( $r=0.580$ ) and with the IL-6 level in the amniotic plaque ( $r=0.517$ ) and a weak positive correlation between labor time and ANXA1 density was identified in the trophoblast ( $r= 0.419$ ). In addition, a significant increase was identified in CD15+ cell immunocapturing among the groups with spontaneous labor compared to the group with induction failure ( $p < 0.001$ ).

**Conclusion:** We conclude that the inflammatory process in labor involves both maternal and fetal participation. Our results solidify the findings of previous studies, although other tests are needed to determine the triggers for labor development.

**Keywords:** Pregnancy. Labor. Inflammation. Resolution of inflammation.

## LISTAS

### Lista de abreviaturas e siglas

AMPC – Monofosfato de adenosina cíclico (do inglês, *Adenosine Monophosphate Cyclic*)

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

ANX – Anexinas

ANXA1 – Anexina A1

CEP – Comitê de Ética em Pesquisa

CIUR – Crescimento Fetal Intrauterino Restrito

COX – Ciclooxygenase

cPLA2 – Enzima Fosfolipase Citosólica A2 (do inglês, *Cytosolic Phospholipase A2*)

CRH – Corticotrofina (do inglês, *Corticotropin-releasing Hormone*)

EDTA – Ácido etileno diaminotetracético (do inglês, *Ethylenediaminetetraacetic Acid*)

ELISA - Ensaio de Imunoabsorção Enzimática (do inglês, *Enzyme-linked Immunosorbent Assay*)

FPR2/ALX – Receptor para peptídeos formilados 2 (do inglês, *Formyl Peptide Receptor2/Aspirin-triggered Lipoxin*)

GMPc – Monofosfato de Guanosina Cíclico (do inglês, *Cyclic Guanosine Monophosphate*)

IL – Interleucina

LANEX – Laboratório de Neurociências Experimental

LPS – Lipopolissacarídeo

MMP – Metaloproteinases de Matriz (do inglês, *Matrix Metalloproteinase*)

MPR – Mediadores Pró-resolutivos

NO – Óxido nítrico

OXTRs – Receptores de ocitocina (do inglês, *Oxytocin receptor*)

PGE<sub>2</sub> – Prostaglandina E<sub>2</sub>

PGH<sub>2</sub> – Prostaglandina H<sub>2</sub>

PGI<sub>2</sub> – Prostaciclina (do inglês, *Prostacyclin*)

PTGS2 – Prostaglandina Sintase 2 (do inglês, *Prostaglandin-endoperoxide Synthase 2*)

PTHrP – Peptídeo relacionado ao Hormônio Paratireoide (do inglês, *Parathyroid Hormone-related Peptide*)

RUPREMA – Ruptura Prematura das Membranas

SNC – Sistema Nervoso Central

TCLE – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TNF – Fator de Necrose Tumoral (do inglês, *Tumor Necrosis Fator*)

TP – Trabalho de parto

WB – Do inglês, *Western Blotting*

#### Lista de quadros

|                                                                                          |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Quadro 1 – Classificação recomendada para partos a partir de 37 semanas de gestação..... | 18 |
| Quadro 2 – Índice de Bishop.....                                                         | 20 |
| Quadro 3 – Variáveis de estudo.....                                                      | 38 |

#### Lista de figuras

|                                                                          |    |
|--------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 1 – Fases da parturição humana.....                               | 23 |
| Figura 2 – Representação esquemática da estrutura primária da ANXA1..... | 27 |
| Figura 3 – Representação esquemática do delineamento do estudo.....      | 32 |

## SUMARIO

|                                                                               |    |
|-------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>1 INTRODUÇÃO</b>                                                           | 14 |
| 1.1 REFERENCIAL TEÓRICO                                                       | 17 |
| <b>1.1.1 Gestação a termo</b>                                                 | 18 |
| 1.1.1.1 Indução do trabalho de parto                                          | 18 |
| 1.1.1.2 O trabalho de parto                                                   | 22 |
| <b>1.1.2 A resposta inflamatória e o desencadeamento do trabalho de parto</b> | 23 |
| 1.1.2.1 Anexina A1 e a Gravidez                                               | 26 |
| <b>2 OBJETIVOS</b>                                                            | 30 |
| 2.1 OBJETIVO GERAL                                                            | 30 |
| 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS                                                     | 30 |
| <b>3 MÉTODOS</b>                                                              | 31 |
| 3.1 TIPO DE ESTUDO                                                            | 31 |
| 3.2 POPULAÇÃO, LOCAL E AMOSTRA                                                | 31 |
| 3.3 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO                                                     | 32 |
| 3.4 CRITÉRIO DE EXCLUSÃO                                                      | 33 |
| 3.5 COLETA DE DADOS                                                           | 33 |
| <b>3.5.1 Materiais e equipamentos</b>                                         | 34 |
| <b>3.5.2 Análise das amostras</b>                                             | 35 |
| 3.5.2.1 Ensaio de Imunoabsorção Enzimática                                    | 35 |
| 3.5.2.2 Western blotting                                                      | 36 |
| 3.5.2.3 Imunofluorescência                                                    | 37 |
| 3.6 VARIÁVEIS DE ESTUDO                                                       | 38 |
| 3.7 PROCESSAMENTO E ANÁLISE DOS DADOS                                         | 38 |
| 3.8 ASPECTOS ÉTICOS DA PESQUISA                                               | 39 |
| 4. Manuscrito                                                                 | 40 |
| 5. CONSIDERAÇÕES FINAIS                                                       | 43 |
| <b>REFERÊNCIAS</b>                                                            | 44 |
| <b>APÊNDICE</b>                                                               | 52 |
| <b>APÊNDICE A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido</b>                | 53 |
| <b>APÊNDICE B – Instrumento de coleta de dados</b>                            | 55 |

|                                                                     |           |
|---------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>ANEXOS .....</b>                                                 | <b>56</b> |
| <b>ANEXO A – Parecer Aprovação do Comitê de Ética .....</b>         | <b>57</b> |
| <b>ANEXO B – Produção científica publicada durante o período do</b> |           |
| <b>Doutorado .....</b>                                              | <b>60</b> |

## 1 INTRODUÇÃO

Na gestação normal, o sistema imune materno entra em contato com antígenos fetais e desencadeia a tolerância imunológica na interface materno-fetal. A tolerância imunológica ao semienxerto fetal é um mecanismo ativo, no qual os tecidos fetais não são reconhecidos como estranhos e/ou não são rejeitados pelas células do sistema imune materno<sup>1</sup>. O modelo de tolerância imunológica durante a gravidez tem por base a mudança da resposta imune materna para um estado pró-inflamatório modulado<sup>2</sup>. Assim, componentes das respostas imunes, inata e adaptativa, têm papel importante na adaptação imune materna à gestação<sup>1</sup>.

Estatisticamente, 10% das gestações duram mais de 41 semanas e 6 dias e, quando isso ocorre, são consideradas e estão associadas ao aumento no risco de resultados gestacionais adversos pela deterioração progressiva da função placentária, determinando prejuízos na função respiratória do conceito, tendência à hipoxemia fetal e subsequente incremento nas taxas de morbidade e mortalidade perinatais. Embora algumas condições sejam associadas à gestação prolongada, como idade materna avançada e a paridade, a sua etiologia é desconhecida<sup>3</sup>. Ainda, apesar da indução do parto constituir a principal estratégia empregada para a finalização da gestação, em torno de 15% das pacientes não respondem à indução (seja com prostaglandinas ou ocitocina) e as causas dessa má resposta ainda são desconhecidas<sup>4</sup>.

O desencadeamento do trabalho de parto (TP) envolve uma coordenação complexa e oportuna de processos fisiológicos, tais como: contrações uterinas, apagamento e dilatação cervical e ruptura das membranas amnióticas. Contudo, os mecanismos que dão início a este processo não são completamente compreendidos<sup>5</sup>. Sabe-se que são regulados por uma variedade de mecanismos e mediadores dos sistemas endócrino, nervoso e imunológico e que teorias atuais sugerem que mudanças nos níveis de estrogênio e progesterona, aumento dos níveis de ocitocina, prostaglandinas, cortisol e liberação de citocinas inflamatórias estariam associadas ao início do TP espontâneo<sup>6</sup>.

Nesse contexto, as citocinas mais envolvidas na evolução do TP são fator de necrose tumoral (TNF), Interleucinas (IL) -1 $\beta$ , IL-6 e IL-8, que contribuem para o recrutamento e ativação de leucócitos adicionais, aumento da produção de

prostaglandina, amadurecimento e dilatação cervical, ruptura de membrana e contrações uterinas<sup>7,8</sup>.

Estudos demonstraram que o TNF, a IL-1 $\beta$  e a IL-6 são encontrados em altas concentrações na placenta e membranas amnióticas e atuam na biossíntese dos prostanoídes, aumentando a produção de ciclooxygenase-2 (COX-2) e prostaglandina E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>), mediador químico mais eficaz para contratilidade miométrial e dilatação cervical em vários tecidos durante a gravidez<sup>9,10</sup>. A IL-1 $\beta$  também parece inibir a ação da progesterona no amadurecimento cervical<sup>11</sup>. As concentrações de IL-6 durante o TP latente são significativamente menores do que as concentrações associadas ao TP estabelecido<sup>12</sup>. Além disso, os níveis séricos de IL-6 e IL-8 foram positivamente relacionados à dilatação cervical<sup>13</sup> e a IL-6 foi significativamente maior com contrações mais fortes e mais frequentes, com maior probabilidade de ocorrer durante o TP ativo<sup>12</sup>. A IL-8, uma quimiocina com papel crítico do remodelamento cervical, é produzida por diversos tipos de células cervicais, incluindo células epiteliais e fibroblastos estromais cervicais, leucócitos e macrófagos<sup>14</sup>. As concentrações de IL-8 também aumentam à medida que o TP progride<sup>15</sup>, sendo sua expressão induzida por TNF, IL-1  $\beta$ , lipopolissacarídeos (LPS) e ésteres de folato<sup>14</sup>. Por outro lado, a concentração da IL-10, citocina chave no início da gestação por inibir a secreção de citocinas inflamatórias, tais como TNF e IL-6, diminui progressivamente no final da gestação, favorecendo o predomínio das citocinas inflamatórias<sup>16,17</sup>.

As prostaglandinas também estão diretamente relacionadas ao desencadeamento do TP. São eicosanóides formados a partir do ácido araquidônico, que é liberado de fosfolipídios de membrana via fosfolipase A2. O ácido araquidônico é inicialmente convertido em prostaglandina H<sub>2</sub> (PGH<sub>2</sub>) através das reações sequenciais da COX-1 e COX-2<sup>18</sup>. As prostaglandinas agem sobre o miométrio para aumentar sua contratilidade, promovendo o início e a progressão de TP<sup>19</sup>. Especificamente, os níveis de PGE<sub>2</sub> estão acentuadamente aumentados no líquido amniótico e nas membranas fetais durante o TP e em gestações a termo, e são significativamente mais altos durante os nascimentos a termo que em nascimentos prematuros<sup>4,15</sup>. A PGE<sub>2</sub> desempenha papel fundamental nos processos inflamatórios que desencadeiam o amadurecimento cervical e o início do TP. Esta resposta inflamatória é caracterizada pela diferenciação de fibroblastos em miofibroblastos ativados e por regular a síntese de glicosaminoglicanos hidrofílicos e

aumentar a atividade da elastina, separando e dispersando feixes de colágeno<sup>20</sup>. A atividade da fosfolipase, medida em homogenatos de membranas fetais utilizando substratos sintéticos *in vitro*, parece estar elevada durante o terceiro trimestre da gravidez, embora a liberação do ácido araquidônico e produção das prostaglandinas *in vivo* só sejam ativados no parto, sugerindo que um mecanismo inibidor regula a liberação *in vivo*<sup>21</sup>.

Além dos eventos que favorecem a manutenção e/ou ampliação da inflamação, atualmente, tem-se empregado atenção especial aos eventos de controle da inflamação por mecanismos anti-inflamatórios ou pró-resolutivos, com grande interesse nos mediadores pró-resolutivos (MPR), uma vez que a resolução da inflamação protege o hospedeiro de uma resposta inflamatória exacerbada<sup>22</sup> e é necessária para reestabelecer a homeostasia, limitando o dano tecidual excessivo e reduzindo o desenvolvimento da inflamação crônica<sup>23</sup>. Diferentemente do processo anti-inflamatório, além de reduzir a infiltração de neutrófilos para os tecidos inflamados, as moléculas pró-resolutivas estimulam os macrófagos a realizarem a retirada e o *clearance* de células apoptóticas, desempenhando papel ativo e não apenas regulador<sup>24</sup>. A relação intrincada entre os fenômenos pró-inflamatórios e pró-resolutivos deve ser ressaltada, uma vez que as mesmas enzimas envolvidas na síntese dos mediadores pró-inflamatórios, como as COX e a LOX, também estão envolvidas na síntese de grande parte dos MPR<sup>25</sup>.

Dentre os MPR, as anexinas (ANX) atuam na resolução da inflamação por ativarem mecanismos específicos que promovem o retorno da homeostasia<sup>25,26</sup>. Além disso, pelo menos seis membros da família das ANX foram identificados na placenta e nas membranas amnióticas, incluindo Anexina A1 (ANXA1)<sup>27</sup>. A ANXA1 tem participação ativa em diferentes fenômenos fisiológicos. Alguns estudos têm definido as propriedades reguladoras da ANXA1 endógena em vários aspectos da resposta inflamatória, auxiliando a resolução fisiológica do processo imune inato<sup>23,28</sup>, sendo que a maioria de seus efeitos ocorrem da interação com um receptor acoplado à proteína G transmembrana chamado receptor para peptídeos formilados 2 (FPR2/ALX)<sup>29</sup>.

O papel funcional da ANXA1 em processos fisiopatológicos do aparelho reprodutor feminino vem sendo investigado, tendo-se evidenciado sua participação na modulação preparatória para a gestação do endométrio secretor<sup>30</sup>. Quanto ao papel da ANXA1 e seu receptor FPR2/ALX na gravidez em humanos, este ainda

precisa ser melhor elucidado. Níveis elevados de ANXA1 foram identificados durante a gravidez<sup>31</sup> com concentrações reduzidas no âmnio e na placenta no TP quando comparado com cesarianas eletivas<sup>32-34</sup>. Por outro lado, autoanticorpos contra ANXA1 foram detectados no plasma de mulheres com pré-eclâmpsia, mas sua relevância na gênese da doença não é totalmente compreendida<sup>31,35,36</sup>.

Diante destes achados, é possível especular que o aumento da ANXA1 nos estágios finais da gestação poderia estar implicado com a falha nos processos de desencadeamento e evolução do TP, sugerindo que este aspecto deva ser investigado como um potencial alvo terapêutico em mulheres em condições de gravidez prolongada ou cuja indução do parto não responda aos tratamentos padrão atuais.

Neste contexto, justifica-se a realização deste estudo ao considerar-se que uma melhor compreensão da fisiologia do TP possa auxiliar na identificação das causas da “não resolução” da gestação em algumas mulheres, assim como da má resposta aos métodos de indução do parto. Desta forma, avaliando-se mulheres com gravidez a termo e termo tardio, comparando-se aquelas com desencadeamento espontâneo do TP com aquelas que necessitam de indução do TP e, posteriormente entre as diferentes respostas à indução do TP, questiona-se sobre possíveis diferenças entre os grupos quanto à concentração plasmática de citocinas inflamatórias e da ANXA1, além da concentração de citocinas inflamatórias, da expressão da ANXA1 e do receptor FPR2/ALX na placenta e nas placas amnióticas das pacientes.

## 1.1 REFERENCIAL TEÓRICO

A gravidez bem-sucedida é resultado de múltiplas estratégias imunoendócrinas que permitem que a mãe e o feto coexistam no final da gestação. O início e a progressão do TP constituem um evento reprodutivo complexo e, apesar de evidências experimentais, clínicas e epidemiológicas, este processo permanece relativamente mal compreendido<sup>1</sup>.

### 1.1.1.1 Gestação a termo

A gestação normal dura, em média, 40 semanas (280 dias), desde o início da última menstruação até a data provável do parto. Com o intuito de uniformizar as publicações e reduzir as complicações neonatais iatrogênicas por interrupções precoces da gestação por comodidade, recomenda-se que o período considerado como gestação a termo (acima de 37 semanas de gestação) seja subdividido em termo inicial, termo completo, termo tardio e pós-termo, conforme o Quadro 1<sup>37</sup>.

Quadro 1 – Classificação recomendada para partos a partir de 37 semanas de gestação.

- Termo inicial: entre 37<sup>0/7</sup> semanas e 38<sup>6/7</sup> semanas;
- Termo completo: entre 39<sup>0/7</sup> semanas e 40<sup>6/7</sup> semanas;
- Termo tardio: entre 41<sup>0/7</sup> semanas e 41<sup>6/7</sup> semanas;
- Pós-termo: além de 42<sup>0/7</sup> semanas.

Fonte: adaptado de ACOG<sup>37</sup>.

Estima-se que 10% das gestações durem mais de 41 semanas e 6 dias e são consideradas gestações prolongadas ou pós-termo. Esta situação está associada ao aumento no risco de resultados gestacionais adversos pela deterioração progressiva da função placentária, determinando prejuízos na função respiratória do concepto, tendência à hipoxemia fetal e subsequente incremento nas taxas de morbidade e mortalidade perinatais<sup>38</sup>. Embora algumas condições sejam associadas ao pós-datismo, como idade materna avançada, obesidade e paridade, a sua etiologia é desconhecida<sup>3,39</sup>. Para evitar as consequências deletérias da pós-maturidade, tem-se recomendado a indução do TP por volta das 41 semanas de gestação<sup>38</sup>.

#### 1.1.1.1.1 Indução do trabalho de parto

A indução do TP consiste no desencadeamento artificial do processo de nascimento por meio de medicamentos ou manobras mecânicas, considerando não haver contraindicação ao parto vaginal<sup>3</sup>. Está indicada em várias situações obstétricas que requeiram o término da gestação, seja por condições de risco aumentado para a gestante ou para o feto, como pré-eclâmpsia, oligodramnia,

crescimento fetal intrauterino restrito (CIUR), ruptura prematura das membranas (RUPREMA) e a gestação prolongada<sup>3</sup>.

A indução do TP ocorre em até 25% de todas as estações à termo ao redor do mundo<sup>40</sup> e, apesar da indução do parto constituir a principal estratégia empregada para a finalização da gestação, em torno de 15% das pacientes não respondem à indução<sup>4</sup>.

O grau de maturação do colo uterino tem sido reconhecido como o principal fator associado ao sucesso da indução do TP. Atualmente sabe-se que o “amadurecimento” do colo uterino que antecede a parturição é um processo ativo mediado por mudanças na composição nos seus elementos constituintes: colágeno, elastina e tecido conectivo durante o transcorrer da gestação<sup>41</sup>. Tanto as fibrilas do colágeno como as dos glicosaminoglicanos são produzidas pelos fibroblastos, que constituem o principal componente celular do tecido conjuntivo cervical. Próximo ao termo da gravidez, ocorre um infiltrado inflamatório na cérvix e o estroma torna-se edemaciado e altamente vascularizado<sup>4</sup>. A collagenase, responsável pela lise do colágeno, é produzida tanto pelos fibroblastos como pelos leucócitos e o aumento da sua atividade é influenciada pelos hormônios esteroides e pelas prostaglandinas. A collagenólise fragmenta as fibras colágenas, que assumem nova remodelação, ocorrendo gradativa substituição por novo tipo de colágeno que é rompido com mais facilidade durante a parturição. Estas mudanças diminuem a consistência e promovem o esvaecimento ou apagamento do colo uterino<sup>41</sup>.

Para estimar o grau de maturação cervical utiliza-se o Índice de Bishop, que avalia através do exame de toque vaginal o grau de dilatação do colo uterino, o apagamento, a posição e consistência do colo uterino e o nível de descida do feto no trajeto pélvico. Assim, escores mais elevados estão correlacionados com TP mais curto e com menor taxa de falha de indução<sup>42</sup> (Quadro 2). Do ponto de vista prático, o Índice de Bishop é utilizado para determinar o protocolo de indução a ser empregado, uma vez que colos uterinos com escores iguais ou superiores a 7 são considerados favoráveis e não requerem maturação cervical prévia, podendo-se iniciar diretamente com a infusão de ocitocina endovenosa<sup>42</sup>.

A ocitocina é um neuropeptídeo com efeitos central e periférico<sup>43</sup>. Desempenha funções neuro-hormonal, como neurotransmissor e neuromodulador, é sintetizada nos núcleos supraóptico e paraventricular do hipotálamo, armazenada no nervo terminal da neuro-hipófise e liberada de forma pulsátil para o plasma após

estímulo sensitivo<sup>43</sup>. As suas principais ações periféricas compreendem a estimulação da contratilidade do miométrio durante o TP e a ejeção do leite durante a lactação. Os receptores de ocitocina no miométrio aumentam com a progressão da gestação<sup>44</sup>. A ocitocina sintética é o fármaco mais usado para a indução do TP, geralmente administrada por via endovenosa através de bomba de infusão, com infusão inicial de 2 mUI/min, com aumento progressivo até desencadeamento do TP ou dose máxima recomendada de 40 mUI/min<sup>45</sup>. Apesar de pouco comuns, os principais riscos do uso de ocitocina são: taquissístolia uterina, alterações da frequência cardíaca fetal e, muito raramente, a rotura uterina<sup>43,44</sup>.

Quadro 2 – Índice de Bishop.

| Pontuação            | 0         | 1             | 2         | 3     |
|----------------------|-----------|---------------|-----------|-------|
| Posição do colo      | Posterior | Intermediário | Anterior  | -     |
| Consistência do colo | Firme     | Médio         | Amolecido | -     |
| Apagamento (%)       | 0-30      | 31-50         | 51-70     | > 80  |
| Dilatação (cm)       | 0         | 1-2           | 3-4       | ≥ 5   |
| Plano de DeLee       | -3        | -2            | -1/0      | +1/+2 |

Fonte: adaptado de Ivars et al<sup>42</sup>.

Nos casos em que há necessidade de maturação cervical (ou seja, índice de Bishop menor ou igual a 6), utilizam-se métodos farmacológicos, como as prostaglandinas sintéticas, ou métodos mecânicos, como a inserção intrauterina da sonda de Foley e a amniotomia ou rotura artificial das membranas amnióticas<sup>3</sup>.

As prostaglandinas são sintetizadas a partir do ácido araquidônico e induzem alterações cervicais similares ao apagamento fisiológico do colo uterino<sup>4</sup>. Na atualidade, misoprostol e dinoprostone são as prostaglandinas sintéticas disponíveis para uso comercial<sup>3</sup>.

O misoprostol é um análogo da PGE<sub>1</sub> e é comercializado sob a forma de comprimidos nas doses de 25 µg, 100 µg e 200 µg, podendo ser administrado por via vaginal, retal, oral e sublingual. Para a maturação cervical, habitualmente utiliza-se a dose de 25µg por via vaginal em intervalos de 3-6 horas, idealmente a cada 4 horas<sup>4</sup>.

O dinoprostone é um análogo da PGE<sub>2</sub> e tem a vantagem de promover o amadurecimento cervical e simultaneamente induzir a contratilidade no miométrio. Pode ser administrado por via vaginal, oral, intravenosa, intracervical e extra-amniótica<sup>4</sup>. No Brasil, apenas o pessário de dinoprostone é aprovado pela Agência Nacional de Vigilância em Saúde (ANVISA) e comercialmente disponível para uso

intra-hospitalar. Este dispositivo de liberação lenta contém 10 mg de dinoprostone, liberando 0,3 mg/hora da substância ativa, devendo ser colocado no fundo do saco vaginal. No entanto, apesar da comodidade posológica, seu custo elevado e labilidade térmica restringem seu uso<sup>4</sup>.

As complicações mais frequentes às prostaglandinas usadas na indução do TP são hipertonia uterina, alterações da frequência cardíaca fetal e, muito raramente, a rotura uterina. Desta forma, como a meia vida destes fármacos é longa, a presença de cicatriz uterina prévia é contraindicação ao seu uso<sup>4</sup>.

O amadurecimento mecânico do colo do útero é uma das formas mais antigas de indução do parto. O mecanismo de maturação do colo uterino com uso de uma sonda de Foley intrauterina é duplo: pressão direta com estiramento do segmento uterino inferior e colo e liberação local de prostaglandinas<sup>6</sup>. Para inserção do cateter, realiza-se antissepsia da vagina e do colo, seguido pela inserção da sonda de Foley na endocérvice, ultrapassando o orifício cervical interno. Em seguida, o balão é insuflado com 30 a 50 ml de soro fisiológico estéril e levemente tracionado até o nível do óstio interno, onde permanece por 24 horas ou até a expulsão espontânea<sup>46</sup>. A maturação do colo uterino usando sonda Foley tem como vantagens a simplicidade, o baixo custo, a rápida reversibilidade e a ausência de efeitos colaterais graves. Contudo, sua eficácia é inferior aos métodos farmacológicos. Desta forma, seu uso fica restrito a situações em que há contraindicação ao uso ou indisponibilidade das prostaglandinas sintéticas<sup>46,47</sup>.

A ruptura artificial de membranas (amniotomia) é um procedimento usado para romper intencionalmente as membranas amnióticas com o objetivo de induzir ou intensificar as contrações no TP. Para romper as membranas, o colo uterino deve estar dilatado, normalmente com pelo menos 3 cm<sup>3</sup>. Em um estudo randomizado de mulheres nulíparas submetidas à indução do parto, mulheres randomizadas para ruptura de membranas a 4 cm tiveram tempo reduzido para o parto sem aumento de complicações infecciosas maternas ou neonatais<sup>48</sup>. Quando a amniotomia é usada para induzir o parto, a combinação de amniotomia com ocitocina intravenosa é mais eficaz do que a amniotomia isolada. Para mulheres com colo uterino favorável, essa combinação é mais bem-sucedida do que outros agentes em atingir o parto vaginal em até 24 horas, no entanto, pode haver cenários clínicos, como a indução do TP em uma múltipara com cérvix favorável, em que a amniotomia sozinha também pode ser muito eficaz<sup>49</sup>.

### 1.1.1.2 O trabalho de parto

O TP é um processo coordenado de transição do miométrio quiescente para um estado ativo contrátil, rítmico, que exige uma interação complexa entre os compartimentos placentário, fetal e materno<sup>50</sup>. Acredita-se que os mecanismos precisos associados à iniciação do TP envolvam queda fisiológica dos níveis de progesterona, aumento da biodisponibilidade de estrogênio, hormônio liberador de corticotrofina (CRH) e mediadores neuroendócrinos e, finalmente, o aumento da responsividade miometrial às prostaglandinas e à ocitocina<sup>50</sup>.

Conforme observado na Figura 1, a parturição pode ser subdividida em quatro fases: durante a primeira fase (fase 0 - quiescente), o útero é mantido em estado de repouso através da ação da progesterona e outros fatores menores, como a prostaciclina (PGI<sub>2</sub>), a relaxina, o peptídeo relacionado ao hormônio paratireoide (PTHrP), peptídeo relacionado à calcitonina, peptídeo intestinal vasoativo e o óxido nítrico (NO), todos esses agentes atuam mediando concentrações intracelulares aumentadas de monofosfato de adenosina cíclico (AMPc) ou monofosfato de guanosina cíclico (GMPc), que inibem a liberação intracelular de cálcio e a contratilidade miometrial. A segunda fase da parturição (fase 1 - ativação) está associada à ativação da função uterina, quando ocorre aumento do estrogênio e do CRH juntamente com o estiramento uterino mecânico que leva à regulação de um painel de genes necessários para o início das contrações, entre eles, as prostaglandinas e os receptores de ocitocina (OXTRs). Na terceira fase da parturição (fase 2 - estimulação), o útero pode ser estimulado por uterotônicos, incluindo as prostaglandinas, a ocitocina e o CRH e os eventos bioquímicos no útero se assemelham a uma reação inflamatória, com aumento da síntese de citocinas. Finalmente, na quarta fase da parturição, que ocorre após o nascimento, (fase 3 – involução), observa-se a involução uterina que acompanha a liberação do feto e da placenta, efeito atribuído principalmente à ação da ocitocina<sup>51</sup>.

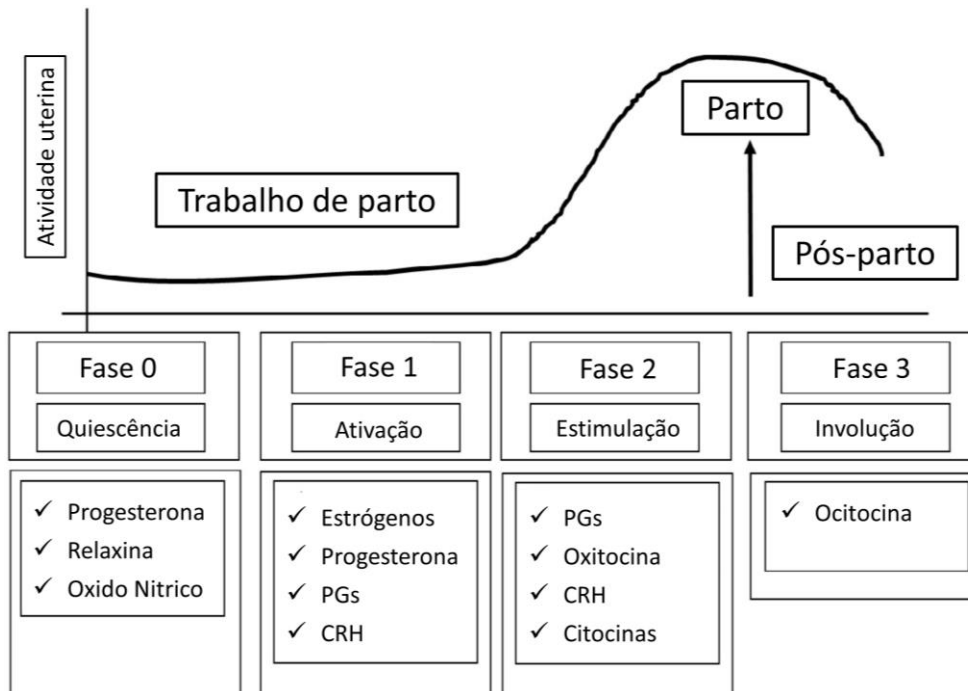


Figura 1 – Fases da parturição humana.

Legenda: PGs, prostaglandinas; CRH, hormônio de crescimento.

Fonte: adaptado de Vannuccini et al<sup>51</sup>.

### 1.1.2 A resposta inflamatória e o desencadeamento do trabalho de parto

Uma das primeiras mudanças no sangue periférico relacionadas ao termo da gestação é um aumento na contagem de leucócitos, em particular, neutrofilia<sup>52</sup>. Além disso, já foi demonstrada a presença de níveis significativamente aumentados de leucócitos circulantes e proteína C-reativa em gestantes em TP, quando comparadas às gestantes fora de TP, sem sinais clínicos de infecção<sup>16</sup>. Essas alterações no sangue periférico materno indicam que a gravidez normalmente está associada a uma resposta inflamatória sistêmica contínua, necessária tanto para o estabelecimento como para a finalização da gravidez<sup>52</sup>. O acúmulo de leucócitos promove o amadurecimento cervical (dilatação e apagamento), participa na atividade contrátil miometrial, levando à expulsão do bebê e da placenta<sup>53</sup>. Esses eventos são precedidos por aumento na concentração de citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias produzidas no útero, capazes de ativar leucócitos periféricos maternos e induzindo sua infiltração nos tecidos uterinos<sup>8</sup>.

Os peptídeos pró-inflamatórios mais implicados na progressão do TP são TNF, IL1 $\beta$ , IL-6 e IL-8, que contribuem para o recrutamento e ativação de leucócitos adicionais, induzem a secreção de fatores efetores, como as metaloproteinases de

matriz (MMP) e as prostaglandinas, que induzem profundas alterações imunológicas e estruturais nos tecidos maternos e fetais, como amadurecimento e dilatação cervical, ruptura de membrana e contrações uterinas<sup>7,8</sup>. Estudos demonstraram que o TNF, a IL-1 $\beta$  e a IL-6 são encontradas em altas concentrações na placenta, membranas amnióticas e outros tecidos durante a gravidez<sup>10</sup>. Também, observou-se que as concentrações séricas de TNF, IL-1 $\beta$ , IL-6 e IL-8 são significativamente maiores durante o TP em relação aos níveis encontrados antes do início do mesmo<sup>8,12,54</sup>. Assim, acredita-se que um *feedback* positivo da produção de citocinas por leucócitos ativados nos tecidos fetais seja essencial para o início e progressão do TP.

O TNF é uma citocina pró-inflamatória que desempenha papel central nas vias efetoras terminais no TP e parto em humanos. É a primeira citocina produzida pelas membranas fetais em resposta à estimulação coriodecidual com LPS, em estudo experimental<sup>55</sup>. É produzido principalmente pela decídua coriônica e possui a capacidade de diminuir a viabilidade miometrial e induzir apoptose<sup>56</sup>. O TNF pode amplificar ou iniciar o processo de parturição ao induzir a expressão e secreção de citocinas pró-inflamatórias, quimiocinas, aumentar a expressão da prostaglandina sintase 2 (PTGS2), aumentando a produção de COX-2 e PGE<sub>2</sub>, reguladores importantes da contratilidade miometrial<sup>7,56,57</sup>.

A IL-1 $\beta$  é uma citocina pró-inflamatória chave envolvida no TP humano, sendo liberada dos leucócitos infiltrados no útero e miométrio, onde parece facilitar o metabolismo da progesterona pelos fibroblastos induzindo amadurecimento cervical, levando à redução funcional da progesterona<sup>11</sup>. Acredita-se que a IL-1 $\beta$  também contribua para o início do TP estimulando e potenciando as contrações uterinas ao induzir a entrada de cálcio em células musculares lisas do miométrio, aumentando diretamente seu potencial contrátil<sup>56</sup>. A IL-1 $\beta$  também aumenta a produção de outras citocinas pró-inflamatórias e quimiocinas, promove a produção de prostaglandinas via PTGS2, mediadores de contrações uterinas e MMP, que ativam o amadurecimento cervical e a ruptura da membrana fetal, eventos que culminam em TP bem sucedido e nascimento<sup>7,57,58</sup>.

As concentrações de IL-6 durante o TP latente são significativamente menores do que as concentrações associadas ao TP estabelecido. Sua concentração parece estar indiretamente relacionada ao aumento da expressão dos receptores de ocitocina nas células miometriais, que aumentam a responsividade à

ocitoestimulação<sup>12</sup>. Além disso, os níveis séricos de IL-6 e IL-8 foram positivamente relacionados à dilatação cervical, e a IL-6 foi significativamente maior com contrações mais fortes e mais frequentes, com maior probabilidade de ocorrer durante o TP ativo<sup>12</sup>.

A IL-8, uma quimiocina que desempenha um papel crítico no remodelamento cervical na contratilidade miometrial ao promover a infiltração e ativação dos neutrófilos, é produzida por variados tipos de células cervicais, incluindo células epiteliais e fibroblastos estromais cervicais, leucócitos e macrófagos<sup>14</sup>. Concentrações de IL-8 também aumentam à medida que o TP progride<sup>15</sup> e sua expressão é induzida por TNF, IL-1  $\beta$ , LPS e ésteres de folato<sup>14</sup>.

Em contraste, IL-10, que pertence ao grupo de moduladores imunológicos, é expressa pela interface materno-fetal para limitar a resposta imunológica hostil contra o feto e favorecer a indução e manutenção da tolerância ao aloenxerto. Sua expressão durante a gravidez é maximizada na metade da gravidez e declina com o termo<sup>58</sup>. Esta citocina anti-inflamatória é secretada em grande quantidade pelo âmnio e pela decídua coriônica nas membranas fetais humanas e está envolvida na resposta a reações imunológicas e/ou infecção<sup>58,59</sup>.

Este efeito parece ser também mediado pela elevação dos níveis de progesterona, uma vez ter sido evidenciado que os níveis de IL-10 se elevam e estimulam a secreção de citocinas do tipo Th2 e reduzem a secreção de citocinas do tipo Th1, mantendo assim a gravidez<sup>60,61</sup>. Além disso, recente estudo *in vitro* sugeriu que na gestação a IL-10 e a progesterona possuem múltiplos efeitos nas interações monócito-miócito, incluindo inibição da contração dos miócitos<sup>62</sup>. Importante ressaltar, em análise *in vitro* a atividade simultânea entre a progesterona e da IL-10 nos trofoblastos pode ser capaz de suprimir a respostas pró-inflamatórias regulada entre a placenta e a decídua<sup>61</sup>. Desta forma, a concentração da IL-10 diminui progressivamente no final da gestação, favorecendo o predomínio das citocinas inflamatórias, tais como TNF, IL-1  $\beta$  e IL-6<sup>16</sup>.

Por sua vez, além dos fenômenos que contribuem para a manutenção e/ou ampliação da inflamação, atualmente, atenção especial tem sido dada aos eventos de controle da inflamação por mecanismos anti-inflamatórios ou pró-resolutivos, com maior interesse nos MPR. A conclusão ou resolução da inflamação, antes considerada um processo passivo, é hoje definida como um processo endógeno ativo, que protege o hospedeiro de uma resposta inflamatória exacerbada<sup>22</sup> e é

necessária para reestabelecer a homeostasia, limitando o dano tecidual excessivo e reduzindo o desenvolvimento da inflamação crônica<sup>23</sup>. Headland e Norling<sup>23</sup>, em artigo de revisão, defendem que a inflamação crônica pode ser entendida, pelo menos em parte, como decorrente de um processo de resolução inadequado. A resolução da inflamação é considerada um evento distinto de um processo anti-inflamatório. Isso porque, além de reduzir a infiltração de neutrófilos para os tecidos inflamados, as moléculas pró-resolutivas estimulam os macrófagos a realizarem a retirada e o *clearance* de células apoptóticas<sup>24</sup>, apresentando, portanto, papel ativo e não apenas regulador.

Dentre os MPR, as ANX, uma família de moléculas endógenas pró-resolutivas, não são imunossupressoras, mas atuam na resolução da inflamação por ativarem mecanismos específicos para o retorno da homeostasia<sup>25,26</sup>. A relação intrincada entre os fenômenos pró-inflamatórios e pró-resolutivos deve ser ressaltada, uma vez que as mesmas enzimas envolvidas na síntese dos mediadores pró-inflamatórios, como as COX e a LOX, também estão envolvidas na síntese de grande parte dos MPR<sup>25</sup>.

#### 1.1.2.1 Anexina A1 e a gravidez

As ANX são uma família de proteínas de ligação fosfolipídica dependentes de cálcio presentes em vários tecidos, incluindo pulmão, medula óssea, intestino, ovários e endométrio<sup>32</sup>. Além disso, pelo menos seis membros da família das ANX foram identificados na placenta e nas membranas amnióticas, incluindo ANX AI e II<sup>27</sup>. Estudos biológicos demonstraram que a síntese e liberação das ANX são induzidas por glicocorticoides e que as ANX inibem a atividade da fosfolipase-A2<sup>63</sup>.

A principal ANX estudada no envolvimento do processo inflamatório é a ANXA1, uma proteína cálcio-dependente de 37 kDa composta por 346 aminoácidos que apresenta um grupamento N-terminal de 49 aminoácidos, diferenciando-se das demais ANXs, e um domínio C-terminal com 33 kDa, formado por quatro a oito repetições de uma sequência de 70 a 80 aminoácidos altamente conservada<sup>64</sup>. Dois sítios de ligação ao cálcio são expressos na região convexa de cada repetição. Essa região faz face à membrana celular, enquanto a região côncava com o domínio N-terminal permanece livre para interagir com as proteínas citosólicas<sup>64</sup>. O domínio N-terminal possui resíduos de tirosina e serina, o que lhe confere atividades e funções

específicas das ANXs e contém sítios para processos pós-traducionais, tais como fosforilação, glicosilação e proteólise da ANXA1, que medeiam sua regulação<sup>65</sup>. Estudos experimentais com peptídeos-miméticos da região N-terminal, principalmente com o peptídeo Ac2-26, sugerem que esta região seja responsável pela promoção da ação anti-inflamatória e antiproliferativa da ANXA1<sup>32</sup>. Na Figura 2 é representada de forma esquemática a estrutura primária e o arranjo tridimensional da ANXA1.

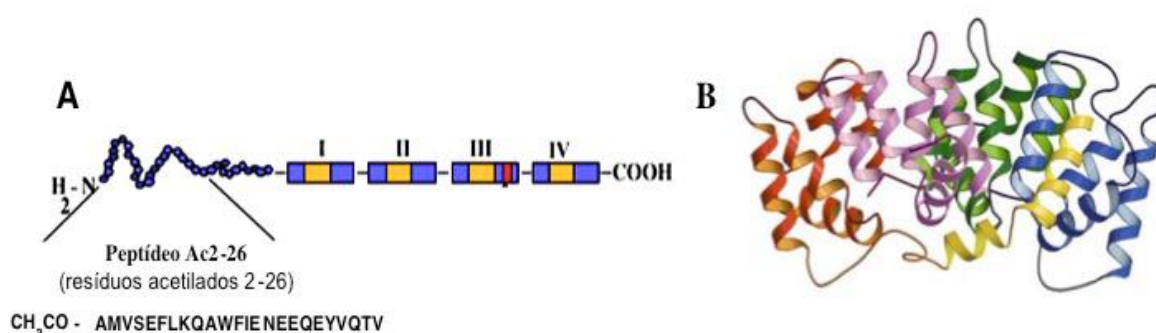


Figura 2 – Representação esquemática da estrutura primária da ANXA1.

Legenda: a) Destaque da região N-terminal em arranjo primário (peptídeo Ac2-26); b) Ilustração do arranjo tridimensional da proteína.

Fonte: adaptado de Gavins e Hikey<sup>32</sup> e Perretti et al<sup>66</sup>.

A ANXA1 é amplamente distribuída no organismo e pode ser encontrada em diversos tipos celulares, como células endoteliais, células epiteliais dos pulmões, intestinos, estômago, mama, rins, útero e placenta<sup>67</sup>, e em células estromais como os fibroblastos<sup>68</sup>. No entanto, a expressão da ANXA1 tem sido observada especialmente em células relacionadas aos processos de defesa como neutrófilos, mastócitos, eosinófilos, monócitos e linfócitos<sup>69</sup>. Apresenta-se em diferentes locais celulares conforme o estágio de atividade da célula em questão: em neutrófilos e mastócitos, encontra-se em grânulos, enquanto nos macrófagos está presente em maiores quantidades no citoplasma<sup>70</sup>. Têm-se demonstrado que a ANXA1 tem participação ativa em diferentes fenômenos fisiológicos. Alguns estudos têm definido as propriedades reguladoras da ANXA1 endógena em várias facetas da resposta inflamatória, promovendo a resolução fisiológica do processo imune inato<sup>23,28</sup>.

Originalmente, foi descrita como um inibidor da síntese dos mediadores lipídicos eicosanoides através do bloqueio da atividade da enzima fosfolipase citosólica A2 (cPLA2). Porém, atualmente já admite-se que este MPR modula muitos processos biológicos, incluindo a diferenciação, apoptose e crescimento celular, a resposta do sistema nervoso central (SNC) às citocinas, a secreção neuroendócrina e a concentração tecidual de neutrófilos<sup>69,71</sup>. A expressão de ANXA1 por macrófagos responsáveis pela fagocitose das células em necrose secundária exerce controle no processo de recrutamento dos leucócitos e atenua a síntese de citocinas pró-inflamatórias como o TNF<sup>72</sup>, a IL-1 $\beta$  e a IL-6<sup>71</sup>, modulando a ativação da COX-2<sup>69</sup> e da citocina IL-10<sup>73</sup>.

A maioria dos efeitos moduladores sobre a inflamação ocorre através ANXA1 pela interação com um receptor acoplado à proteína G transmembrana chamado FPR2/ALX<sup>29</sup>, que interage com vários ligantes orgânicos e inorgânicos envolvidos na defesa do hospedeiro e na inflamação<sup>67</sup>. A ligação de diferentes moléculas a este receptor ocorre com distintas afinidades e em diferentes sítios de ligação, facilitando a ativação de vias de sinalização diversas, dependendo do tipo celular. Assim, os efetores intracelulares, após a ativação desses receptores, podem resultar em efeitos inibitórios ou estimulatórios, dependendo do tipo e da concentração do ligante, do tipo de ligação e das circunstâncias<sup>25</sup>. Além de serem expressos em células do sistema imune como macrófagos e neutrófilos os receptores FPR2/ALX já foram descritos em tecidos como baço, pulmão, trato gastrointestinal e endométrio<sup>25,74</sup>, sendo relacionados com a homeostase dessas células<sup>75</sup>.

O papel funcional da ANXA1 em processos fisiopatológicos do aparelho reprodutor feminino vem sendo investigado e já foi demonstrada sua participação na modulação preparatória para a gestação do endométrio secretor<sup>30</sup>. Também, tem sua secreção reduzida na hipófise pelo estradiol, sugerindo participação da ANXA1 na resposta estrogênio-induzida de supressão da adesão pelos neutrófilos e nas diferenças entre os gêneros, na responsividade ao estresse e susceptibilidade a doenças autoimunes e inflamatórias conhecidas<sup>76</sup>. Além disso, recentemente, nosso grupo de pesquisa identificou que mulheres com endometriose apresentam menor densidade de ANXA1 no tecido peritoneal em relação às mulheres saudáveis<sup>77</sup>.

Quanto ao papel da ANXA1 e seu receptor FPR2/ALX na gravidez em humanos, este ainda precisa ser melhor elucidado. Níveis elevados de ANXA1 foram identificados durante a gravidez<sup>31</sup> com concentrações reduzidas no âmnio e na

placenta no TP quando comparados a cesarianas eletivas<sup>32-34</sup>. Por outro lado, autoanticorpos contra ANXA1 foram detectados no plasma de mulheres com pré-eclâmpsia, mas sua relevância na gênese da doença não é totalmente compreendida<sup>31,35,36</sup>.

Diante destes achados, é possível especular que o aumento da ANXA1 nos estágios finais da gestação poderia estar implicado com a falha nos processos de desencadeamento e evolução do TP, sugerindo que este aspecto deva ser investigado como um potencial alvo terapêutico em mulheres em condições de gravidez prolongada ou cuja indução do parto não responda aos tratamentos-padrão atuais.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o perfil inflamatório plasmático e placentário no TP induzido, comparativamente ao TP espontâneo, em humanos.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Descrever os aspectos clínico-demográficos e obstétricos das gestantes estudadas;
- Determinar os níveis plasmáticos maternos das citocinas TNF, IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8 e IL-10 nos grupos “TP espontâneo”, “Sucesso de Indução” e “Falha de Indução”;
- Determinar o imunoconteúdo do mediador ANXA1, do receptor FPR2/ALX e a concentração das citocinas TNF, IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8 e IL-10 na placenta (placa amniótica e trofoblasto), em todos os grupos;
- Determinar o número de neutrófilos placentários, em todos os grupos.
- Correlacionar os níveis plasmáticos das citocinas TNF, IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8 e IL-10 com o tempo de indução e do TP;
- Correlacionar o imunoconteúdo placentário da ANXA1 do receptor FPR2/ALX com o tempo de indução e do TP.

### 3. MÉTODOS

#### 3.1 TIPO DE ESTUDO

Trata-se de um estudo observacional com delineamento transversal e desdobramento de um dos braços para um estudo do tipo coorte, descrito conforme recomendado pela Iniciativa Strobe<sup>78</sup>.

#### 3.2 POPULAÇÃO, LOCAL E AMOSTRA

As amostras de sangue, placenta e membranas fetais foram obtidas de parturientes atendidas nas maternidades do Hospital Regional de São José – SC, selecionadas por conveniência.

O “grupo de TP espontâneo” foi constituído por gestantes de risco habitual, ou seja, sem fatores de risco maternos e/ou fetais conhecidos, admitidas em TP franco. O grupo de parto induzido foi constituído por gestantes com mais de 41 semanas de gravidez admitidas para indução do parto. O grupo de parto induzido foi subdividido em “grupo com boa resposta à indução do parto” e “grupo não responsivo”, conforme sua evolução (Figura 3). Para fins de determinação de não resposta à indução, a paciente recebeu oito doses de 25 mcg de misoprostol ou 24 h de cateter intrauterino seguidos de infusão de ocitocina em dose máxima (40mUI/min), sem que houvesse desencadeamento do TP<sup>45</sup>.

A amostra foi calculada através do software OpenEpi, versão 3.01, para um teste de hipótese para comparação de uma média, com intuito de detectar uma possível diferença nos níveis plasmático e tecidual da ANXA-1 e citocinas e da expressão tecidual do FPR2/ALX no sangue, placenta e membranas nas pacientes com parto induzido. Assim, assumindo-se como parâmetros para um teste bicaudal o nível de significância de 5%, o poder do teste de 80%, o valor da diferença entre as médias dos grupos como sendo pelo menos 20%, e com o valor do desvio padrão como média 20% do valor das médias, obteve-se número amostral de 16 gestantes no grupo de TP espontâneo e 16 no grupo de indução, totalizando 32 pacientes, no mínimo. Estes últimos parâmetros foram baseados nos resultados publicados por

Lynch-Salomonn e colaboradores<sup>33</sup> para os níveis de ANXA-1 nas membranas amnióticas.

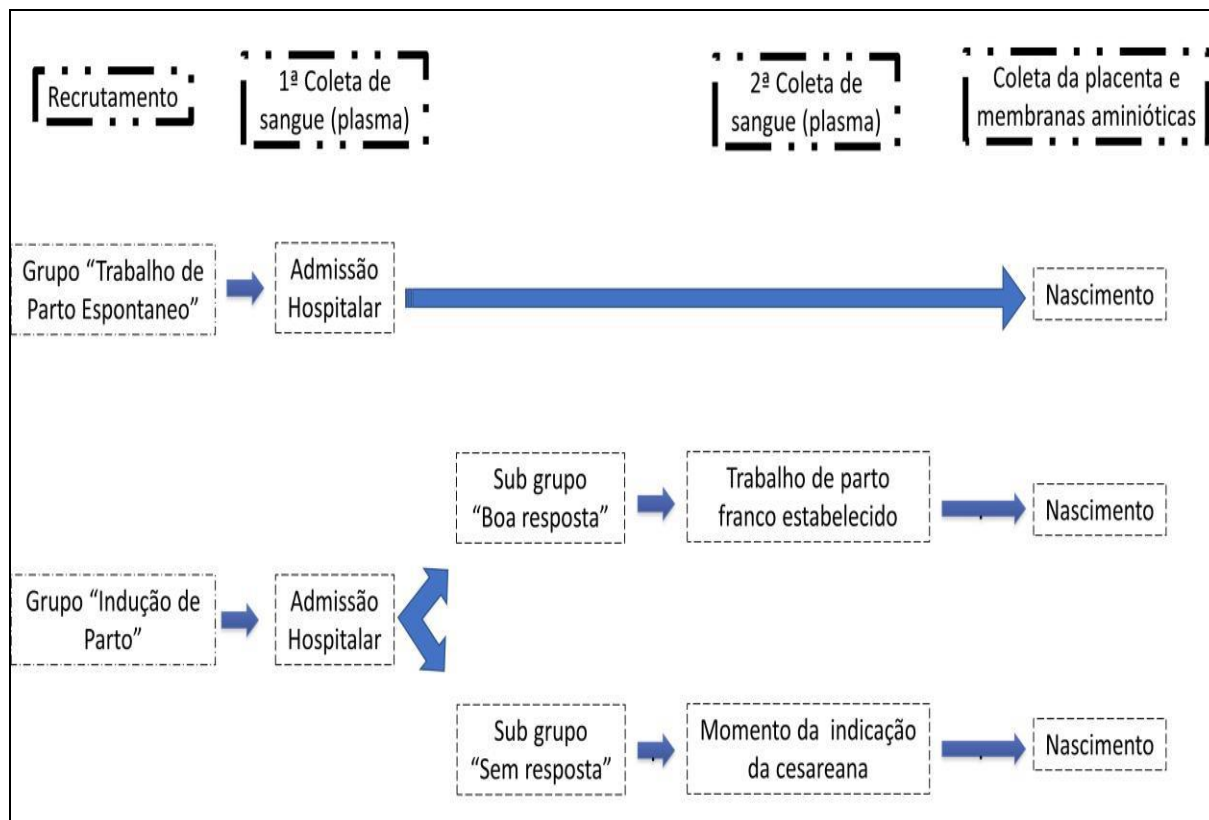


Figura 3 – Representação esquemática do delineamento do estudo.

Legenda: Representação dos grupos e subgrupos e identificação do momento de coleta das amostras.

### 3.3 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

Foram consideradas como sujeitos do estudo gestantes, provenientes dos municípios da região metropolitana de Florianópolis/SC, admitidas para parto na maternidade do HRSJ/SC, possuindo entre 20 e 45 anos, que não tinham feito uso de glicocorticoide ou apresentado alguma infecção durante a gestação e que concordassem em participar da pesquisa assinando o Termo Consubstanciado Livre e Esclarecido (TCLE) (APÊNDICE A).

### 3.4 CRITÉRIO DE EXCLUSÃO

Foram excluídos do estudo as pacientes com gestação complicada por patologias maternas ou fetais, mulheres submetidas a cesariana por situação fetal não tranquilizadora, mães de recém-nascidos com quadro de depressão neonatal ou evolução materna com quadro de infecção puerperal precoce, em ambos os grupos. Do grupo de indução do parto foram excluídas as pacientes encaminhadas para cesariana fora de TP sem que todo o protocolo de indução tenha sido empregado.

### 3.5 COLETA DE DADOS

No momento da internação as gestantes que preencheram os critérios de inclusão foram convidadas a participar do estudo. Após aceite e assinatura do TCLE, foi preenchido o instrumento de coletas de dados com as informações clínico-demográficas da paciente (APENDICE B) e coletados 5 ml de sangue, armazenados em tubos de ensaio com 0,25 ml de ácido etileno diaminotetracético (EDTA) a 1% e imediatamente centrifugados por 10 minutos a 3000rpm, para a obtenção de plasma. O sobrenadante obtido foi transferido para microtubos de 1,5 ml e armazenados em congelador a -20° C por no máximo 4 h até o transporte ao Laboratório de Neurociências Experimental (LANEX). Nas pacientes do grupo de indução do parto foi realizada nova coleta de 6 ml de sangue, da mesma forma que detalhado anteriormente, quando desencadearam o TP ou antes da cesariana. As coletas e processamento do sangue foram realizadas por um técnico de laboratório devidamente treinado.

Após o nascimento, as placentas foram coletadas ao término da dequitação. As amostras de tecido placentário foram seccionadas em forma de triângulo com auxílio de uma lâmina de bisturi, respeitando-se uma margem mínima de 2 cm da inserção do cordão umbilical e da borda, abrangendo regiões representativas da interface materno-fetal (decídua basal, vilosidades coriônicas e placa amniótica) e sucessivamente lavados em solução fisiologia estéril para remoção de sangue<sup>79</sup>. Cada amostra foi subdividida em dois fragmentos. Um fragmento foi armazenado em formalina 10% a temperatura ambiente e o outro fragmento teve a placa amniótica dissecada do trofoblasto com lâmina de bisturi<sup>79</sup> (Figura 5) e as porções resultantes

foram transferidas para tubos de Eppendorf e armazenadas em geladeira a 4° C por no máximo 24 h<sup>79</sup> até o transporte ao LANEX.

No LANEX, as amostras embebidas em formalina 10% foram fixadas por até 48h, lavadas em água corrente por 6h, desidratadas e mantidas em gradiente alcoólico à temperatura ambiente para análises posteriores; as amostras de plasma materno, placa amniótica e trofoblasto foram conservadas em Freezer -80°C até o momento das análises.

### 3.5.1 Materiais e equipamentos

Foram utilizados neste estudo os seguintes materiais e equipamentos:

a) Equipamentos: Ultra freezer Glacier -86° C (NuAire, Plymouth, MN, EUA); homogeneizador Ultra-Turrax (IKAT18basic, IKA®, Alemanha); Orbital Shaker (MS Major Science, CA, EUA); Centrífuga 580R® (Eppendorf do Brasil Ltda, São Paulo, Brasil); Eletrotransferidor PowerPac Basic, 300 V 400 mA 75W (BioRad®, São Paulo, SP); Kit de quimiluminescência (ECL; Thermo Scientific, Rocford, IL, EUA); Fotodocumentador (ChemiDoc, Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, EUA); leitor de ELISA espectrofotômetro de placas (Perlong DNM-9602, Nanjing Perlove Medical Equipment Co, Nanjing, China); microscópio de varredura a laser (AxioCam MRm, Carl Zeiss, Jena, Alemanha)

b) Reagentes: Kits de citocinas para TNF (15.6-1000), IL-1 $\beta$  (3.9-250), IL-6 (9.4-6000), IL-8 (31.2-2000) e IL-10 (31.2-2000) DuoSet (R&D Systems, Minnesota, MN, EUA); T-Per (Tissue Protein Extraction Reagent; Thermo Scientific, Rockford, IL, EUA); padrão de peso molecular (Precision Plus Protein™ Standards, Kaleidoscope™, BioRad, CA, EUA); anticorpo anti-ANXA1 (1:1000; Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, EUA); anti-FPR2 (Anti-FPRL1/RFP antibody ab63023-1:250; Abcam pcl., Cambridge, Reino Unido); anti-actina-HRP (1:35000; Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, EUA); anticorpo secundário anti-IgG conjugado com peroxidase (1:5000, Cell Signaling Technology, Danvers, MA, EUA); Alexa Fluor 555 Rabbit monoclonal para CD15 (1:50; Abcam, Cambridge, Inglaterra); DAPI (Life Technologies Waltham, MA, EUA).

c) Soluções: Tampão fosfato salino (PBS) [Tween 20 (0,05%), fluoreto de fenilmetilsulfonil (PMSF), 1 mM, ácido etilenodiaminotetracético, ácido acético 10mM (EDTA), 2 ng/ml de aprotinina e 0,1 mM cloreto de benzetônio (Sigma Chemical

Company, St. Louis, MO, EUA)]; tampão de lise [(Na<sub>2</sub>VO<sub>4</sub> 100 mM, fluoreto de fenilmetano-sulfonil (PMSF) 100 mM, coquetel de inibidores de proteases 1% (P8340) (Sigma-Aldrich Co. LLC, St. Louis, MO, EUA)]; tampão de amostra [glicerol 20%, mercaptoetanol 14,4 mM, azul de bromofenol 0,1%, Tris/HCl 0,2 M e SDS 10%]; gel de separação [acrilamida 8%, bis-acrilamida 0,2%, Tris 375 mM, SDS 0,1%, TEMED 0,06% e persulfato de amônia 0,04%]; gel de entrada [acrilamida 4%, bisacrilamida 0,09%, Tris 125 mM, SDS 0,1%, TEMED 0,08% e persulfato de amônia 0,03%]; TBS-T (NaCl 137 mM, KCl 2,7 mM, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1,5 mM, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 20 mM, Tween-20 0,05%).

### 3.5.2 Análise das amostras

As amostras congeladas foram armazenadas e analisadas no LANEX, da Universidade do Sul de Santa Catarina, Bloco I2, Unidade Pedra Branca, Palhoça, por meio de teste de Ensaio de Imunoabsorção Enzimática (ELISA) e Western Blotting (WB). As amostras de placenta mantidas em álcool à temperatura ambiente foram embebidas em parafina, cortadas em seções de micrótomo (5 µm), montadas em lâminas de vidro e transportadas ao Williams Harvey Research Institute (WHRI) em Londres para análise por imunofluorescência.

#### 3.5.2.1 Ensaio de Imunoabsorção Enzimática (ELISA)

O teste de ELISA foi utilizado para a determinação dos níveis plasmáticos e placentários das citocinas TNF, IL-1β, IL-6, IL-8 e IL-10. Para este fim, foram utilizadas amostras de 100 µL de plasma e homogenatos das amostras placentárias. As amostras de placenta congeladas foram pulverizadas em nitrogênio líquido e homogeneizadas em solução contendo inibidores de protease. Os homogenatos foram transferidos para tubos Eppendorf de 1,5 mL, centrifugados em 12000 rpm por 20 min a 4° C, e o sobrenadante utilizado para a determinação das proteínas totais através do método de Bradford<sup>80</sup>.

As análises das concentrações plasmáticas destes marcadores foram realizadas utilizando kits Duo Set para a mensuração das citocinas de acordo com as instruções do fabricante. Os valores obtidos foram estimados por interpolação a partir de uma curva padrão por colorimetria (comprimento de onda de correção 540

nm) em leitor de ELISA. Os resultados das amostras de plasma e placenta foram expressos em pg/ml e pg/mg de proteína, respectivamente.

### 3.5.2.2 Western Blotting (WB)

A análise por WB para pesquisa do imunoconteúdo das proteínas do mediador ANXA1 e do receptor FPR2/ALX foi realizada nas amostras placentárias congeladas, conforme descrito em estudo prévio<sup>35</sup>. Após a pulverização de cada tecido em nitrogênio líquido, foi adicionado o tampão de lise em T-PER e as amostras foram homogeneizadas por sonificação (60 W, 5 min). Os homogenatos foram centrifugados a 10.000 g por 20 min a 4° C. Alíquotas do sobrenadante obtido foram separadas para a dosagem de proteína em cada amostra, conforme determinado pelo método de Bradford<sup>80</sup>. Ao restante do sobrenadante foi adicionado o tampão de amostra na proporção de 1:6. As amostras foram fervidas (95° C; 5 min) e permaneceram armazenadas a -80° C até o momento da eletroforese.

Para separação das proteínas por eletroforese foi utilizado um gel de separação e um gel de entrada. As amostras (30 µg/poço para ANXA1 e 60 µg/poço para FPR2/ALX) e o padrão de peso molecular foram aplicadas nos géis e a eletroforese foi realizada a 90 V, por aproximadamente 3 h, utilizando-se tampão de corrida. Após a eletroforese, foi realizada a transferência das proteínas para uma membrana de PVDF (90 V, 90 min, 4° C). Em seguida, as membranas foram coradas (vermelho de Ponceau 0,2%, ácido tricloroacético 3%) para visualização das proteínas.

Após lavagens em TBS-T para a retirada do excesso do corante, iniciou-se o bloqueio da membrana com TBS-T contendo albumina sérica bovina 3% por 1 hora em temperatura ambiente. Em seguida, as membranas foram incubadas durante a noite a 4° C com anticorpos específicos anti-ANXA1 (1:1000), anti-FPR2 (1:250) ou anti-actina-HRP (1:35000). Ao término do período de incubação as membranas foram lavadas durante 30 min com TBS-T e, em seguida, incubadas com o anticorpo secundário anti-IgG conjugado com peroxidase (exceto para anti-actina-HRP) por 1 h em temperatura ambiente. Após esse período, uma nova lavagem de 30 min com TBS-T foi realizada seguida pela exposição das membranas durante 1 min ao kit de quimiluminescência e revelação através de um fotodocumentador. A quantificação das bandas de proteína foi realizada por densitometria utilizando o software de

análise iBright Imaging System (Invitrogen/Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, EUA). Os resultados foram descritos em unidades arbitrárias.

### 3.5.2.3 Imunofluorescencia

Para a análise de imunofluorescência, a desparafinização dos cortes foi realizada em estufa a 60°C por 30 minutos seguido por 1 banho de 10 minutos em xilol 100%. Os cortes foram reidratados através de banhos sucessivos (10 minutos) em graduações decrescentes de etanol (etanol 100%, etanol 85%, etanol 70% e etanol 50%) até a água destilada. A recuperação antigênica foi feita por calor úmido com imersão em tampão de Citrato de Sódio (0,01M) pH 6.0, durante 20 minutos a 97° C. Em seguida, as lâminas foram lavadas em *wash buffer*, solução comercial (Zytomed Systems Wash Buffer, ZYTOMED SYSTEMS, Berlim, Alemanha) por 5 minutos e incubadas em solução de bloqueio de proteínas inespecíficas (PBS) por 5 minutos (esse processo foi repetido 3 vezes).

Para a imunomarcagem dos neutrófilos, os cortes receberam o anticorpo CD15 conjugado ao Alexa Fluor 555 (diluição 1:50; Alexa Fluor 555 Rabbit monoclonal to CD15, Abcam, Cambridge, Inglaterra). Os cortes permaneceram com o conjugado por 30 minutos em câmara úmida, sob temperatura ambiente e no escuro para a formação do imunocomplexo. A seguir, as lâminas foram lavadas em tampão trizma base com cloreto de cálcio com pH 7,5 por dois períodos de 10 minutos.

Para a montagem das lâminas, os tecidos receberam uma gota de solução contendo 1 ml de meio de montagem Vectashield (Vector Laboratories, Burlingame, CA, UA) para 1 µl de DAPI (Life Technologies Waltham, MA, EUA) (4',6 diamidino-2-pheylindole), e lamínula. As marcações foram analisadas e registradas fotograficamente ao microscópio de varredura a laser, em um aumento de 40x com a câmera AxioCam MRc (Zeiss, Alemanha). O Alexa Fluor 555 emite fluorescência amarela (excitação com 553-568 nm) e o DAPI marca o núcleo celular em azul (excitação com 320 -400nm).

As fotos foram transferidas para um computador e analisadas com o programa ImageJ (*National Institutes of Health*, BethesdaMD, EUA), a fim de se determinar o número de células imunomarcadas por 1mm<sup>2</sup>.

### 3.6 VARIÁVEIS DE ESTUDO

Quadro 3 – Variáveis de estudo.

| Variáveis                                          | Tipo         | Natureza                       | Proposta de utilização                                         |
|----------------------------------------------------|--------------|--------------------------------|----------------------------------------------------------------|
| TP                                                 | Independente | Qualitativa nominal dicotômica | Espontâneo/Induzido<br>Em proporção                            |
| Resposta à indução do TP                           | Independente | Qualitativa nominal dicotômica | Sucesso; falha<br>Em proporção                                 |
| Tempo de indução                                   | Independente | Quantitativa Contínua          | Horas<br>Média e desvio padrão                                 |
| Tempo de TP                                        | Independente | Quantitativa Contínua          | Horas<br>Média e desvio padrão                                 |
| Concentração plasmática e tecidual de TNF          | Dependente   | Quantitativa contínua          | Pg/ml ou pg/mg de proteína<br>Mediana e intervalo interquartil |
| Concentração plasmática e tecidual de IL-1 $\beta$ | Dependente   | Quantitativa Contínua          | Pg/ml ou pg/mg de proteína<br>Mediana e intervalo interquartil |
| Concentração plasmática e tecidual de IL- 6        | Dependente   | Quantitativa Contínua          | Pg/ml ou pg/mg de proteína<br>Mediana e intervalo interquartil |
| Concentração plasmática e tecidual de IL-8         | Dependente   | Quantitativa Contínua          | Pg/ml ou pg/mg de proteína<br>Mediana e intervalo interquartil |
| Concentração plasmática e tecidual de IL-10        | Dependente   | Quantitativa Contínua          | Pg/ml ou pg/mg de proteína<br>Mediana e intervalo interquartil |
| Densidade da proteína ANXA1                        | Dependente   | Quantitativa contínua          | Unidades arbitrárias<br>Mediana e intervalo interquartil       |
| Densidade do receptor FPR2/ALX                     | Dependente   | Quantitativa contínua          | Unidades arbitrárias<br>Mediana e intervalo interquartil       |
| Número de neutrófilos (CD15+)                      | Dependente   | Quantitativa contínua          | Número<br>Mediana e intervalo interquartil                     |

### 3.7 PROCESSAMENTO E ANÁLISE DOS DADOS

As informações obtidas foram inseridas em um banco de dados e analisadas no software IBM SPSS statistics 24.0 (©copyright IBM corporations and its licensors 1989, 2016).

As variáveis numéricas foram representadas em gráficos de distribuição amostral, mediana e intervalo interquartil. Em todos os processos de inferência estatística o valor de p foi considerado significativo quando  $\leq 0,05$ .

Os dados foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk e como se mostraram não paramétricos as diferenças de média entre os grupos foram analisadas pelo teste de Kruskal-Wallis e ajuste de significância pelo Método de Dunn. Para determinação de correlação entre as variáveis, foi adotado o teste de correlação Spearman.

### 3.8 ASPECTOS ÉTICOS DA PESQUISA

O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética Pesquisa (CEP) da UNISUL em 20 de dezembro de 2018 sob o CAAE n. 99567618.0.0000.5369 (ANEXO A), fundamentado nos princípios éticos da Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde. Foram respeitados os princípios éticos da privacidade, confidencialidade, beneficência, não maleficência, justiça e autonomia dos pacientes.

Todas as pacientes envolvidas no estudo foram informadas dos detalhes do procedimento, ficando claro que podiam optar por não participar do estudo e tiveram a oportunidade de esclarecer suas dúvidas, bem como dispor do tempo que lhes fosse adequado para a tomada de uma decisão autônoma. Aquelas que concordaram em participar, assinaram o TCLE.

Os dados obtidos através da pesquisa são de acesso exclusivo dos pesquisadores, durante todas as fases da pesquisa, mesmo após o término dela. Após a análise de dados, todas as informações foram arquivadas por um período mínimo de cinco anos.

Estima-se que o risco às participantes foi mínimo, podendo incluir leve desconforto na coleta do sangue pela picada da agulha e ocorrência de equimose após a punção, minimizados com a aplicação de gelo local, quando necessário. Além disso, a resposta ao questionário poderia incorrer em exposição de dados confidenciais e as pacientes poderiam estar em TP, desta forma, a entrevista foi realizada em ambiente reservado e tanto os questionamentos quanto as coletas foram feitas no intervalo das contrações.

Acredita-se que o benefício foi indireto, com aperfeiçoamento do conhecimento dos mecanismos envolvidos no desencadeamento do TP fisiológico e possível desenvolvimento de tratamento alternativo tanto para a gestação prolongada quanto para partos prematuros.

Não existem conflitos de interesses entre os pesquisadores e os sujeitos da pesquisa.

#### 4. MANUSCRITO

A seguir está inserido o artigo científico fruto dessa tese de Doutorado, que será submetido para a revista científica **Placenta** com fator de impacto de 3,117 (2019-2020), Qualis Capes (Med II) A2.

#### CONTRIBUTION OF PLASMA, PLACENTAL, INFLAMMATORY AND PRO-RESOLVING MEDIATORS IN LABOR INDUCTION

Lia Karina Volpato, Suchita Nadkani, Veronica Vargas Horevicz, Nathalia Donatello,  
Anna Paula Piovezan

##### Resumo

**Objetivo:** Comparar os níveis de citocinas inflamatórias no plasma e placenta, o imunconteúdo da Anexina A1 (ANXA1) e do FPR2/ALX e o número de neutrófilos na placenta de gestantes com TP espontâneo àquelas submetidas a indução de parto por gestação a termo tardio.

**Método:** O estudo incluiu gestantes saudáveis admitidas para parto (16 pacientes) ou indução de parto (24 gestantes, com falha na indução em 4 delas). As amostras foram avaliadas por ELISA, no plasma e na placenta, para TNF, IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8 e IL-10, por Western Blotting para ANXA1 e FPR2/ALX e imunofluorescência para o anticorpo CD15+ (neutrófilo) na placenta. Os dados foram analisados pelo teste de Kruskal-Wallis seguido do método de Dunn e correlação de Spearman. O valor de p foi considerado significativo quando  $\leq 0,05$ .

**Resultados:** Observou-se redução dos níveis de TNF plasmático pós indução no grupo em que houve falha de indução ( $p = 0,023$ ). Encontrou-se maior concentração de IL-8 na placa amniótica ( $p = 0,049$ ) e de TNF ( $p < 0,001$ ) e IL-10 ( $p < 0,001$ ) no trofoblasto das pacientes com TP espontâneo. Também, foi observada maior densidade de ANXA1 no trofoblasto daquelas com falha de indução ( $p = 0,041$ ). Identificou-se correlação positiva moderada do tempo de indução com a densidade de ANXA1 no trofoblasto ( $r=0,580$ ) e com o nível de IL-6 na placa amniótica

( $r=0,517$ ) e correlação positiva fraca entre o tempo de TP e a densidade de ANXA1 no trofoblasto ( $r= 0,419$ ). Além disso, foi identificado aumento significativo na imunomarcagem de células CD15+ entre os grupos com TP espontâneo comparadas com o grupo em que houve falha de indução ( $p < 0,001$ ).

**Conclusão:** Pode-se concluir que o processo inflamatório no TP envolve a participação tanto materna quanto fetal. Os resultados encontrados solidificam os achados de estudos anteriores, contudo outros ensaios são necessários para determinar os gatilhos ao desencadeamento do TP.

**Descritores:** Gestação. Trabalho de parto. Inflamação. Resolução da inflamação

## Abstract

**Objective:** To compare the levels of inflammatory cytokines in plasma and placenta and the density of Annexin A1 (ANXA1) and FPR2/ALX, and the number of neutrophils in the placenta of pregnant women with spontaneous labor with those undergoing labor induction in late-term pregnancy.

**Method:** This study included healthy pregnant women admitted for delivery (16 patients) or labor induction (24 pregnant women, with induction failure in 4 of them). TNF, IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, and IL-10 were quantified by ELISA in plasmatic and placental samples and ANXA1 and FPR2/ALX in the placenta by Western Blotting, and immunofluorescence to CD15+ antibody. The data were analyzed using the Kruskal-Wallis's test followed by Dunn method and Spearman correlation. The p-value was significant when  $\leq 0.05$ .

**Results:** There was a reduction in plasma TNF levels following induction in the group with induction failure ( $p=0.023$ ); higher concentrations of IL-8 was found in the amniotic plaque ( $p=0.049$ ) and of TNF ( $p<0.001$ ) and IL-10 ( $p<0.001$ ) in the trophoblast of patients with spontaneous labor. Greater ANXA1 density in the trophoblast was also observed in those with induction failure. There was a moderate positive correlation of induction time with ANXA1 density in trophoblast ( $r=0.580$ ) and with the IL-6 level in amniotic plaque ( $r=0.517$ ), and a weak positive correlation between labor time and density of ANXA1 was identified in the trophoblast ( $r= 0.419$ ). In addition, a significant increase was identified in CD15+ cell immunocapturing among the groups with spontaneous labor compared to the group with induction failure ( $p < 0.001$ ).

**Conclusion:** We concluded that the inflammatory process in labor involves both maternal and fetal participation. The results reinforce the findings of previous studies; however, other tests are required to determine the triggers for inducing labor.

**Keywords:** Pregnancy; Labor; Inflammation; Resolution of inflammation.

## 5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Como limitações deste estudo, pode-se destacar a impossibilidade de avaliação plasmática prévia ao início do TP espontâneo e no período puerperal, a incapacidade de estratificar os achados conforme a idade gestacional destas pela limitação amostral, além do pequeno número de casos com falha de indução. Desta forma, o desenho deste estudo não foi suficiente para discriminar entre causa ou consequência no que diz respeito à relação entre o TP induzido e o processo inflamatório fisiológico envolvido no desencadeamento do TP.

Como ineditismo, destaca-se que, até onde se tem conhecimento, este é o primeiro trabalho que avalia a densidade da ANXA1 na indução do trabalho de parto em humanos, propondo-se ainda a correlacioná-la com o tempo de indução e de trabalho de parto.

Com base nos resultados apresentados, pode-se ressaltar que há maior concentração de TNF, IL-8 e IL-10 no TP espontâneo, menor densidade de ANXA1 nas pacientes submetidas a indução com boa resposta e correlação positiva entre o tempo de indução com TNF, IL-6 e ANXA1 e correlação positiva entre o tempo de TP e ANXA1. Pelas diferenças evidenciadas ora na placa amniótica, ora no trofoblasto, pode -se concluir que a participação no processo inflamatório fisiológico do TP envolve a participação de aspectos tanto maternos quanto fetais. Adicionalmente, os resultados encontrados solidificam resultados de estudos anteriores, embora outros ensaios sejam necessários para determinar quais os gatilhos fundamentais para o desencadeamento do TP.

## REFERÊNCIAS

1. Rapacz-Leonard A, Dąbrowska M, Janowski T. Major histocompatibility complex I mediates immunological tolerance of the trophoblast during pregnancy and may mediate rejection during parturition. *Mediators Inflamm.* 2014;2014:1–11.
2. Abu-Raya B, Michalski C, Sadarangani M, Lavoie PM. Maternal immunological adaptation during normal pregnancy. *Front Immunol.* 2020;11:1–18.
3. Cunningham FG, Leveno KJ, Bloom SL, Dashe JS, Hoffman BL, Casey BM, et al.. *Williams Obstetrics*. 25th ed. New: McGraw Hill; 2018.
4. Bakker R, Pierce S, Myers D. The role of prostaglandins E1 and E2, dinoprostone, and misoprostol in cervical ripening and the induction of labor: a mechanistic approach. *Arch Gynecol Obstet.* 2017;296(2):167–79.
5. Brubaker D, Barbaro A, R. Chance M, Mesiano S. A dynamical systems model of progesterone receptor interactions with inflammation in human parturition. *BMC Syst Biol.* 2016;10(1):79.
6. Waldorf KMA, Singh N, Mohan AR, Young RC, Ngo L, Das A, et al. Uterine overdistention induces preterm labor mediated by inflammation: observations in pregnant women and nonhuman primates. *Am J Obstet Gynecol.* 2015;213(6):830.e1-830.e19.
7. Edey LF, Georgiou H, O'Dea KP, Mesiano S, Herbert BR, Lei K, et al. Progesterone, the maternal immune system and the onset of parturition in the mouse†. *Biol Reprod.* 2018;98(3):376–95.
8. Srikhajon K, Shynlova O, Preechapornprasert A, Chanrachakul B, Lye S. A new role for monocytes in modulating myometrial inflammation during human labor. *Biol Reprod.* 2014;91(1):1–12.
9. Jiang ZY, Guo YY, Ren HB, Zou YF, Fan MS, Lv Y, et al. Tumor necrosis factor (TNF)- $\alpha$  upregulates progesterone receptor-A by activating the NF- $\kappa$ B signaling pathway in human decidua after labor onset. *Placenta.* 2012;33(1):1–7.
10. Patel B, Peters GA, Skomorovska-Prokvolit Y, Yi L, Tan H, Yousef A, et al. Control of progesterone receptor-A transrepressive activity in myometrial cells: implications for the control of human parturition. *Reprod Sci.* 2018;25(2):214–

- 21.
11. Pierce S, Roberson AE, Hyatt K, Singleton K, Deschamps D, Myers DA. Interaction between progesterone and interleukin-1 $\beta$  in modulating progesterone receptor expression and the inflammatory phenotype in human cervical fibroblasts. *Reprod Sci*. 2018;25(4):598–608.
12. Cierny JT, Unal ER, Flood P, Rhee KY, Praktish A, Olson TH, et al. Maternal inflammatory markers and term labor performance. *Am J Obstet Gynecol*. 2014;210(5):447.e1-447.e6.
13. Hebisch G, Grauaug AA, Neumaier-Wagner PM, Stallmach T, Huch A, Huch R. The relationship between cervical dilatation, interleukin-6 and interleukin-8 during term labor. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2001;80(9):840–8.
14. Meniailo ME, Malashchenko VV, Shmarov VA, Gazatova ND, Melashchenko OB, Goncharov AG, et al. Interleukin-8 favors pro-inflammatory activity of human monocytes/macrophages. *Int Immunopharmacol*. 2018;56:217–21.
15. Phillips RJ, Fortier MA, López Bernal A. Prostaglandin pathway gene expression in human placenta, amnion and choriodecidua is differentially affected by preterm and term labour and by uterine inflammation. *BMC Pregnancy Childbirth*. 2014;14(1):1–14.
16. Ferguson KK, McElrath TF, Chen Y-H, Mukherjee B, Meeker JD. Longitudinal profiling of inflammatory cytokines and C-reactive protein during uncomplicated and preterm pregnancy. *Am J Reprod Immunol*. 2014;72(3):326–36.
17. Houra M, Nazem-Kazerani F, Mortazavi M, Hadavi M, Moosavi SM, Arababadi MK. The roles played by IL-10, IL-23 and IL-17A in term delivery. *J Neonatal Perinatal Med*. 2021;14(1):85–93.
18. Buczynski MW, Dumlao DS, Dennis EA. An integrated omics analysis of eicosanoid biology. *J Lipid Res*. 2009;50(6):1015–38.
19. Durn JH, Marshall KM, Farrar D, O'Donovan P, Scally AJ, Woodward DF, et al. Lipidomic analysis reveals prostanoid profiles in human term pregnant myometrium. *Prostaglandins Leukot Essent Fat Acids*. 2010;82(1):21–6.
20. Gonzalez JM, Romero R, Girardi G. Comparison of the mechanisms responsible for cervical remodeling in preterm and term labor. *J Reprod Immunol*. 2013;97(1):112–9.
21. Livson S, Jarva H, Kalliala I, Lokki AI, Heikkinen-Eloranta J, Nieminen P, et al. Activation of the complement system in the lower genital tract during pregnancy

- and delivery. *Front Immunol.* 2021;11:1–10.
22. Perucci LO, Sugimoto MA, Gomes KB, Dusse LM, Teixeira MM, Sousa LP. Annexin A1 and specialized proresolving lipid mediators: promoting resolution as a therapeutic strategy in human inflammatory diseases. *Expert Opin Ther Targets.* 2017;21(9):879–96.
  23. Headland SE, Norling L V. The resolution of inflammation: principles and challenges. *Semin Immunol.* 2015;27(3):149–60.
  24. Chiang N, Serhan CN. Specialized pro-resolving mediator network: an update on production and actions. *Essays Biochem.* 2020;64(3):443–62.
  25. Serhan CN, Chiang N, Dalli J. The resolution code of acute inflammation: novel pro-resolving lipid mediators in resolution. *Semin Immunol.* 2015;27(3):200–15.
  26. Dalli J, Serhan C. Macrophage proresolving mediators — the when and where. *Microbiol Spectr.* 2016;4(3).
  27. Sun M, Liu Y, Gibb W. Distribution of annexin I and II in term human fetal membranes, decidua and placenta. *Placenta.* 1996;17(2–3):181–4.
  28. Sugimoto MA, Vago JP, Teixeira MM, Sousa LP. Annexin A1 and the resolution of inflammation: Modulation of neutrophil recruitment, apoptosis, and clearance. *J Immunol Res.* 2016;2016:8239258.
  29. Gavins FNE, Yona S, Kamal AM, Flower RJ, Perretti M. Leukocyte antiadhesive actions of annexin 1: ALXR- and FPR-related anti-inflammatory mechanisms. *Blood.* 2003;101(10):4140–7.
  30. Greening DW, Nguyen HPT, Evans J, Simpson RJ, Salamonsen LA. Modulating the endometrial epithelial proteome and secretome in preparation for pregnancy: the role of ovarian steroid and pregnancy hormones. *J Proteomics.* 2016;144:99–112.
  31. Feng J, Wang X, Li H, Wang L, Tang Z. Silencing of Annexin A1 suppressed the apoptosis and inflammatory response of preeclampsia rat trophoblasts. *Int J Mol Med.* 2018;42(6):3125–34.
  32. Gavins FNE, Hickey MJ. Annexin A1 and the regulation of innate and adaptive immunity. *Front Immunol.* 2012;3:1–11.
  33. Lynch-Salamon DI, Everson W V., Myatt L. Decrease in annexin I messenger ribonucleic acid expression in human amnion with labor. *Am J Obstet Gynecol.* 1992;167(6):1657–63.
  34. Myatt L, Hirth J, Everson W V. Changes in annexin (lipocortin) content in

- human amnion and chorion at parturition. *J Cell Biochem.* 1992;50(4):363–73.
35. Behrouz G-F, Farzaneh GS, Leila J, Jaleh Z, Eskandar K-S. Presence of auto-antibody against two placental proteins, annexin A1 and vitamin D binding protein, in sera of women with pre-eclampsia. *J Reprod Immunol.* 2013;99(1–2):10–6.
  36. Perucci LO, Vieira ÉLM, Teixeira AL, Gomes KB, Dusse LM, Sousa LP. Decreased plasma concentrations of brain-derived neurotrophic factor in preeclampsia. *Clin Chim Acta.* 2017;464:142–7.
  37. ACOG. Definition of term pregnancy. Committee Opinion N. 579. *Obstet Gynecol.* 2013;122(5):1139–40.
  38. Keulen JKJ, Bruinsma A, Kortekaas JC, van Dillen J, van der Post JAM, de Miranda E. Timing induction of labour at 41 or 42 weeks? A closer look at time frames of comparison: A review. *Midwifery.* 2018;66:111–8.
  39. Dunn L, Kumar S, Beckmann M. Maternal age is a risk factor for caesarean section following induction of labour. *Aust New Zeal J Obstet Gynaecol.* 2017;57(4):426–31.
  40. Osterman MJK, Martin JA. Recent declines in induction of labor by gestational age. *NCHS Data Brief.* 2014;(155):1–8.
  41. Zhang YY, Liu WN, You XJ, Gu H, Xu C, Ni X. Prostaglandin E2 receptors differentially regulate the output of proinflammatory cytokines in myometrial cells from term pregnant women. *Acta Physiol Sin.* 2019;71(2):248–60.
  42. Ivars J, Garabedian C, Devos P, Therby D, Carlier S, Deruelle P, et al. Simplified Bishop score including parity predicts successful induction of labor. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2016;203:309–14.
  43. Makani V, Sultana R, Sie KS, Orjiako D, Tatangelo M, Dowling A, et al. Annexin A1 Complex Mediates Oxytocin Vesicle Transport. *J Neuroendocrinol.* 2013;25(12):1241–54.
  44. De Wit NCJ, Heck AJR, Thornton S. The effect of oxytocin and an oxytocin antagonist on the human myometrial proteome. *Reprod Sci.* 2010;17(1):40–6.
  45. Pfützenreuter GR, Cavalieri JC, Fragoso AP de O, Da Corregio KS, Freitas PF, Trapani A. Factors associated with intrapartum cesarean section in women submitted to labor induction. *Rev Bras Ginecol Obstet.* 2019;41(6):363–70.
  46. Haavisto H, Polo-Kantola P, Anttila E, Kolari T, Ojala E, Rinne K. Experiences of induction of labor with a catheter – A prospective randomized controlled trial

- comparing the outpatient and inpatient setting. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2021;100(3):410–7.
47. Duro Gómez J, Garrido Oyarzún MF, Rodríguez Marín AB, de la Torre González AJ, Arjona Berral JE, Castelo-Branco C. Vaginal misoprostol and cervical ripening balloon for induction of labor in late-term pregnancies. *J Obstet Gynaecol Res.* 2017;43(1):87–91.
  48. Battarbee AN, Sandoval G, Grobman WA, Reddy UM, Tita ATN, Silver RM, et al. Maternal and neonatal outcomes associated with amniotomy among nulliparous women undergoing labor induction at term. *Am J Perinatol.* 2020;38(sup. 1):239-48.
  49. Tan PC, Soe MZ, Sulaiman S, Omar SZ. Immediate compared with delayed oxytocin after amniotomy labor induction in parous women. *Obstet Gynecol.* 2013;121(2):253–9.
  50. Ravanos K, Dagklis T, Petousis S, Margioulas-Siarkou C, Prapas Y, Prapas N. Factors implicated in the initiation of human parturition in term and preterm labor: A review. *Gynecol Endocrinol.* 2015;31(9):679–83.
  51. Vannuccini S, Bocchi C, Severi FM, Challis JR, Petraglia F. Endocrinology of human parturition. *Ann Endocrinol.* 2016;77(2):105–13.
  52. Zhang J, Shynlova O, Sabra S, Bang A, Briollais L, Lye SJ. Immunophenotyping and activation status of maternal peripheral blood leukocytes during pregnancy and labour, both term and preterm. *J Cell Mol Med.* 2017;21(10):2386–402.
  53. Shynlova O, Nadeem L, Zhang J, Dunk C, Lye S. Myometrial activation: Novel concepts underlying labor. *Placenta.* 2020;92:28–36.
  54. Herrera CA, Stoerker J, Carlquist J, Stoddard GJ, Jackson M, Esplin S, et al. Cell-free DNA, inflammation, and the initiation of spontaneous term labor. *Am J Obstet Gynecol.* 2017;217(5):583.e1-583.e8.
  55. Flores-Espinosa P, Preciado-Martínez E, Mejía-Salvador A, Sedano-González G, Bermejo-Martínez L, Parra-Covarrubias A, et al. Selective immunomodulatory effect of prolactin upon pro-inflammatory response in human fetal membranes. *J Reprod Immunol.* 2017;123:58–64.
  56. Menon R, Richardson LS, Lappas M. Fetal membrane architecture, aging and inflammation in pregnancy and parturition. *Placenta.* 2019;79:40–5.
  57. Lappas M. RAF1 is increased in labouring myometrium and modulates

- inflammation-induced pro-labour mediators. *Reproduction*. 2016;151(4):411–20.
58. Zaga-Clavellina V, Parra-Covarrubias A, Ramirez-Peredo J, Vega-Sanchez R, Vadillo-Ortega F. The potential role of prolactin as a modulator of the secretion of proinflammatory mediators in chorioamniotic membranes in term human gestation. *Am J Obstet Gynecol*. 2014;211(1):48.e1-48.e6.
  59. Neal JL, Lamp JM, Lowe NK, Gillespie SL, Sinnott LT, McCarthy DO. Differences in inflammatory markers between nulliparous women admitted to hospitals in preactive vs active labor. *Am J Obstet Gynecol*. 2015;212(1):68.e1-68.e8.
  60. Reyes-Lagos JJ, Peña-Castillo MÁ, Echeverría JC, Pérez-Sánchez G, Álvarez-Herrera S, Becerril-Villanueva E, et al. Women serum concentrations of the IL-10 family of cytokines and IFN-gama; Decrease from the third trimester of pregnancy to active labor. *Neuroimmunomodulation*. 2017;24(3):162–70.
  61. Mobini M, Mortazavi M, Nadi S, Zare-Bidaki M, Pourtalebi S, Kazemi Arababadi M. Significant roles played by interleukin-10 in outcome of pregnancy. *Iran J Basic Med Sci*. 2016;19(2):119–24.
  62. Amini P, Wilson R, Wang J, Tan H, Yi L, Koeblitz WK, et al. Progesterone and cAMP synergize to inhibit responsiveness of myometrial cells to pro-inflammatory/pro-labor stimuli. *Mol Cell Endocrinol*. 2019;479:1–11.
  63. Yazid S, Norling L V, Flower RJ. Anti-inflammatory drugs, eicosanoids and the annexin A1/FPR2 anti-inflammatory system. *Prostaglandins Other Lipid Mediat*. 2012;98(3–4):94–100.
  64. Acunto WC, Gbelcova H, Festa M, Ruml T. The complex understanding of Annexin A1 phosphorylation. *Cell Signal*. 2014;26(1):173–8.
  65. Fullerton JN, Gilroy DW. Resolution of inflammation: a new therapeutic frontier. *Nat Rev Drug Discov*. 2016;15(8):551–67.
  66. Perretti M, Leroy X, Bland EJ, Montero-Melendez T. Resolution pharmacology: opportunities for therapeutic innovation in inflammation. *Trends Pharmacol Sci*. 2015;36(11):737–55.
  67. D'Acquisto F, Piras G, Rattazzi L. Pro-inflammatory and pathogenic properties of Annexin-A1: the whole is greater than the sum of its parts. *Biochem Pharmacol*. 2013;85(9):1213–8.
  68. Neymeyer H, Labes R, Reverte V, Saez F, Stroh T, Dathe C, et al. Activation of

- annexin A1 signalling in renal fibroblasts exerts antifibrotic effects. *Acta Physiol.* 2015;215(3):144–58.
69. Sheikh MH, Solito E. Annexin A1: uncovering the many talents of an old protein. *Int J Mol Sci.* 2018;19(4):1–20.
  70. D'Acquisto F, Perretti M, Flower RJ, Acquisto FD, Perretti M, Flower RJ, et al. Annexin-A1: a pivotal regulator of the innate and adaptive immune systems. *Br J Pharmacol.* 2008;155(2):152–69.
  71. Boudhraa Z, Bouchon B, Viallard C, D'Incan M, Degoul F. Annexin A1 localization and its relevance to cancer. *Clin Sci.* 2016;130(4):205–20.
  72. de Paula-Silva M, Barrios BE, Maccio-Maretto L, Sena AA, Farsky SHP, Correa SG, et al. Role of the protein annexin A1 on the efficacy of anti-TNF treatment in a murine model of acute colitis. *Biochem Pharmacol.* 2016;115:104–13.
  73. Guido BC, Zanatelli M, Tavares-de-Lima W, Oliani SM, Damazo AS. Annexin-A1 peptide down-regulates the leukocyte recruitment and up-regulates interleukin-10 release into lung after intestinal ischemia-reperfusion in mice. *J Inflamm.* 2013;10(1):10.
  74. Motohashi E, Kawauchi H, Endo H, Kondo H, Kitasato H, Kuramoto H, et al. Regulatory expression of lipoxin A4 receptor in physiologically estrus cycle and pathologically endometriosis. *Biomed Pharmacother.* 2005;59(6):330–8.
  75. McArthur S, Gobbetti T, Kusters DHM, Reutelingsperger CP, Flower RJ, Perretti M. Definition of a novel pathway centered on lysophosphatidic acid to recruit monocytes during the resolution phase of tissue. *J Immunol.* 2015;195(3):1139–51.
  76. Nadkarni S, McArthur S. Oestrogen and immunomodulation: new mechanisms that impact on peripheral and central immunity. *Curr Opin Pharmacol.* 2013;13(4):576–81.
  77. Volpato LK, Horewicz VVVV, Bobinski F, Martins DFDF, Piovezan APAP. Annexin A1, FPR2/ALX, and inflammatory cytokine expression in peritoneal endometriosis. *J Reprod Immunol.* 2018;129:30–5.
  78. Malta M, Cardoso LO, Bastos FI, Magnanini MMF, Silva CMFP. Iniciativa STROBE: subsídios para a comunicação de estudos observacionais. *Rev Saude Publica.* 2010;44(3):559–65.
  79. Sjaarda LA, Ahrens KA, Kuhr DL, Holland TL, Omosigbo UR, Steffen BT, et al.

- Pilot study of placental tissue collection, processing, and measurement procedures for large scale assessment of placental inflammation. PLoS One. 2018;13(5):1–10.
80. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal Biochem. 1976;72:248–54.

## APÊNDICES

## APÊNDICE A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO



**Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde  
Universidade do Sul de Santa Catarina  
Comitê de Ética em Pesquisa – CEP UNISUL**

### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

Você está sendo convidada para participar, como voluntária, da pesquisa: **“EXPRESSÃO DA ANEXINA A1 E CITOCINAS INFLAMATÓRIAS NO TRABALHO DE PARTO INDUZIDO”** e que tem como objetivo “avaliar a associação de substâncias envolvidas no processo inflamatório, chamadas de citocinas, da Anexina - A1, um marcador anti-inflamatório, e seu receptor com o trabalho de parto induzido”. Acreditamos que ela seja importante pois, identificar essa associação pode ser útil no esclarecimento de como o trabalho de parto natural é iniciado e pode permitir a criação de novos tratamentos tanto para evitar que a gravidez passe do tempo natural (gravidez prolongada) quanto para evitar que os bebês nasçam antes do termo (partos prematuros).

**Participação do estudo** – A minha participação no referido estudo será de fornecer sangue coletado da minha veia em dois momentos, quando eu for internada e quando eu estiver em trabalho de parto ou for definido que houve falha da indução do meu parto. Em cada momento serão coletados 10 ml de cada vez. Também fornecerei a placenta e as membranas amnióticas depois que o bebê nascer. No meu sangue serão contadas as células brancas de defesa, através do hemograma, e a quantificação da Proteína C reativa, um marcador de inflamação. Além disso, tanto meu sangue quanto a placenta e as membranas amnióticas de meu filho serão analisadas para identificar a quantidade, presente no meu sangue e nos produtos da gravidez, de substâncias que estão envolvidas na inflamação: as citocinas (IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, IL-10 e TNF- $\alpha$ ), o mediador Anexina A1 e o seu receptor FPR2/ALX. Além disso, fornecerei os meus dados clínicos e obstétricos para o preenchimento do instrumento de coleta de dados. Minhas amostras de sangue e os produtos da placenta serão encaminhadas ao Laboratório de Neurociências Experimental (LANEX) da Universidade do Sul de Santa Catarina (UNISUL) onde ficarão guardadas entre 4 e 27 meses, a depender da data de coleta, até serem analisadas. Após a análise das amostras, estas serão descartadas de acordo com as recomendações da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e o Conselho Nacional do Meio Ambiente para o tratamento e disposição final de resíduos de materiais biológicos.

**Riscos e Benefícios** – Fui alertado que, da pesquisa a se realizar, posso esperar um benefício indireto, pois a partir dessa pesquisa, estarei colaborando para melhorar o conhecimento sobre a fisiologia do trabalho de parto. Fui informada, também que é possível que aconteçam os seguintes desconfortos ou riscos: um leve desconforto na coleta do sangue, pela picada da agulha e que pode aparecer pequena equimose (área roxa) após a punção, para evitar ou melhorar isso, poderá ser usado gelo no local. Como poderei estar em trabalho de parto, me foi assegurado que as coletas e entrevistas serão feitas no intervalo das contrações, em local reservado.

**Sigilo e Privacidade** – Estou ciente de que a minha privacidade será respeitada, ou seja, meu nome ou qualquer dado ou elemento que possa, de qualquer forma, me identificar será mantido em sigilo. Os pesquisadores se responsabilizam pela guarda e confidencialidade dos dados, bem como a não exposição dos dados da pesquisa.

**Autonomia** – É assegurada a assistência durante toda a pesquisa, bem como me garantido o livre acesso a todas as informações e esclarecimentos adicionais sobre o estudo e suas consequências, enfim, tudo que eu queira saber antes, durante e depois



da minha participação. Declaro que fui informado de que posso me recusar a participar do estudo, ou retirar meu consentimento a qualquer momento, sem precisar justificar, e de, por desejar sair da pesquisa, não sofrerei qualquer prejuízo à assistência que venho recebendo.

**Ressarcimento e Indenização** – No entanto, caso ocorra algum dano decorrente da minha participação no estudo, serei devidamente indenizado, conforme determina a lei.  
**Devolutiva dos resultados** – Receberei os resultados obtidos com esta pesquisa através de meu email: \_\_\_\_\_

**Contatos - Pesquisador Responsável:** Lia Karina Volpato

Telefone para contato: (48) 32473366

E-mail para contato: liavolpato.consultorio@gmail.com

**Comitê de Ética** – O Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos (CEP) é composto por um grupo de pessoas que estão trabalhando para garantir que seus direitos como participante sejam respeitados, sempre se pautando das Resoluções 466/12 e 510/16 do CNS. Ele tem a obrigação de avaliar se a pesquisa foi planejada e se está sendo executada de forma ética. Caso você achar que a pesquisa não está sendo realizada da forma como você imaginou ou que está sendo prejudicado de alguma forma, você pode entrar em contato com o Comitê de Ética da UNISUL pelo telefone (48) 3279-1036 entre segunda e sexta-feira das 9 às 17horas ou pelo e-mail [cep.contato@unisul.br](mailto:cep.contato@unisul.br).

**Declaração** – Declaro que li e entendi todas as informações presentes neste Termo e tive a oportunidade de discutir as informações do mesmo. Todas as minhas perguntas foram respondidas e estou satisfeito com as respostas. Entendo que receberei uma via assinada e datada deste documento e que outra via será arquivada por 5 anos pelo pesquisador. Enfim, tendo sido orientado quanto ao teor de todo o aqui mencionado e compreendido a natureza e o objetivo do já referido estudo, eu manifesto meu livre consentimento em participar, estando totalmente ciente de que não há nenhum valor econômico, a receber ou pagar, por minha participação.

\_\_\_\_\_  
 Lia Karina Volpato (Pesquisador responsável)

\_\_\_\_\_  
 Pesquisador que coletou os dados:  
 Nome e Assinatura

Eu, \_\_\_\_\_, abaixo assinado, concordo em participar desse estudo como sujeito. Fui informado(a) e esclarecido(a) pelo pesquisador \_\_\_\_\_ sobre o tema e o objetivo da pesquisa, assim como a maneira como ela será feita e os benefícios e os possíveis riscos decorrentes de minha participação. Recebi a garantia de que posso retirar meu consentimento a qualquer momento, sem que isto me traga qualquer prejuízo.

Nome por extenso: \_\_\_\_\_

RG: \_\_\_\_\_

Local e Data: \_\_\_\_\_

Assinatura: \_\_\_\_\_

## APÊNDICE B – INSTRUMENTO DE COLETAS DE DADOS



PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE  
UNIVERSIDADE DO SUL DE SANTA CATARINA

Numero: \_\_\_\_\_

### Dados maternos

Nome: \_\_\_\_\_

Idade: \_\_\_\_\_ Grupo étnico (raça): \_\_\_\_\_ G \_\_\_\_\_ PN \_\_\_\_\_ PC \_\_\_\_\_ A \_\_\_\_\_

Peso: \_\_\_\_\_ Altura: \_\_\_\_\_

Idade gestacional na admissão: DUM: \_\_\_\_\_ 1º USG ( ) \_\_\_\_\_

Patologias prévias/atuais: \_\_\_\_\_

Medicamentos em uso: \_\_\_\_\_

Uso durante a gravidez: ( ) fumo ( ) bebida alcoólica ( ) drogas ilícitas: \_\_\_\_\_

### Dados da internação:

Dilatação cervical na admissão: \_\_\_\_\_

Trabalho de parto espontâneo na admissão: ( ) Sim ( ) Não

Se não, índice de Bishop na admissão: \_\_\_\_\_

Ruptura de membranas:

( ) Espontâneo ( ) Artificial

( ) Antes do início do trabalho de parto ( ) Depois do início do trabalho de parto

Indução ( ) Sim ( ) não

Misoprostol: \_\_\_\_\_ doses (25 mcg cada)

Uso de ocitocina ( ) Sim ( ) Não

Dose máxima ocitocina: \_\_\_\_\_ ml/h ( ) 5UI ou ( ) 10UI

Analgesia ( ) Sim ( ) Não

Medicamentos utilizados no acompanhamento do TP: \_\_\_\_\_

Tipo de parto: ( ) Vaginal ( ) Cesariana: Indicação \_\_\_\_\_

### Dados do RN:

Peso fetal: \_\_\_\_\_ Sexo: ( ) masculino ( ) feminino APGAR: \_\_\_\_/\_\_\_\_

## ANEXOS

## ANEXO A – PARECER APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA



UNIVERSIDADE DO SUL DE  
SANTA CATARINA - UNISUL



### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

#### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** EXPRESSÃO DA ANEXINA A1 E CITOCINAS INFLAMATÓRIAS NO TRABALHO DE PARTO INDUZIDO

**Pesquisador:** Lia Karina Volpato

**Área Temática:**

**Versão:** 1

**CAAE:** 99567818.0.0000.5369

**Instituição Proponente:** Universidade do Sul de Santa Catarina - UNISUL

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

#### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 2.988.825

#### Apresentação do Projeto:

Projeto de pesquisa para desenvolvimento de Tese de Doutorado vinculado ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde. Da área de Ciências da Saúde, com Propósito Principal Clínico. Com o tema que versa sobre a fisiologia do trabalho de parto envolvendo a resposta inflamatória basal, a expressão da ANXA1 e do receptor FPR2/ALX. Trata-se de um estudo observacional com um desenho transversal com desdobramento de um dos braços da pesquisa em um estudo do tipo coorte. Como participantes do estudo tem-se parturientes atendidas nas maternidades do Hospital Regional de São José, SC. Serão amostradas 170 participantes 85 em cada grupo. Sendo um grupo formado por parturientes de trabalho de parto espontâneo e outro grupo constituído por gestantes de parto induzido. O grupo de parto induzido será subdividido em: grupo com boa resposta à indução do parto e o grupo não responsivo à indução. "Serão gestantes, provenientes dos municípios da região metropolitana de Florianópolis/SC, admitidas para parto, na maternidade do HRSJ/SC, possuindo entre 20 e 45 anos, que concordarem em participar da pesquisa (...) Serão excluídos do estudo as pacientes com gestação complicada por patologias maternas ou fetais ou que tenham feito uso de glicocorticoide ou apresentado alguma infecção durante a gestação, em ambos os grupos. Do grupo de indução do parto, serão excluídas as pacientes encaminhadas para cesariana fora de trabalho de parto sem que todo o protocolo de indução tenha sido empregado." Serão obtidos das participantes dados clínicos e demográficos; sangue periférico (10 ml) no grupo parto espontâneo e uma segunda amostra ainda será necessária no grupo parto induzido; e as

**Endereço:** Avenida Pedra Branca, 25

**Bairro:** Cid.Universitária Pedra Branca

**CEP:** 88.137-270

**UF:** SC

**Município:** PALHOÇA

**Telefone:** (48)3279-1036

**Fax:** (48)3279-1094

**E-mail:** cep.contato@unisul.br



UNIVERSIDADE DO SUL DE  
SANTA CATARINA - UNISUL



Continuação do Parecer: 2.986.825

placentas e membranas amnióticas nos dois grupos. O Laboratório de Neurociências Experimental (LANEX) da Universidade do Sul de Santa Catarina (UNISUL) armazenará e será onde as análises irão ocorrer para determinação dos níveis do mediador ANXA1 e das citocinas IL-1, IL-6, IL-8, IL-10 e TNF- plasmáticas. Os dados serão coletados entre 02/01/2019 30/04/2021.

#### **Objetivo da Pesquisa:**

**Objetivo Primário:** Avaliar resposta inflamatória basal, a expressão da ANXA1 e do receptor FPR2/ALX, dos leucócitos e das citocinas inflamatórias no sangue materno, na placenta e membranas amnióticas, no trabalho de parto induzido.

**Objetivos Secundários:** Determinar e comparar os níveis séricos maternos do mediador ANXA1 e das citocinas IL-1, e IL-6, IL-8, IL-10 e TNF- no grupo com início espontâneo do trabalho de parto e no grupo induzido. • Comparar os níveis séricos maternos do mediador ANXA1 e das citocinas IL-1, IL-6, IL-8, IL-10 e TNF- no grupo induzido, entre as gestantes com boa resposta à indução do trabalho de parto e as não responsivas. • Comparar a resposta inflamatória basal em todos os grupos. • Determinar e comparar a densidade do mediador ANXA1 e do receptor FPR2/ALX na placenta e membranas amnióticas, em todos os grupos. • Definir e comparar os níveis placentários e nas membranas amnióticas das citocinas IL-1, IL-6, IL-8, IL-10 e TNF- em todos os grupos • Realizar avaliação histológica para pesquisa de células inflamatórias como macrófagos, neutrófilos e monócitos na placenta e membranas fetais em todos os grupos. • Correlacionar os níveis séricos iniciais da ANXA1 e das citocinas IL-1, IL-6, IL-8, IL-10 e TNF- com o índice de Bishop, com o tempo de resposta à indução do trabalho de parto e com o tempo de evolução do trabalho de parto, no grupo induzido."

#### **Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

**Riscos:** Mínimos, limitados a desconforto da punção venosa para coleta de dados, com eventual equimose e desconforto pela necessidade de responder questionamento a respeito de aspectos sociodemográficos. **Benefícios:** O benefício será indireto, com aperfeiçoamento do conhecimento dos mecanismos envolvidos no desencadeamento do trabalho de parto fisiológico e possível desenvolvimento de tratamento alternativo tanto para a gestação prolongada quanto para partos prematuros."

#### **Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

A proposta está bem estruturada e apresenta relevância científica.

Endereço: Avenida Pedra Branca, 25  
Bairro: Cid. Universitária Pedra Branca CEP: 88.137-270  
UF: SC Município: PALHOÇA  
Telefone: (48)3279-1036 Fax: (48)3279-1094 E-mail: cep.contato@unisul.br



UNIVERSIDADE DO SUL DE  
SANTA CATARINA - UNISUL



Continuação do Parecer: 2.986.825

#### **Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

Em virtude da forma de preenchimento as informações inseridas no formulário eletrônico (Informações Básicas do Projeto) não estão pouco legíveis, pois os sistema transformou todos os sinais gráficos em texto, favor observar e ajustar. Para exemplificar observem como ficou o objetivo primário:

"Avaliar resposta inflamatória basal, a expressão da ANXA1 e do receptor FPR2/ALX, dos leucócitos e das citocinas inflamatórias no sangue materno, na placenta e membranas amnióticas, no trabalho de parto induzido."

Aos serem identificados os riscos as medidas para eliminar ou reduzir estes devem ser propostas, tal como instrui a Resolução CNS no. 466/12.

Conforme solicitado no item 13.1 da Resolução CNS 441, de 12 de maio de 2011, quando amostra biológica é requerida para a realização da pesquisa urge detalhar em todos os documentos o número de coletas, o volume de cada amostra, quem fará o procedimento e o destino do material após as análises.

No Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) procurem observar que seja possível a compreensão irrestrita do documento preferindo o uso de termo e expressões coloquiais. Compreendo que a imersão no projeto dê aos autores muita clareza, entretanto para uma mulher abordada próximo ao trabalho de parto, com todas as incertezas e expectativas, pode ser difícil compreender. Eu tomei a liberdade de destacar o trecho que penso ser de difícil compreensão. "Acreditamos que ela seja importante pois avaliar essa associação, pode ser útil na elucidação do gatilho para desencadeamento do trabalho de parto fisiológico e possível desenvolvimento de tratamento alternativo tanto para a gestação prolongada quanto para partos prematuros."

#### **Recomendações:**

Sugere-se revisar o sumário e a grafia de algumas palavras no projeto.

#### **Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

De acordo com Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

- (1) Devido à forma de preenchimento as informações inseridas no formulário eletrônico (Informações Básicas do Projeto) não estão pouco legíveis, favor observar e ajustar.
- (2) Aos riscos existentes importa descrever como serão atenuados;
- (3) Sobre os materiais biológicos que serão amostrados descrever na metodologia (do projeto e no formulário de informações básicas sobre o projeto):
  - (3.1) O tempo de armazenamento, o destino final do materiais após o processamento (descarte ou armazenamento).

Endereço: Avenida Pedra Branca, 25  
 Bairro: Cid.Universitária Pedra Branca CEP: 88.137-270  
 UF: SC Município: PALHOÇA  
 Telefone: (48)3279-1036 Fax: (48)3279-1094 E-mail: cep.contato@unisul.br



UNIVERSIDADE DO SUL DE  
SANTA CATARINA - UNISUL



Continuação do Parecer: 2.986.825

**(4) Quanto ao TCLE:**

(4.1) Sobre os materiais biológicos Esclarecer de forma simples, clara e completa, o volume dos materiais que serão coletados, o número de coletas o propósito das coletas (análises que serão realizadas), a instituição para qual serão enviados, o tempo de armazenamento, o destino final do materiais após o processamento (descarte ou armazenamento).

(4.2) Observar a compreensão irrestrita do documento preferindo se expressar de modo mais coloquial e acessível.

**Considerações Finais a critério do CEP:**

O presente protocolo de pesquisa apresenta-se com o parecer pendente, ou seja, quando o CEP considera necessária a revisão do protocolo apresentado para que o mesmo esteja em consonância com a Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

| Tipo Documento                                            | Arquivo                                       | Postagem               | Autor              | Situação |
|-----------------------------------------------------------|-----------------------------------------------|------------------------|--------------------|----------|
| Informações Básicas do Projeto                            | PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1216934.pdf | 26/09/2018<br>23:01:09 |                    | Aceito   |
| Informações Básicas do Projeto                            | PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1216934.pdf | 26/09/2018<br>22:47:51 |                    | Aceito   |
| Declaração de Instituição e Infraestrutura                | declaracao_de_instituicao.pdf                 | 26/09/2018<br>22:37:05 | Lia Karina Volpato | Aceito   |
| Folha de Rosto                                            | folha_de_rosto.pdf                            | 26/09/2018<br>22:35:05 | Lia Karina Volpato | Aceito   |
| Projeto Detalhado / Brochura Investigador                 | Projeto_TP_CEP.pdf                            | 23/09/2018<br>20:42:44 | Lia Karina Volpato | Aceito   |
| Orçamento                                                 | Orcamento_TP.pdf                              | 23/09/2018<br>20:42:19 | Lia Karina Volpato | Aceito   |
| TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência | TCLE_TP.pdf                                   | 23/09/2018<br>20:39:03 | Lia Karina Volpato | Aceito   |
| Cronograma                                                | Cronograma_CEP.pdf                            | 23/09/2018<br>20:37:46 | Lia Karina Volpato | Aceito   |

Endereço: Avenida Pedra Branca, 25  
 Bairro: Cid. Universitária Pedra Branca CEP: 88.137-270  
 UF: SC Município: PALHOÇA  
 Telefone: (48)3279-1036 Fax: (48)3279-1094 E-mail: cep.contato@unisul.br



UNIVERSIDADE DO SUL DE  
SANTA CATARINA - UNISUL



Continuação do Parecer: 2.985.825

**Situação do Parecer:**

Pendente

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

PALHOCA, 29 de Outubro de 2018

---

**Assinado por:**

**Josiane Somariva Prophiro**  
(Coordenador(a))

**Endereço:** Avenida Pedra Branca, 25

**Bairro:** Cid. Universitária Pedra Branca

**CEP:** 88.137-270

**UF:** SC

**Município:** PALHOCA

**Telefone:** (48)3279-1036

**Fax:** (48)3279-1094

**E-mail:** cep.contato@unisul.br

## ANEXO B – PRODUÇÃO CIENTÍFICA PUBLICADA DURANTE O PERÍODO DO DOUTORADO

196 Original Article



### Association between Hormonal Contraception and Injuries Induced by Human Papillomavirus in the Uterine Cervix

#### *Associação entre a contracepção hormonal e lesões induzidas pelo vírus do papiloma humano no colo uterino*

Lia Karina Volpato<sup>1</sup> Isabela Ribeiro Siqueira<sup>1</sup> Rodrigo Dias Nunes<sup>1</sup> Anna Paula Piovezan<sup>1</sup><sup>1</sup> Post-Graduation Program in Health Sciences, Universidade do Sul de Santa Catarina, Palhoça, SC, Brazil

Rev Bras Ginecol Obstet 2018;40:196–202.

Address for correspondence: Lia Karina Volpato, Postgraduate Program in Health Sciences, Universidade do Sul de Santa Catarina (UNISUL), Campus Grande Florianópolis, Av. Pedra Branca, 25, Palhoça, SC, 88137-270, Brazil (e-mail: liakarina@hotmail.com).

#### Abstract

**Objective** To evaluate the association between hormonal contraception and the appearance of human papillomavirus HPV-induced lesions in the uterine cervix of patients assisted at a school outpatient clinic - ObGyn outpatient service of the Universidade do Sul de Santa Catarina.

**Methods** A case-control study, with women in fertile age, performed between 2012 and 2015. A total of 101 patients with cervical lesions secondary to HPV were included in the case group, and 101 patients with normal oncotic colpocytology, in the control group. The data were analyzed through the Statistical Package for the Social Sciences (SPSS, IBM Corp. Armonk, NY, US) software, version 24.0, using the 95% confidence interval. To test the homogeneity of the proportions, the chi-square ( $\chi^2$ ) test was used for the qualitative variables, and the Student t-test, for the quantitative variables.

**Results** When comparing the occurrence of HPV lesions in users and non-users of combined oral contraceptives (COCs), the association with doses of 0.03 mg or higher of ethinylestradiol (EE) was observed. Thus, a higher probability of developing cervical lesions induced by HPV was identified (odds ratio [OR]: 1.9  $p = 0.039$ ); and when these cases were separated by the degree of the lesion, the probability of these patients presenting with low-grade squamous intraepithelial lesion was 2.1 times higher ( $p = 0.036$ ), but with no impact on high-grade squamous intraepithelial lesions and the occurrence of invasive cancer. No significant differences were found in the other variables analyzed.

**Conclusion** Although the results found in the present study suggest a higher probability of the users of combined hormonal contraceptives with a concentration higher than 0.03 mg of EE to develop low-grade intraepithelial lesions, more studies are needed to conclude causality.

#### Keywords

- hormonal contraception
- human papillomavirus
- HPV
- ethinylestradiol

#### Resumo

**Objetivo** Avaliar a associação entre a contracepção hormonal e a presença de lesões induzidas pelo vírus do papiloma humano (HPV) no colo uterino de pacientes do serviço

received  
December 14, 2017  
accepted  
March 8, 2018  
published online  
April 27, 2018

DOI <https://doi.org/10.1055/s-0038-1642603>  
ISSN 0100-7203.

Copyright © 2018 by Thieme Revinter Publicações Ltda, Rio de Janeiro, Brazil

License terms





# A Simple, Reproducible and Low-cost Simulator for Teaching Surgical Techniques to Repair Obstetric Anal Sphincter Injuries

## *Um Simulador simples, reproduzível e de baixo custo para o ensino de técnicas cirúrgicas para reparar lesões obstétricas do esfíncter anal*

Roxana Knobel<sup>1</sup> Lia Karina Volpato<sup>1</sup> Liliam Cristini Gervasi<sup>1</sup> Raquel de Almeida Viergutz<sup>1</sup>  
Alberto Trapani Júnior<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Department of Gynecology and Obstetrics, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC, Brazil

Rev Bras Ginecol Obstet 2018;40:465–470.

Address for correspondence: Roxana Knobel, PhD, Departamento de Ginecologia e Obstetrícia, Universidade Federal de Santa Catarina, Campus Universitário, S/N, Florianópolis, SC, 88036-800, Brazil (e-mail: rknobel@gmail.com).

### Abstract

**Objective** To describe and evaluate the use of a simple, low-cost, and reproducible simulator for teaching the repair of obstetric anal sphincter injuries (OASIS).

**Methods** Twenty resident doctors in obstetrics and gynecology and four obstetricians participated in the simulation. A fourth-degree tear model was created using low-cost materials (condom simulating the rectal mucosa, cotton tissue simulating the internal anal sphincter, and bovine meat simulating the external anal sphincter). The simulator was initially assembled with the aid of anatomical photos to study the anatomy and meaning of each component of the model. The laceration was created and repaired, using end-to-end or overlapping application techniques.

**Results** The model cost less than R\$ 10.00 and was assembled without difficulty, which improved the knowledge of the participants of anatomy and physiology. The sutures of the layers (rectal mucosa, internal sphincter, and external sphincter) were performed in keeping with the surgical technique. All participants were satisfied with the simulation and felt it improved their knowledge and skills. Between 3 and 6 months after the training, 7 participants witnessed severe lacerations in their practice and reported that the simulation was useful for surgical correction.

**Conclusion** The use of a simulator for repair training in OASIS is affordable (low-cost and easy to perform). The simulation seems to improve the knowledge and surgical skills necessary to repair severe lacerations. Further systematized studies should be performed for evaluation.

### Keywords

- natural childbirth
- suture techniques
- anal sphincter/ injuries
- simulation training

### Resumo

**Objetivo** Descrever e avaliar a utilização de um simulador simples, de baixo custo e reprodutível para o ensino de sutura de lacerações perineais de 4º grau.

received  
February 16, 2018  
accepted  
May 28, 2018

DOI <https://doi.org/10.1055/s-0038-1668527>  
ISSN 0100-7203

Copyright © 2018 by Thieme Revinter  
Publicações Ltda, Rio de Janeiro, Brazil

License terms





Contents lists available at ScienceDirect

Journal of Reproductive Immunology

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/jri](http://www.elsevier.com/locate/jri)

## Annexin A1, FPR2/ALX, and inflammatory cytokine expression in peritoneal endometriosis

Lia Karina Volpato<sup>a</sup>, Verônica Vargas Horewicz, Franciane Bobinski, Daniel Fernandes Martins, Anna Paula Piovezan<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Postgraduate Program in Health Sciences, University of Southern Santa Catarina (UNISUL), Campus Grande Florianópolis, Avenida Pedra Branca, 25, Palhoça, SC, CEP 88137-270 Brazil

### ARTICLE INFO

**Keywords:**  
Endometriosis  
ANXA1  
FPR2/ALX  
IL-6  
Peritoneum  
Annexin A1

### ABSTRACT

To characterize Annexin A1 (ANXA1), FPR2/ALX and cytokines expression in peritoneal endometriosis and to clarify their role in its etiology, a cross-sectional study was performed with forty women in reproductive age (22 patients with endometriosis and 18 control women) that had undergone laparoscopic surgery. Peritoneal biopsy and fluid aspirations from endometriosis and control samples were analyzed for the expression of ANXA1, FPR2/ALX and cytokines. ANXA1 and FPR2 / ALX levels were measured by Western blotting and interleukin 18 (IL-18), interleukin 4 (IL-4), interleukin 6 (IL-6), and interleukin 10 (IL-10) levels were quantified by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The present study identified the presence in human peritoneal tissue of ANXA1 and FPR2 / ALX both in healthy condition and in women with peritoneal endometriosis, however, was lower in endometriosis samples than in control samples. By quantifying the IL-6 and IL-18 cytokines in the peritoneal fluid by ELISA, this study identified a higher IL-6 concentration in endometriosis group, but no significant difference in IL-18 levels. The IL-4 and IL-10 levels could not be detected.

These results indicate that the reduction of the inflammatory resolution mediators could be responsible for the inflammatory process perpetuation, maintenance and worsening of endometriosis.

### 1. Introduction

Endometriosis is characterized by the presence of glandular epithelium and/or endometrial stromal extrauterine implants (Vercellini et al., 2007) and affects about 10% of the female population during their reproductive years (Fuldeore and Soliman, 2016), and its symptoms are responsible for work-related absences, as well as impacting quality of life (Oliveira et al., 2015).

The origin of endometriosis remains obscure. The Sampson's theory is the most widely accepted and suggests that implantation of endometrial cells comes from menstrual blood reflux through tubes into the peritoneal cavity (Batt, 2011). Complementing this theory, currently, it is believed that immunological and hormonal factors influence the peritoneal environment and prevent the elimination of these cells (Miller et al., 2017). Recently, several studies have been conducted which demonstrated that many immune cells have altered their

activities in women with endometriosis, suggesting that immunological factors are involved in endometriosis pathogenesis (Miller et al., 2017).

In addition, current research links endometriosis to an inflammatory process (Monsanto et al., 2016). It is believed that there is a change in tissue homeostasis, allowing greater viability of desquamated endometrial cells during menstruation caused by the reduction of apoptosis processes (Kralickova and Vetricka, 2015).

It is suggested that menstrual reflux in women with endometriosis may include factors such as inflammatory cytokines that induce changes in peritoneal mesothelium, allowing endometrial cell adhesion to the peritoneum (Rakhila et al., 2016; Jorgensen et al., 2017; Wu et al., 2017). After adhesion, there is proliferation and invasion of cells in the peritoneum, which causes lesions and adherence between organs and results in anatomical distortion and, consequently, pain (Aich et al., 2015).

The inflammatory resolution process is very strong and depends on

**Abbreviations:** ANXA1, Annexin A1; ERK1/2, Extracellular signal-regulated kinases 1/2; FPR2/ALX, Formyl peptide receptor 2/ aspirin-triggered lipoxin; LPA, Phospholipid lysophosphatidic acid; PMN, Polymorphonuclear neutrophils; TEMED, Tetramethylethylenediamine

<sup>a</sup> Corresponding authors at: Programa de Pós Graduação em Ciências da Saúde, UNISUL, Campus Grande Florianópolis, Avenida Pedra Branca, 25, Palhoça, SC, CEP 88137-270 Brazil.

E-mail addresses: [lia.volpato@unisul.br](mailto:lia.volpato@unisul.br) (L.K. Volpato), [vhorewicz@hotmail.com](mailto:vhorewicz@hotmail.com) (V.V. Horewicz), [franciane.bobinski@unisul.br](mailto:franciane.bobinski@unisul.br) (F. Bobinski), [daniel.martins4@unisul.br](mailto:daniel.martins4@unisul.br) (D.F. Martins), [anna.piovezan@unisul.br](mailto:anna.piovezan@unisul.br) (A.P. Piovezan).

<https://doi.org/10.1016/j.jri.2018.08.002>

Received 20 March 2018; Received in revised form 28 June 2018; Accepted 2 August 2018  
0165-0378/ © 2018 Elsevier B.V. All rights reserved.



## Transcultural adaptation and validation of the Tilburg Pregnancy Distress Scale (TPDS) in the Brazilian cultural context

Lia Karina Volpato<sup>a,b,\*</sup>, Debora Cristina Siqueira<sup>a</sup>, Rodrigo Dias Nunes<sup>a,b</sup>, João Ghizzo Filho<sup>b</sup>, Jefferson Traebert<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Regional Hospital Dr. Homero de Miranda Gomes, R. Domingos Filomeno 99, CEP: 88103-430 São João, Santa Catarina, Brazil

<sup>b</sup> Postgraduate Program in Health Sciences, Southern University of Santa Catarina (PPGCS-UNISUL), Av. Pedro Branca, 25, CEP: 88137-270, Palhoça, Santa Catarina, Brazil

### ARTICLE INFO

#### Article history:

Received 20 January 2019

Revised 24 April 2019

Accepted 28 April 2019

#### Keywords:

Questionnaires

Validation studies

Psychometrics

Distress

Pregnancy

### ABSTRACT

**Objective** The purpose of this study was to perform the translation, cross-cultural adaptation and validation of the Tilburg Pregnancy Distress Scale (TPDS) in the Brazilian cultural context and to verify its psychometric properties.

**Design** Cross-cultural adaptation and validation of a distress scale.

**Setting** The study was carried out in a prenatal clinic of a reference maternity hospital in southern Brazil.

**Participants** 160 childbearing women.

**Methods** The adaptation of the TPDS to the Portuguese language in its Brazilian version met the methodological criteria proposed by the International Society for Pharmacoeconomics and Outcomes Research. To validate the proposed Brazilian version, the questionnaire was applied to 160 childbearing women from the prenatal clinic of a reference maternity hospital in southern Brazil on two occasions between February and May 2018. The stability of the instrument, its internal consistency through Cronbach's alpha and the construct validity were all evaluated through exploratory factorial analysis. The extraction of main components by rotation of Varimax enabled definition of the communalities of the items of the proposed Brazilian version. The study was approved by the local Ethics Committee.

**Findings** The test-retest technique demonstrated strong stability, with a Pearson correlation coefficient of 0.93 ( $p < 0.001$ ) and an intraclass correlation coefficient of 0.92 ( $p < 0.001$ ). The general Cronbach's alpha was found to be 0.73. All items presented a factorial load  $> 0.44$  populations in the factorial analysis. Through the method of extracting components, three domains were obtained among the 16 issues of the proposed tool: (1) affection and involvement of the partner, (2) feelings about childbirth and (3) feelings about the future.

**Key Conclusions** The proposed Brazilian version of the Tilburg Pregnancy Distress Scale to evaluate stress and anxiety in pregnancy maintained the original context of the instrument while adding features specific to Brazilian reality.

**Implications for Practice** This is an easily understood scale that is reliable, valid and adequate to the Brazilian social context; it will aid in the assessment of anxiety and stress in childbearing women during prenatal care.

© 2019 Elsevier Ltd. All rights reserved.

### Introduction

The gestational period is full of expectations and brings with it many physical and emotional changes, so the childbearing woman

is in a position to face several challenges (Gourounti et al., 2012). As a result, there is greater vulnerability to the presentation and development of mental disorders such as stress, anxiety and depression (Smith et al., 2011). Non-psychotic mental disorders occur more frequently in childbearing women than in the general population. In addition, pregnancy is plagued by fears and concerns that may represent a specific type of emotional response in women (Huizink et al., 2004). Most studies seek to differentiate the state of anxiety in gestation from the anxiety trait that is a characteristic of

\* Corresponding author at: PPGCS Campus Grande Florianópolis, Avenida Av. Pedro Branca, 25, CEP: 88137-270, Palhoça, Santa Catarina, Brazil.

E-mail addresses: [liakarina@hotmail.com](mailto:liakarina@hotmail.com), [lia.volpato@unisul.br](mailto:lia.volpato@unisul.br) (L.K. Volpato), [joao.ghizzo@unisul.br](mailto:joao.ghizzo@unisul.br) (J. Ghizzo Filho), [jefferson.traebert@unisul.br](mailto:jefferson.traebert@unisul.br) (J. Traebert).

<https://doi.org/10.1016/j.midw.2019.04.012>

0266-6138/© 2019 Elsevier Ltd. All rights reserved.



## Review

# The Inflammatory Role of Pro-Resolving Mediators in Endometriosis: An Integrative Review

Cássia de Fávéri<sup>1</sup>, Paula M. Poeta Fermino<sup>2</sup>, Anna P. Piovezan<sup>3</sup> and Lia K. Volpato<sup>3,4,\*</sup>

<sup>1</sup> Medical Residency Program in Gynecology and Obstetric, Hospital Regional Dr. Homero Miranda Gomes, São José 88103-901, Brazil; cassia\_faveri@hotmail.com

<sup>2</sup> Department Curso de Medicina, Campus Pedra Branca, Undergraduate Medical School, Universidade Sul de Santa Catarina—UNISUL, Palhoça 88137-272, Brazil; paulampf@icloud.com

<sup>3</sup> Postgraduate Studies in Health Science Program, Universidade do Sul de Santa Catarina—UNISUL, Palhoça 88137-272, Brazil; Anna.Piovezan@unisul.br

<sup>4</sup> Gynecology and Obstetric Department, Hospital Regional Dr. Homero Miranda Gomes, São José 88103-901, Brazil

\* Correspondence: llakarina@hotmail.com



**Citation:** de Fávéri, C.; Fermino, P.M.P.; Piovezan, A.P.; Volpato, L.K. The Inflammatory Role of Pro-Resolving Mediators in Endometriosis: An Integrative Review. *Int. J. Mol. Sci.* **2021**, *22*, 4370. <https://doi.org/10.3390/ijms22094370>

Academic Editor: Antonio Simone Laganà

Received: 31 March 2021

Accepted: 19 April 2021

Published: 22 April 2021

**Publisher's Note:** MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



**Copyright:** © 2021 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

**Abstract:** The pathogenesis of endometriosis is still controversial, although it is known that the inflammatory immune response plays a critical role in this process. The resolution of inflammation is an active process where the activation of endogenous factors allows the host tissue to maintain homeostasis. The mechanisms by which pro-resolving mediators (PRM) act in endometriosis are still little explored. Thus, this integrative review aims to synthesize the available content regarding the role of PRM in endometriosis. Experimental and in vitro studies with Lipoxin A4 demonstrate a potential inhibitory effect on endometrial lesions' progression, attenuating pro-inflammatory and angiogenic signals, inhibiting proliferative and invasive action suppressing intracellular signaling induced by cytokines and estradiol, mainly through the FPR2/ALX. Investigations with Resolvin D1 demonstrated the inhibition of endometrial lesions and decreased pro-inflammatory factors. Annexin A1 is expressed in the endometrium and is specifically present in women with endometriosis, although the available studies are still inconsistent. Thus, we believe there is a gap in knowledge regarding the PRM pathways in patients with endometriosis. It is important to note that these substances' therapeutic potential is evident since the immune and abnormal inflammatory responses play an essential role in endometriosis development and progression.

**Keywords:** endometriosis; inflammation mediators; annexin A1; Lipoxin A4; receptors; Lipoxin; Resolvin; review

## 1. Introduction

Endometriosis is a chronic, inflammatory and estrogen-dependent disease characterized by endometrial tissue outside the uterine cavity. It affects approximately 10% of women of reproductive age and is associated with chronic pelvic pain and infertility [1]. The pathophysiology of endometriosis is controversial. Sampson's (1927) retrograde menstruation theory is still the most accepted, describing that the reflux of endometrial fragments would allow the implantation of these cells outside the uterus, especially in the pelvic cavity [2]. However, genetic, neuronal, hormonal and immunological variations may facilitate the adhesion and development of endometrial implants [3].

It is known that 17- $\beta$ -estradiol (E2) plays a strong influence on the development and progression of endometriosis, acting via estrogen receptors (ER) that are abundant in reproductive tissues, in addition to activating several intracellular signaling cascades in the inflammatory process [4].

Several studies demonstrate that the immune response plays an essential role in the genesis of endometriosis. Many active immune cells, especially peritoneal macrophages,

ORIGINAL ARTICLE

Open Access



# The development and psychometric validation of a low-cost anthropomorphic 3D-printout simulator for training basic skills applicable to office-based hysteroscopy

Ana Rita Peixoto Panazzolo<sup>1,2\*</sup>, Leisa Beatriz Grando<sup>1</sup>, Lia Karina Volpato<sup>1,3</sup> and Getúlio R. de Oliveira Filho<sup>4</sup>

## Abstract

**Background:** Hysteroscopy training requires the development of specific psychomotor skills. Few validated low-cost models exist in hysteroscopy. The main objective of this study is to determine face, content, and construct validity of a simulator designed for training basic hysteroscopy skills applied to office-based hysteroscopy.

**Methods:** Twenty-five hysteroscopy experts and 30 gynecology residents participated in this prospective observational study. The simulator consisted of three color-textured, silicone-coated anthropomorphic 3-dimensional (3-D) printout uterine models inside a box. Each uterine model in the simulator was designed to develop one of the following basic hysteroscopic skills: hysteroscopic navigation, direct biopsy, and foreign body removal. Participants performed five video-recorded simulation attempts on each model. Procedure-specific checklists were used to rate performance.

**Results:** Median scores (25th–75th percentiles; p-value) 4 (3–4;  $p < 0.001$ ) and surgical experience associated to the simulated procedures 4 (3–4;  $p < 0.001$ ) indicated positive perceptions as to the realism of the internal cavity of the simulator. Median scores of 4 (3–4;  $p < 0.001$ ) were assigned to the realism and utility of the tasks performed in the simulator for enhancing novice training in hysteroscopy. Expert performance scores were significantly higher and task completion times were significantly lower than those of novices in the navigation exercise ( $F_{(1,53)} = 56.66$ ;  $p < 0.001$ ), the directed biopsy exercise ( $F_{(1,53)} = 22.45$ ;  $p < 0.001$ ), and the foreign body removal exercise ( $F_{(1,53)} = 58.51$ ;  $p < 0.001$ ). Novices' performance improved on all three exercises: navigation exercise ( $F_{(1,53)} = 182.44$ ;  $p < 0.001$ ), directed endometrial biopsy ( $F_{(1,53)} = 110.53$ ;  $p < 0.001$ ), and foreign body removal ( $F_{(1,53)} = 58.62$ ;  $p < 0.001$ ). Experts' task completion times were significantly lower when compared to that of novices in the five attempts ( $p < 0.001$ ) of the exercises: navigation ( $F_{(1,40)} = 25.46$ ;  $p < 0.001$ ), directed biopsy ( $F_{(1,40)} = 31.20$ ;  $p < 0.001$ ), and foreign body removal ( $F_{(1,50)} = 69.8$ ;  $p < 0.001$ ). Novices' task completion times diminished significantly throughout the sequence of exercises.

**Conclusions:** The low-cost simulator designed for the acquisition of basic skills in hysteroscopy demonstrated face, content, and construct validity.

**Keywords:** Hysteroscopy, Office-based hysteroscopy, Printing, 3-Dimensional, Simulation training, Validation studies

\* Correspondence: [anarippanazz@hotmail.com](mailto:anarippanazz@hotmail.com)

<sup>1</sup>Departments of Gynecology & Obstetrics, Federal University of Santa Catarina, Florianópolis, SC, Brazil

<sup>2</sup>Florianópolis, Brazil

Full list of author information is available at the end of the article



© The Author(s). 2021 Open Access This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons license, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons license, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons license and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this license, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.



**Avaliação da atividade anti-hiperalgésica do extrato bruto de  
*Casearia sylvestris* Sw. em modelo animal de endometriose**

**Evaluation of the anti-hyperalgesic activity of the *Casearia sylvestris*  
Sw. crude extract in an animal model of endometriosis**

DOI:10.34117/bjdv7n5-324

Recebimento dos originais: 07/04/2021

Aceitação para publicação: 14/05/2021

**Lia Karina Volpato**

Mestrado - Programa de pós-graduação em ciências da saúde – Universidade do  
Sul de Santa Catarina (UNISUL)/Brasil - Campus Grande Florianópolis

Endereço: Avenida Pedra Branca, 25, Palhoça, SC, Brasil CEP 88137-270

\*Autor correspondente

E-mail:Liakarina@hotmail.com

**Deborah Martins Costa**

Acadêmica - Graduação em Medicina – UNISUL/Brasil - Campus Grande  
Florianópolis

Endereço: Avenida Pedra Branca, 25, Palhoça, SC, Brasil CEP 88137-270

E-mail:deborahmartinscosta@gmail.com

**Thais Walber**

Acadêmica - Graduação em Medicina – UNISUL/Brasil - Campus Grande  
Florianópolis

Endereço: Avenida Pedra Branca, 25, Palhoça, SC, Brasil CEP 88137-270

E-mail:thaiswalber@gmail.com

**Ana Caroline Heymann**

Mestrado - Programa de pós-graduação em ciências da saúde – Universidade do  
Sul de Santa Catarina (UNISUL)/Brasil - Campus Grande Florianópolis

Endereço: Avenida Pedra Branca, 25, Palhoça, SC, Brasil CEP 88137-270

E-mail:nutriheymanns@gmail.com

**Leidiane Mazzardo-Martins**

Doutorado - Programa de pós-graduação em neurociências, Centro de Ciências  
Biológicas – Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC)/ Brasil.

Campus Universitário, s/n, Sala 208, Bloco E, Prédio Administrativo, Córrego  
Grande, Florianópolis, SC, Brasil CEP 88040-900

E-mail: leidiane2001@yahoo.com.br

**Rachel Faverzani Magnago**

Doutorado - Programa de pós-graduação em ciências ambientais -  
UNISUL/Brasil - Campus Grande Florianópolis

Endereço: Avenida Pedra Branca, 25, Palhoça, SC, Brasil CEP 88137-270

E-mail: rachel.magnago@unisul.br



**Anna Paula Piovezan**

Doutorado - Laboratório de Neurociência Experimental (LANEX) –  
UNISUL/Brazil - Campus Grande Florianópolis  
Endereço: Avenida Pedra Branca, 25, Palhoça, SC, Brasil CEP 88137-270  
E-mail:anna.piovezan@unisul.br

## ABSTRACT

**Ethnopharmacological relevance** *Casearia sylvestris* Sw. is widely used in popular medicine to treat inflammatory disorders based on the folk use and some literature about efficacy. **Aim of the study** This study evaluates the anti-hyperalgesic activity of the hydroalcoholic crude extract of *Casearia sylvestris* (HCE-CS) in an endometriosis animal model. **Methods and results** Sixteen female Swiss mice of endometriosis (ENDO) group were randomized into two groups after the implantation and establishment of heterologous endometrium onto the peritoneum abdominal wall and treated with HCE-CS 30 mg/kg or vehicle via gastric tube. The sham group consisted of eight female Swiss mice. The Von Frey test's behavioral evaluation to evaluate the levels of response to the mechanical nociceptive stimulus was performed before the surgery, before the treatment, and 30 min, 1h, 2h, and 3h after the administration of the extracts. A significant reduction of hyperalgesia was observed in the group treated with HCE-CS compared with the ENDO group without treatment, between 30 min and 3h after the administration of the extract. The highest response was observed in the 1h period after the administration of the medication. The anti-hyperalgesic effect was reproduced on the second day of treatment. **Conclusion** The results of this study demonstrate the anti-hyperalgesic potential of HCE-CS, justifying interest in conducting other studies that evaluate the direct effect of this plant on endometriosis lesions and the mechanisms involved in the relief of pain.

**Key words:** *Casearia sylvestris* Sw., Salicaceae, Endometriosis, Anti-hyperalgesic.

## RESUMO

**Relevância etnofarmacológica:** A *Casearia sylvestris* Sw. é amplamente utilizada na medicina popular para tratar doenças inflamatórias, com base no conhecimento popular e em alguma literatura sobre eficácia. **Objetivo do estudo:** Este estudo avalia a atividade anti-hiperalgésica do extrato bruto hidroalcoólico de *Casearia sylvestris* Sw. (HCE-CS) em um modelo animal de endometriose. **Métodos e resultados:** Dezesesseis camundongos suíços fêmeas do grupo de endometriose (ENDO) foram randomizados em dois grupos após a implantação e estabelecimento de endométrio heterólogo na parede peritoneal e tratados com HCE-CS 30 mg/kg ou veículo via sonda gástrica. A avaliação comportamental pelo teste de Von Frey para avaliar os níveis de resposta ao estímulo nociceptivo mecânico foi realizada antes da cirurgia, antes do tratamento e 30 min, 1h, 2h e 3h após a administração dos extratos. Foi observada redução significativa da hiperalgisia no grupo tratado com HCE-CS em comparação ao grupo ENDO sem tratamento, entre 30 min e 3h após a administração do extrato. A maior resposta foi observada no período de 1h após a administração do medicamento. O efeito anti-hiperalgésico foi reproduzido no segundo dia de tratamento. **Conclusão:** Os resultados deste estudo demonstram o potencial anti-hiperalgésico do HCE-CS, justificando o interesse em realizar outros estudos que avaliem o efeito direto dessa planta nas lesões de endometriose e nos mecanismos envolvidos no alívio da dor.

**Palavras-chave:** *Casearia sylvestris* Sw., Salicácea, Endometriose, Anti-hiperalgesia.