



**FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE COIMBRA**

**MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA – TRABALHO FINAL**

**JOÃO RODRIGO SOARES GONÇALVES**

***O papel da interação vírica entre o Epstein-Barr e outros  
agentes infecciosos na carcinogénese humana***

PROJETO DE REVISÃO

ÁREA CIENTÍFICA DE INFECIOLOGIA

Trabalho realizado sob a orientação de:

PROFESSOR DOUTOR VÍTOR MANUEL JORGE DUQUE

DR. LUÍS TRINDADE

MARÇO / 2021

# O papel da interação vírica entre o *Epstein-Barr* e outros agentes infecciosos na carcinogénese humana

## **Autores:**

João Rodrigo Soares Gonçalves

- Afiliação: Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra;
- E-mail: joaorodrigo.sg@gmail.com

Professor Doutor Vítor Manuel Jorge Duque

- Afiliação:
  - Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra;
  - Hospitais da Universidade de Coimbra;
- E-mail: duque.vitor@gmail.com

Dr. Luís Trindade

- Afiliação: Hospitais da Universidade de Coimbra;
- E-mail: luistrindade@chuc.min-saude.pt

# Índice

	<i>Página</i>
Resumo .....	6
<i>Abstract</i> .....	8
Introdução.....	9
Características e comportamento do vírus <i>Epstein-Barr</i> .....	11
EBV e <i>Plasmodium falciparum</i> .....	13
No linfoma de <i>Burkitt</i> endêmico .....	13
Influência nas células T.....	14
Influência nas células B.....	15
EBV e Vírus do Papiloma Humano.....	17
EBV e VPH no carcinoma da nasofaringe .....	18
EBV e VPH no cancro cervical.....	18
EBV e VPH no cancro da mama.....	19
EBV e o Vírus da Imunodeficiência Humana (VIH) .....	21
Conclusão .....	23
Agradecimentos.....	24
Referências bibliográficas .....	25

## Índice de Figuras

	<i>Página</i>
Figura 1 – Representação diagramática das interações entre vírus e células, e das respostas TCD8+ induzidas pelo vírus.....	11
Figura 2 – Cronologia de malária por <i>P. falciparum</i> e infecções por EBV em relação à incidência de linfoma de <i>Burkitt</i> endêmico.....	14
Tabela 1 – Linfomas em doentes com VIH: infecção por outros agentes virais e anormalidades genéticas. ....	21

Esta tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor na data da sua publicação:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver).

Abreviaturas dos títulos das revistas científicas de acordo com a *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

## Resumo

**Introdução:** O vírus *Epstein-Barr* (EBV) é um vírus linfotrópico ubiquitário que persiste de forma latente após uma infecção primária. Tal como outros herpesvírus, apresenta tropismo para os linfócitos que, após a infecção, podem sofrer proliferação sustentada ou, eventualmente, imortalização e transformação maligna. Reconhecidamente relacionado com vários processos neoplásicos, como o linfoma de Burkitt endêmico, carcinoma nasofaríngeo e linfoma de células B, a reativação lítica está relacionada com proteínas de “*switch*” – proteínas de transdução de sinal, que são ativadas pelos produtos virais em condições geralmente relacionadas com défices imunitários. Mais recentemente, interações entre este vírus e outros agentes infecciosos têm sido apontadas como evento desencadeante para o desenvolvimento de neoplasias específicas, nomeadamente com o *Plasmodium falciparum* e o linfoma de *Burkitt* endêmico, o vírus do papiloma humano e o carcinoma anal, o VIH e o linfoma primário do sistema nervoso central (SNC), num mecanismo de cooperação na carcinogénese humana.

**Objetivo:** Com este trabalho pretende-se fazer uma revisão da literatura sobre este tema, descrever as características microbiológicas do vírus, o seu comportamento intracelular em humanos e as alterações por ele induzidas, a sua capacidade de escape imunológico, tentando compreender os mecanismos de cooperação com outros agentes que conduzem à carcinogénese.

**Material e Métodos:** A bibliografia utilizada para a realização deste artigo de revisão foi retirada da base de dados online da PUBMED disponível em [www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/), utilizando como palavras-chave as seguintes: *Epstein-Barr*, *Plasmodium falciparum*, HPV, VIH, *coinfection*, *carcinogenesis*.

**Conclusão:** Embora vários estudos já tenham sido realizados em inúmeras populações, e apesar de haver alguns resultados que nos levam a acreditar que a coinfeção entre o EBV e outros vírus tem a capacidade de promover a carcinogênese em vários tecidos, nenhum foi conclusivo o suficiente para ser considerado como evidência concreta. Mais estudos são necessários, com populações maiores, de forma a traduzir as suas descobertas para a escala global.

**Palavras-Chave:** Vírus *Epstein-Barr*; Herpesvírus; vírus linfotrópico; oncogênese; cooperação carcinogénica; *Plasmodium falciparum*; VIH; Papiloma vírus humano

## ***Abstract***

**Introduction:** Epstein-Barr virus (EBV) is a ubiquitous lymphotropic virus that latently persists after a primary infection. Like other herpesviruses, it exhibits tropism for lymphocytes which, after infection, may undergo sustained proliferation or, eventually, immortalization and malignant transformation. Admittedly related to various neoplastic processes, such as endemic Burkitt's lymphoma, nasopharyngeal carcinoma and B-cell lymphoma, lytic reactivation is related to switch proteins that are activated by viral products under conditions usually related to immune deficits. More recently, interactions between this virus and other infectious agents have been identified as a triggering event for the development of specific neoplasms, namely with *Plasmodium falciparum* and endemic Burkitt lymphoma, human papilloma virus and anal carcinoma, HIV and primary central nervous system (CNS) lymphoma, in a mechanism of cooperation in human carcinogenesis.

**Objectives:** This work intends to review the literature on this topic, describe the microbiological characteristics of the virus, its intracellular behavior in humans and the changes induced by it, its immune escape ability, trying to understand the mechanisms of cooperation with other agents leading to carcinogenesis.

**Methodology:** The bibliography present in this dissertation was found on the PUBMED database, available on [www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/). The following keywords were used: Epstein-Barr, *Plasmodium falciparum*, HPV, VIH, coinfection, carcinogenesis.

**Conclusion:** Although several studies were performed already on a multitude of populations, and though there were some results that leads us to believe that the coinfection between EBV and other viruses have the means to promote carcinogenesis in various tissues, none were conclusive enough to be considered as concrete evidence. More studies are needed, with larger populations, to be able to translate their findings to a larger scale.

**Keywords:** Epstein-Barr virus; Herpesvirus; lymphotropic virus; oncogenesis; carcinogenic cooperation; *Plasmodium falciparum*; HIV; Human papilloma virus.



## Introdução

O vírus *Epstein-Barr* (EBV) é um dos oito herpesvírus humanos conhecidos, agentes geneticamente estáveis com um grande genoma de dupla cadeia ADN e que evoluíram lentamente com a nossa espécie durante milhões de anos. Em cada caso, vírus e hospedeiro atingiram um equilíbrio fino, permitindo a sua coexistência. Após a transmissão para um hospedeiro, o vírus inicialmente amplifica a carga viral através de uma infecção replicativa (lítica) num tipo permissivo de célula, persistindo para a resto da vida do hospedeiro, de forma latente e assintomática num segundo tipo de célula, com reativações ocasionais em ciclo lítico, produzindo viriões transmissíveis a novos hospedeiros. Para manter este equilíbrio frágil é crítico que o hospedeiro seja capaz de montar uma resposta imunológica adequada à infecção. Assim, a maioria das doenças associadas aos herpesvírus envolvem situações em que as respostas dos hospedeiros são seriamente comprometidas, como por exemplo por fármacos supressores de células T.

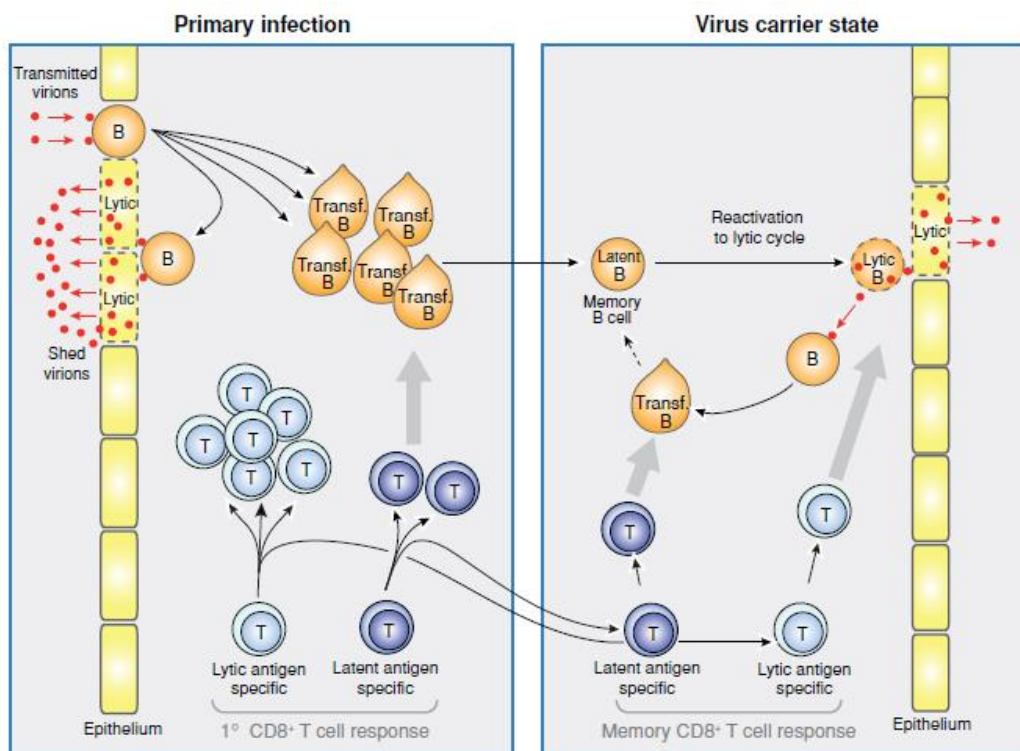
Para todos os herpesvírus, o ciclo lítico do vírus envolve a expressão sequencial de proteínas precoces (tipicamente transativadoras de expressão génica viral precoce), proteínas intermediárias (incluindo componentes essenciais do complexo de replicação do DNA viral) e proteínas tardias (muitas das quais têm função estrutural para o virião). Em contraste, há diferenças entre as subfamílias de herpesvírus em relação à forma como desenvolvem a latência. Embora os vírus alfa e beta normalmente estabelecem latência por invasão de um tipo de célula específico e imediatamente eliminam toda a expressão antigénica, os vírus gama contêm um conjunto de genes codificadores de proteínas que se ativam no ciclo latente e parecem cruciais para o estabelecimento deste estado. A expressão desses genes está associada a uma fase de proliferação celular que serve para amplificar o conjunto de células infetadas de forma latente, após a qual a expressão é suprimida para dar lugar a uma reserva estável de células com positividade para o genoma viral, mas antigénico-negativas.

Os vírus gama são divididos em dois tipos, gama-1 e gama-2, com diferentes conjuntos de genes do ciclo latente e diferentes estratégias moleculares para a indução da proliferação celular latente. O KSHV (Herpesvírus associado ao

sarcoma de *Kaposi*) e o seu parente MHV-68 são vírus gama-2 clássicos. Estes estabelecem latência nas células B, mas não têm capacidade para impulsionar a sua replicação independente. Em contraste, os vírus gama-1, como é o caso do EBV, adquiriram a capacidade de impulsionarem diretamente o crescimento destas células B, através de um conjunto de genes latentes.

## Características e comportamento do vírus *Epstein-Barr*

O EBV está disseminado em todas as populações humanas. A infecção primária ocorre por contacto com saliva infetada durante a infância e é normalmente assintomática. Nos países desenvolvidos, no entanto, a infecção primária pode ocorrer até à segunda década de vida manifestando-se, em 25% dos casos, sob a forma de mononucleose infecciosa (MI) [1]. Esta é uma infecção aguda e autolimitada caracterizada clinicamente por febre, odinofagia e linfadenopatia, e hematologicamente pela presença de uma grande quantidade de linfoblastos atípicos, principalmente com origem em linfócitos TCD8+.



**Figura 1 – Representação diagramática das interações entre vírus e células, e das respostas TCD8+ induzidas pelo vírus. Setas vermelhas representam a transmissão do vírus; setas negras representam movimentos celulares.**

Retirado de *Cellular Responses to Viral Infection in Humans: Lessons from Epstein-Barr Virus*.

A partir da transmissão oral, o EBV replica-se num tipo de célula permissivo na orofaringe, provavelmente uma célula epitelial [2]. Esta infecção lítica leva a que grandes quantidades do agente vírico sejam depositadas nesta região [3]. Ao mesmo tempo, o vírus infeta as células B da mucosa e inicia o processo de infecção latente, levando à expansão de células da linha linfoblastóide nos tecidos linfóides na região

tonsilar e orofaríngea e ao surgimento de uma grande quantidade de células infectadas (na MI aguda, até 1-10% das células B no sangue podem estar infectadas). Embora a maioria destas células proliferativas sejam removidas pela resposta imune, algumas sobrevivem através do cessar de expressão antigénica e entram num estado latente no interior das células B de memória. Estas células mantêm a função normal e, portanto, estão sujeitas às mesmas condições das restantes células B de memória. Isto significa que alguns eventos fisiológicos, como a estimulação antigénica, podem levar a ocasionais reativações para o ciclo lítico, levando a novas infeções de células B localmente residentes. Estes eventos estão representados na **figura 1**.

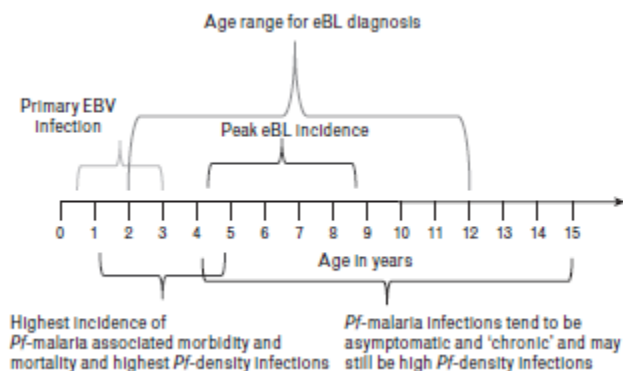
## **EBV e *Plasmodium falciparum***

### **No linfoma de *Burkitt* endêmico**

*Moormann, Snider e Chelimo* fazem um estudo intensivo de como a interação entre o EBV e o *Plasmodium falciparum* pode levar a linfoma de *Burkitt* endêmico (LBe) [4]. Com o objetivo de explicar esta relação, surgem duas teorias com maior prevalência. A primeira sugere que a malária provocada pelo *P. falciparum* induz a expansão policlonal de linfócitos B, com consequente reativação lítica do EBV latente nas células B infetadas, para além de aumentar a probabilidade da translocação *c-myc*, uma marca de linfoma de *Burkitt*. A segunda teoria sugere que a imunidade específica dos linfócitos T ao EBV é prejudicada durante a coinfeção com *P. falciparum*, que tanto pode ser a causa como a consequência do aumento da replicação de EBV (daí o facto de estas teorias não serem mutualmente exclusivas), e este enfraquecimento imunitário leva à perda de controlo viral [5].

Enquanto que a associação causal entre EBV e LBe já foi estabelecida, o papel do *P. falciparum* na patogenia de LBe ainda não é bem compreendido. A malária holoendêmica é caracterizada por uma transmissão perpétua e intensa com a maior morbidade e mortalidade em crianças menores de 5 anos. Sob tais condições, bebés e crianças jovens são repetidamente infetados com *P. falciparum* e podem abrigar doenças crónicas, assintomáticas e muitas vezes não tratadas. Infeções recorrentes geram imunidade parcial à malária por *P. falciparum*, o que permite frequentes e sustentadas infeções de alta densidade [6]. Como tanto as infeções crónicas como as agudas por *P. falciparum* são comuns em crianças residentes em áreas holoendémicas, é um desafio destrinçar as várias oportunidades que a malária tem para influenciar a persistência de EBV.

A coincidência de uma infeção por malária por *P. falciparum* preceder o LB apoia também uma interação temporal com EBV. Foi observado que a idade média dos pacientes com LBe em áreas de malária era de 8,1 anos, enquanto que em zonas de baixo risco para malária era de 16,2 anos [7]. Além disso, os imigrantes de áreas de baixa incidência de malária que se mudaram para áreas holoendémicas



**Figura 2 – Cronologia de malária por *P. falciparum* e infecções por EBV em relação à incidência de linfoma de Burkitt endêmico**

Retirado de Moormann A, Snider C, Chelimo K. *The Company Malaria Keeps: How Co-infection with Epstein-Barr Virus Leads to Endemic Burkitt Lymphoma*, 2011

pico de incidência de LBe é entre os 4 e os 9 anos [7,9], que se encontra após a idade em que a morbilidade, mortalidade e densidades parasitárias da malária por *P. falciparum* são mais altas. Mesmo que estas crianças apresentem infecção por EBV antes dos 3 anos de vida [10], é extremamente raro desenvolver LBe antes dos 2 anos de idade, sugerindo isto que é necessária uma interação prolongada para que esta coinfeção promova carcinogênese. O linfoma de Burkitt é um dos tumores humanos com mais rápida proliferação [11], portanto o evento desencadeante de LBe deve ocorrer num curto espaço de tempo em relação à carcinogênese. A coinfeção por malária e EBV é comum em crianças que residem em áreas de alto risco de LBe, embora a incidência de LBe seja apenas de 1-5 por 100.000 crianças anualmente. A malária por *P. falciparum* pode desempenhar vários papéis na patogenia do LBe, sendo que a coinfeção durante a infecção primária por EBV prepara o terreno para a desregulação da latência do EBV, e as infecções repetitivas por *P. falciparum* exacerbam a homeostase do EBV e imunidade das células T.

### **Influência nas células T**

A partir de estudos realizados sobre mononucleose infecciosa aguda e adultos seropositivos para EBV, sabe-se que as células T EBV-específicas restringem a replicação viral e limitam o número de linfócitos B infetados de forma latente [12]. Partindo desta premissa, a carga viral de EBV no sangue periférico tem sido usada

apresentaram LBe na adolescência tardia e na idade adulta [7]. Um padrão semelhante foi também encontrado num outro estudo onde a maioria dos casos adultos de LBe nasceram em áreas hipoendêmicas [8]. A figura 2 mostra uma cronologia de coinfeções entre EBV e *P. falciparum* em relação à incidência de LBe em áreas holoendêmicas para malária. O

como uma unidade de medida para a perda de controlo viral mediado por estas células T [13]. Um dos primeiros estudos a ser feitos sobre esta tema foi realizado em duas subpopulações do Quênia, em 2002, compreendendo crianças entre 1 e 14 anos de idade, onde foram observadas cargas víricas significativamente mais elevadas de EBV em crianças de 1-4 anos nas regiões onde a transmissão da malária era holoendémica, em comparação àquelas que, com a mesma idade, residiam em zonas onde a transmissão de malária era esporádica [14].

A persistência do EBV é possível através de um equilíbrio entre as estratégias evasivas do vírus e a regulação mediada pelas células TCD8+ e TCD4+ específicas para os antígenos latentes e líticos do EBV [12,15]. Um estudo revelou que as crianças entre os 5-9 anos residentes em áreas holoendémicas para malária, após infeções recorrentes tinham desenvolvido uma resposta inadequada aos epítomos TCD8+ das variantes lítica e latente do EBV, em comparação às crianças de áreas hipoendémicas [16]. No entanto, esta diminuição da imunidade das células T não foi acompanhada por um aumento concomitante da carga virémica de EBV, embora a virémia se tenha mantido significativamente elevada nos casos de malária por *P. falciparum* após a restauração da resposta de células T, em comparação com os indivíduos saudáveis da população de controlo [16].

### **Influência nas células B**

O desenvolvimento da imunidade humoral é importante para mediar a proteção contra a malária por *P. falciparum*, mas ainda não é completamente certo quais dos anticorpos fornecem esta proteção. A seroprevalência de antígenos da malária em crianças na idade de risco para LBe demonstra-nos a exposição contínua e pode ser utilizada para inferir diferenças na intensidade de transmissão quando comparando entre diversas populações. No entanto, este processo não é quantitativo e depende da imunogenicidade do antígeno e da longevidade da resposta do anticorpo a ser medido [18-20].

A malária por *P. falciparum* tem sido classificada como um poderoso mitogénico de células B, induzindo hipergamaglobulinémia [21-23]. *In vitro*, a região CIDR1 $\alpha$  da proteína de membrana do eritrócito infetado por *P. falciparum* demonstrou uma capacidade de ativar a proliferação de células B em indivíduos sem prévia exposição à malária, focando preferencialmente a ativação de células B de

memória e providenciando proteção contra a apoptose [24]. Uma associação direta entre a CIDR1 $\alpha$  e as células B infectadas por EBV também foi demonstrada, sugerindo que a CIDR1 $\alpha$  pode causar a reativação do EBV durante a infecção malárica [25]. Infelizmente, estudar esta relação *in vivo* apresenta as limitações dos estudos em humanos. Apesar disso, a possibilidade que a malária crônica por *P. falciparum* pode reativar células B em estado latente mesmo sem infecção aguda mantém-se.

Numa estratégia de escape imunológico, a malária aparenta influenciar diretamente a diferenciação de células B, impedindo o desenvolvimento de células de memória a longo prazo e potenciando a criação de uma geração de células B atípicas de memória de curto prazo. Estas alterações na diferenciação celular, em conjunto com a identificação de possíveis reservatórios alternativos de EBV, permanecem um objeto de estudo ainda não completamente investigado.



## **EBV e Vírus do Papiloma Humano**

O vírus do papiloma humano (VPH) é um pequeno vírus de ADN de dupla cadeia (dsDNA) com tropismo para as células epiteliais. Enquanto o EBV está associado a diversos carcinomas linfóides e epiteliais (LB, linfoma de *Hodgkin*, carcinoma nasofaríngeo e carcinomas gástricos), o VPH está maioritariamente presente em carcinomas epiteliais da cabeça e pescoço, estando representado em cerca de 5% dos carcinomas humanos [17]. O EBV e o VPH compreendem, em conjunto, cerca de 38% de todos os carcinomas associados a infeção viral [17]. Ambos os agentes infecciosos infetam e replicam-se no epitélio dos tratos respiratório e digestivo superiores, e aqui partilham parte do seu ciclo de vida no epitélio estratificado, uma vez que a fase produtiva do ciclo do VPH e a reativação lítica do EBV são ambas induzidas pela diferenciação destas células epiteliais. Tendo em conta esta particularidade, alguns estudos foram realizados para tentar perceber se estes organismos se influenciam durante os seus ciclos de vida e de que forma esta coexistência pode levar a um potencial carcinogénico.

Um estudo recente demonstrou pela primeira vez que o VPH, em particular a variante VPH18, pode coexistir com o EBV no interior dos queratinócitos orais normais (NOKs), células que por estudos anteriores já demonstravam capacidade de albergar o ciclo de vida do EBV [28]. A partir desta premissa concluiu-se também que o VPH18 é capaz de induzir a reativação lítica do EBV na camada suprabasal dos NOKs, através da expressão dos oncogenes E6 e E7 do VPH, durante a sua fase produtiva [28]. No entanto, o mecanismo exato que permite esta interação ainda não é conhecido. Em relação à contribuição desta coinfeção para a formação de carcinomas orais, os resultados deste estudo indicam-nos que o VPH é capaz de estabilizar o EBV nas células epiteliais da cavidade oral, e esta persistência do vírus pode contribuir para o aumento da probabilidade de uma possível transformação maligna do tecido. Mais uma vez este mecanismo ainda não é conhecido, mas é teorizado que a presença do VPH no ciclo de vida do EBV pode aumentar a eficiência da síntese de DNA durante a fase S e aumentar a probabilidade de sucesso mitótico, que em conjunto representam os momentos onde o EBV pode ser perdido a nível celular [29]. A promoção da reativação lítica do EBV pode também ter uma contribuição, pois tem potencial para aumentar a carga viral de EBV e, portanto, levar a um aumento de infeções subsequentes na cavidade oral. A indução da fase

lítica pode também aumentar a expressão de citocinas virais e celulares (como fatores de crescimento), que por seu lado podem levar a um aumento da proliferação das células vizinhas. Outros estudos propõem ainda a presença de um ciclo lítico abortivo, durante o qual o EBV lítico promove a desestabilização do genoma celular antes de regressar à fase latente [30].

### **EBV e VPH no carcinoma da nasofaringe**

O carcinoma nasofaríngeo (CNF) tem uma incidência global de 1:100.000 indivíduos, sendo endémico em algumas regiões do sul da China e sudeste asiático, onde pode alcançar uma incidência 50 vezes superior [31]. Os fatores etiológicos habitualmente propostos incluem suscetibilidade genética, fatores ambientais e a infeção por EBV. O CNF é classificado histologicamente em 3 subtipos: carcinomas de células escamosas (WHO-I CNF), carcinomas não queratinizados (WHO-II CNF) e carcinomas indiferenciados (WHO-III CNF).

A coinfeção EBV-VPH é normalmente encontrada em pessoas provenientes de regiões endémicas. Vários estudos realizados relataram percentagens de coinfeção variável, nomeadamente 15% entre doentes provenientes do Irão, 34% em doentes marroquinos e 47,7% em chineses [32-34]. O EBV foi associado aos carcinomas dos subtipos WHO-II/III [27,35], variantes não queratinizadas, o que indica que a infeção por EBV pode facilitar uma futura infeção por VPH. Esta coinfeção pode afetar a transformação neoplásica, mas atualmente ainda não há evidência clara que confirme o papel do VPH no CNF EBV-positivo. É também pouco claro qual dos vírus contribui para a primeira infeção em doentes coinfectados. Como ainda não há estudos que demonstrem claramente o papel da coinfeção EBV-VPH neste carcinoma, esta área permanece desconhecida.

### **EBV e VPH no cancro cervical**

O cancro cervical é o terceiro mais comum entre as mulheres e, em termos de mortalidade, é o quarto mais letal [36]. Já está estabelecida uma associação prévia que relaciona genótipos de VPH de alto risco com o cancro cervical [37], e como este necessita de uma infeção de longo prazo para se estabelecer, o VPH é

encontrado em praticamente 100% de todos os casos do carcinoma cervical. No entanto, a maioria das mulheres infetadas nunca chega a desenvolver a doença, o que nos sugere que outras etiologias podem estar envolvidas na carcinogénese da neoplasia cervical.

Ao longo dos anos vários estudos foram realizados sobre esta matéria [38-40], e enquanto em alguns foi encontrada uma coinfeção de VPH de alto risco e EBV, em outros este achado não foi relatado. É, portanto, importante do ponto de vista clínico tentar confirmar se o EBV tem ou não um papel causal no carcinoma cervical.

O EBV é capaz de transformar células transportadoras do recetor EBV/C3d (o terceiro componente do complemento), e eventualmente levar a uma recetividade de outros estímulos oncogénicos. Estes recetores estão amplamente presentes em biópsias endo e ectocervicais do cérvix uterino, o que nos indica que o EBV pode ter aqui um papel importante do desenvolvimento deste carcinoma. A presença de EBV nesta zona pode estar relacionada com uma transmissão por via sexual, levando a uma replicação nas células cervicais. De uma forma semelhante, a cervicite crónica também pode facilitar a infeção por EBV [40]. No carcinoma cervical, a taxa de coinfeção era maior (67%) no carcinoma de células escamosas, sendo mais baixo (7%) no tecido cervical normal [39]. Esta diferença significativa entre cérvices normais e aqueles com carcinoma de células escamosas sugere-nos que a coinfeção destes dois vírus pode facilitar a progressão neoplásica e, portanto, ser um indicador de mau prognóstico nestes pacientes.

### **EBV e VPH no cancro da mama**

O cancro da mama é a segunda causa oncológica de morte em todo o mundo [41]. A etiologia deste carcinoma é significativamente afetada por múltiplos fatores de risco, incluindo a idade, alterações hormonais, alcoolismo, dieta, histórico familiar e outros. Como os vírus podem ser agentes etiológicos de alguns carcinomas humanos, vários investigadores tentaram identificar potenciais agentes virais que possam estar relacionados com este carcinoma.

O EBV tornou-se um potencial agente quando foi primeiro encontrado no tecido mamário [42]. Outros investigadores também propuseram o VPH como um candidato depois de concluírem que este pode imortalizar as células epiteliais da

mama [43]. Curiosamente, o único genótipo de VPH identificado em doentes com cancro da mama VPH-positivo era o VPH-16 E6/E7, um genótipo frequentemente encontrado no carcinoma cervical. No entanto, VPH de alto risco dos tipos 16, 18 e 33 foram futuramente identificados em populações diferentes. Este facto, em conjunto com a baixa prevalência destes vírus nas células mamárias de doentes com este carcinoma, excluem um possível papel etiológico direto, pelo menos enquanto não se realizarem mais estudos nesta matéria.

O EBV é um dos contribuidores mais importantes para o linfoma de *Hodgkin*, e existem associações significativas entre este e o cancro da mama, sugerindo que, indiretamente, o EBV pode atuar como um agente etiológico em alguns carcinomas mamários [44]. Algumas células cancerígenas EBV-positivas têm as mesmas características histológicas que as células de *Reed-Sternberg*, o que sugere que os linfócitos infetados com EBV podem infiltrar o tecido mamário e transmitir o vírus às células epiteliais [45].

A coinfeção de EBV e VPH está aparentemente presente numa proporção significativamente elevada de células tumorais, quando comparado com células normais mamárias, associando-se a tumores que ocorrem em idades mais precoces.

Apesar disto, não há ainda evidência forte que suporte esta coinfeção como fator etiológico, sendo necessários mais estudos e com populações mais significativas.

## EBV e o Vírus da Imunodeficiência Humana (VIH)

Apesar do EBV ser classificado como potenciador carcinogénico em vários tipos de linfomas e outros carcinomas, para os efeitos da revisão proposta consideraram-se apenas os linfomas ocorrentes em doentes com infeção por VIH e que são potencialmente associados ao EBV.

Os linfomas mais comuns que derivam de uma infeção por VIH são o linfoma de *Burkitt* e o linfoma difuso de grandes células B (LDGCB), sendo que o linfoma de *Hodgkin* também tem uma posição prevalente. Outros incluem o linfoma primário de efusão (LPE) e as suas variantes sólidas, o linfoma associado ao sarcoma de *Kaposi* por herpesvírus e o linfoma plasmoblástico da cavidade oral.

A contribuição viral para o desenvolvimento de carcinomas associadas ao VIH já foi extensivamente investigada, mas apenas dois vírus oncogénicos, sendo eles o EBV e o herpesvírus associado ao sarcoma de Kaposi (KSHV), foram associados patologicamente com linfomas específicos ocorrentes em situações infecciosas por VIH [46]. A tabela 1 demonstra as proliferações linfóides que ocorrem em doentes com VIH e coinfetados por EBV e/ou KSHV, para além das lesões genéticas mais frequentemente associadas. De facto, pensa-se que o VIH contribui para a linfomagénese também através da indução da ativação crónica de

Histotype	BL	DLBCL-CB	DLBCL-IBL	PBL	PEL
Virological features					
EBV (latency)	-/+ (I)	-	+ (II)	+/- (I)	+ (I)
KSHV	-	-	-	-	+
Genetic abnormalities					
BCL-2	-	-	-/+	-/+	-
BCL-6	+	+/-	-	-/+	-
TP53	+/-	Rare	-	-	-
MYC	+/-	-/+	-	-/+	-

**Tabela 1 – Linfomas em doentes com VIH: infeção por outros agentes virais e anormalidades genéticas.**

BL, linfoma de Burkitt; DLBCL, linfoma difuso de grandes células B; CB, centroblástico; IBL, linfoma imunoblástico; PBL, linfomaplasmoblástico; PEL, linfoma de efusão primário.

+, positivo em 100% dos casos; -, negativo em 100% dos casos; -/+ , positivo em menos de 50% dos casos, +/- , positivo em mais de 50% dos casos.

Retirado de Carbone A, Volpi C, Gualeni A, Gloghini A. *Epstein-Barr virus associated lymphomas in people with HIV*. 2017.

células B, devido à disfunção imune mediada pelo VIH [46]. Portanto, a patogénese

dos linfomas associados ao VIH é considerada o resultado de uma ação conjunta de diferentes fatores, incluindo alterações genéticas, disfuncionamento imunitário, infecções virais e da ativação crónica de células B. Estudos recentes indicam que o VIH pode contribuir para a linfomagénesse também através de cooperação viral [48]. Praticamente 100% dos linfomas de *Hodgkin* em doentes infetados por VIH estão associados a infeção por EBV, que predominantemente expressam latência tipo II (início de restrição de expressão génica, induzindo a diferenciação da célula B para uma célula B de memória) [49]. No linfoma plasmoblástico, 60-75% estão associados a uma coinfeção por EBV, exprimindo RNAs codificados pelo EBV, que apresenta latência de tipo I (com restrição acentuada de expressão génica, ativando o EBNA-1 para se replicar quando da divisão celular da célula B).

A idade em que o linfoma se desenvolve depende da idade em que ocorreu a infeção por VIH, sendo que há também um maior risco de linfomas em homens. Nesta população, os linfomas são predominantemente de células B e agressivos, atingindo mais frequentemente o trato gastrointestinal, o sistema nervoso central, fígado e tecido ósseo. O linfoma é atualmente a causa neoplásica de morte mais comum em indivíduos afetados por VIH.

## Conclusão

Como se pode verificar, o vírus *Epstein-Barr* é um agente altamente adaptável e que é encontrado com frequências variáveis em diversas neoplasias. Apesar de haver fortes indícios de que a coinfeção com outros agentes infecciosos possa, por si só, promover a oncogênese, muito dificilmente se encontram provas concretas que o afirmem de forma perentória. A principal barreira assenta nas dimensões das populações estudadas, que na grande maioria dos casos é extremamente pequena e raramente representativa da população geral. Como a maioria destes carcinomas são relativamente raros ou circunscritos a zonas endémicas, como é o caso do linfoma de *Burkitt* endémico, grande parte dos estudos são realizados nestas zonas e, apesar de apresentarem conclusões potencialmente interessantes, ainda não é possível transcrever estes resultados para a população geral. Tendo em conta estas dificuldades, é fácil perceber como este tema ainda não é amplamente discutido pela comunidade científica. No entanto, com o avanço da ciência e com o conceito cada vez mais enraizado de um planeta unido, a nossa capacidade de estudo destas patologias incomuns está diariamente a tornar-se algo mais viável. Com isto em mente, fica aqui uma pequena contribuição para a divulgação deste tema.

## **Agradecimentos**

À minha família, mãe e pai, tia e avó, e especialmente à minha irmã que, para além de me ter ajudado na escolha do tema, sempre me puxou para fazer mais, mais rápido e melhor.

À minha namorada, pela paciência, apoio e pelas incontáveis horas de sesta que passou ao meu lado enquanto eu escrevi esta tese.

Aos meus orientadores, que mesmo com todas as dificuldades que tive nunca se esqueceram de mim e sempre me lembraram do meu objetivo.

Aos meus amigos, que me proporcionaram as gargalhadas que me mantiveram são ao longo deste ano e, indiretamente, me distraíram na realização deste trabalho.

À internet, por existir.

Agradeço também a todos os que, direta ou indiretamente, ajudaram neste trabalho, seja com um sorriso ou uma imagem mais engraçada, e que tornaram a realização deste trabalho em algo mais simples na minha mente complicada.



## Referências bibliográficas

1. Crawford DH, Macsween KF, Higgins CD, et al. A cohort study among university students: identification of risk factors for Epstein-Barr virus seroconversion and infectious mononucleosis. *Clin Infect Dis*. 2006;43(3):276-282.
2. Shannon-Lowe CD, Neuhierl B, Baldwin G, Rickinson AB, Delecluse H-J. Resting B cells as a transfer vehicle for Epstein-Barr virus infection of epithelial cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006;103(18):7065-7070.
3. Fafi-Kremer S, Morand P, Brion J-P, et al. Long-term shedding of infectious Epstein-Barr virus after infectious mononucleosis. *J Infect Dis*. 2005;191(6):985-989.
4. Moormann A, Snider C, Chelimo K. The Company Malaria Keeps: How Co-infection with Epstein-Barr Virus Leads to Endemic Burkitt Lymphoma. *Curr Opin Infect Dis*. 2011;435-41.
5. Rochford R, Cannon MJ, Moormann AM. Endemic Burkitt's lymphoma: a polymicrobial disease? *Nat Rev Microbiol*. 2005;3(2):182-187.
6. Moormann A, et al. How might infant and paediatric immune responses influence malaria vaccine efficacy? *Parasite Immunol*. 2009;31(9):547-559.
7. Burkitt D, Wright D. Geographical and Tribal Distribution of the African Lymphoma in Uganda. *BMJ*. 1966;1(5487):569-573.
8. Morrow RH, Kisuule A, Pike MC, Smith PG. Burkitt's Lymphoma in the Mengo Districts of Uganda: Epidemiologic Features and Their Relationship to Malaria. *JNCI*. 1976;56(3):479-483.
9. Rainey JJ, Mwanda WO, Wairimu P, Moormann AM, Wilson ML, Rochford R. Spatial distribution of Burkitt's lymphoma in Kenya and association with malaria risk. *Trop Med Int Health*. 2007;12(8):936-943.
10. Biggar RJ, Henle G, Böcker J, Lennette ET, Fleisher G, Henle W. Primary Epstein-Barr virus infections in African infants. II. Clinical and serological observations during seroconversion. *Int J Cancer*. 1978;22(3):244-250.
11. Thorley-Lawson DA, Allday MJ. The curious case of the tumour virus: 50 years of Burkitt's lymphoma. *Nat Rev Microbiol*. 2008;6(12):913-924.

12. Hislop AD, Taylor GS, Sauce D, Rickinson AB. Cellular Responses to Viral Infection in Humans: Lessons from Epstein-Barr Virus. *Annu Rev Immunol.* 2007;25(1):587-617.
13. Burrows SR, Moss DJ, Khanna R. Understanding human T-cell-mediated immunoregulation through herpesviruses. *Immunol Cell Biol.* 2011;89(3):352-358.
14. Moormann AM, Chelimo K, Sumba OP, et al. Exposure to Holoendemic Malaria Results in Elevated Epstein-Barr Virus Loads in Children. *J Infect Dis.* 2005;191(8):1233-1238.
15. Reynaldi A, Schlub TE, Chelimo K, et al. Impact of Plasmodium falciparum Co-infection on Longitudinal Epstein-Barr Virus Kinetics in Kenyan Children. *J Infect Dis.* 2015;213(6):985-991.
16. Thorley-Lawson DA, Gross A. Persistence of the Epstein-Barr Virus and the Origins of Associated Lymphomas. *N Engl J Med.* 2004;350(13):1328-1337.
17. Shi Y, Peng S-L, Yang L-F, Chen X, Tao Y-G, Cao Y. Co-infection of Epstein-Barr virus and human papillomavirus in human tumorigenesis. *Chin J Cancer.* 2016;35(1).
18. Weinberg A, Bloch K, Li S, Tang Y-W, Palmer M, Tyler K. Dual Infections of the Central Nervous System with Epstein-Barr Virus The Use of Polymerase Chain. *J Infect Dis.* 2005;234-237.
19. Chene A, Donati D, Orem J, et al. Endemic Burkitt's lymphoma as a polymicrobial disease: new insights on the interaction between Plasmodium falciparum and Epstein-Barr virus. *Semin Cancer Biol.* 2009;19(6):411-420.
20. Thorley-Lawson DA. Epstein-Barr virus: exploiting the immune system. *Nat Rev Immunol.* 2001;1(1):75-82.
21. Chen M-R. Epstein-Barr Virus, the Immune System, and Associated Diseases. *Front Microbiol.* 2011;2.
22. Odumade OA, Hogquist KA, Balfour HH. Progress and problems in understanding and managing primary Epstein-Barr virus infections. *Clin Microbiol Rev.* 2011;24(1):193-209.
23. Young LS, Rickinson AB. Epstein-Barr virus: 40 years on. *Nat Rev Cancer.* 2004;4(10):757-768.
24. Rezk SA, Zhao X, Weiss LM. Epstein-Barr virus (EBV)-associated lymphoid proliferations, a 2018 update. *Hum Pathol.* 2018;79:18-41.

25. Pender MP. CD8+ T-Cell Deficiency, Epstein-Barr Virus Infection, Vitamin D Deficiency, and Steps to Autoimmunity: A Unifying Hypothesis. *Autoimmune Dis.* 2012;2012:1-16.
26. Gandhi MK, Tellam JT, Khanna R. Epstein-Barr virus-associated Hodgkin's lymphoma. *Br J Haematol.* 2004;125(3):267-281.
27. zur Hausen H, Schulte-Holthausen H, Klein G, et al. EBV DNA in biopsies of Burkitt tumours and anaplastic carcinomas of the nasopharynx. *Nat.* 1970;228(5276):1056-1058.
28. Klein G, Klein E, Kashuba E. Interaction of Epstein-Barr virus (EBV) with human B-lymphocytes. *Bioc Biop Res Comm.* 2010;396(1):67-73.
29. Asito AS, Moormann AM, Kiprotich C, Ng'ang'a ZW, Ploutz-Snyder R, Rochford R. Alterations on peripheral B cell subsets following an acute uncomplicated clinical malaria infection in children. *Mal J.* 2008;7(1):238.
30. zur Hausen H. The search for infectious causes of human cancers: Where and why. *Virology.* 2009;392(1):1-10.
31. de Martel C, Ferlay J, Franceschi S, et al. Global burden of cancers attributable to infections in 2008: a review and synthetic analysis. *Lancet Onc.* 2012;13(6):607-615.
32. Mesri EA, Feitelson MA, Munger K. Human Viral Oncogenesis: A Cancer Hallmarks Analysis. *Cell Host & Microbe.* 2014;15(3):266-282.
33. Ammatuna P, Giovannelli L, Giambelluca D, et al. Presence of Human Papillomavirus and Epstein-Barr Virus in the Cervix of Women Infected with the Human Immunodeficiency Virus. *J Med Virol.* 2000;5(2):410-5.
34. Wei K-R, Zheng R-S, Zhang S-W, Liang Z-H, Ou Z-X, Chen W-Q. Nasopharyngeal carcinoma incidence and mortality in China in 2010. *Chin J Cancer.* 2014;33(8):381-387.
35. Xu Z-J, Zheng R-S, Zhang S-W, Zou X-N, Chen W-Q. Nasopharyngeal carcinoma incidence and mortality in China in 2009. *Chin J Cancer.* 2013;32(8):453-460.
36. Chen L, Qiu X, Zhang N, Wang Y, Wang M, Li D, et al. APOBEC-mediated genomic alterations link immunity and viral infection during human papillomavirus-driven cervical carcinogenesis. *Biosci Trends.* 2017;11:383-8.

37. de Lima MAP, Neto PJN, Lima LPM, Goncalves Junior J, Teixeira Junior AG, Teodoro IPP, et al. Association between Epstein-Barr virus (EBV) and cervical carcinoma: a meta-analysis. *Gynecol Oncol.* 2017;148(2):317–28.
38. Sasagawa T, Shimakage M, Nakamura M, Sakaike J, Ishikawa H, Inoue M. Epstein-Barr virus (EBV) genes expression in cervical intraepithelial neoplasia and invasive cervical cancer: a comparative study with human papillomavirus (HPV) infection. *Hum Pathol.* 2000;31:318–26.
39. Munoz N, Bosch FX, De Sanjose S, Herrero R, Castellsague X, Shah KV, et al. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *N Engl J Med.* 2003;348:518–27.
40. Vranic S, Cyprian F, Akhtar S, Moustafa A-E. The role of Epstein-Barr virus in cervical cancer: a brief update. *Front Oncol.* 2018;8:113.
41. Holm M, Tjonneland A, Balslev E, Kroman N. Prognosis of synchronous bilateral breast cancer: a review and meta-analysis of observational studies. *Breast Cancer Res Treat.* 2014;146(3):461–75.
42. Labrecque LG, Barnes DM, Fentiman IS, Griffin BE. Epstein-Barr virus in epithelial cell tumors: a breast cancer study. *Cancer Res.* 1995;55(1):39–45.
43. Band V, Zajchowski D, Kulesa V, Sager R. Human papilloma virus DNAs immortalize normal human mammary epithelial cells and reduce their growth factor requirements. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1990;87(1):463–7.
44. Yasui Y, Potter JD, Stanford JL, Rossing MA, Winget MD, Bronner M, et al. Breast cancer risk and “delayed” primary Epstein-Barr virus infection. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2001;10(1):9–16.
45. Glenn WK, Heng B, Delprado W, Iacopetta B, Whitaker NJ, Lawson JS. Epstein-Barr virus, human papillomavirus and mouse mammarytumour virus as multiple viruses in breast cancer. *PLoS One.* 2012;7(11):e48788.
46. Carbone A, Volpi C, Gualeni A, Gloghini A. Epstein-Barr virus associated lymphomas in people with HIV. *Curr. Opin. HIV AIDS.* 2017;12(1):39-46.
47. Gloghini A, Dolcetti R, Carbone A. Lymphomas occurring specifically in HIV infected patients: from pathogenesis to pathology. *Semin Cancer Biol* 2013;23:457–467.
48. Dolcetti R, Gloghini A, Caruso A, Carbone A. A lymphomagenic role for HIV beyond immune suppression? *Blood.* 2016; 127:1403–1409.

49. Pantanowitz L, Carbone A, Dolcetti R. Microenvironment and HIV-related lymphomagenesis. *Semin Cancer Biol* 2015; 34:52–57.