



**INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
EGAS MONIZ**

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

ASSOCIAÇÃO DO VÍRUS EPSTEIN-BARR E PATOLOGIA ORAL

Trabalho submetido por
André Miguel Ramos Dias
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

setembro de 2017



**INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
EGAS MONIZ**

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

ASSOCIAÇÃO DO VÍRUS EPSTEIN-BARR E PATOLOGIA ORAL

Trabalho submetido por
André Miguel Ramos Dias
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

Trabalho orientado por
Prof^a Doutora Perpétua Gomes

setembro de 2017

Se me amas, não chores

Se conhecesses o mistério imenso

do Céu onde agora vivo,

este horizonte sem fim,

esta luz que tudo reveste e penetra,

não choraria, se me amas!

Estou já absorvido no encanto de Deus,

na sua infindável beleza.

Permanece em mim o teu amor,

uma enorme ternura

que nem tu consegues imaginar.

Vivo numa alegria puríssima.

Nas angústias do tempo, pensa nesta casa

onde um dia estaremos reunidos

para além da morte, matando a sede na fonte

inesgotável da alegria e do amor infinito.

Não chores, se verdadeiramente me amas!

Santo Agostinho

Agradecimentos

A minha orientadora, Professora Doutora Perpétua Gomes, um sincero obrigado pela sua disponibilidade, apoio e aconselhamento demonstrado ao longo da realização do trabalho.

A minha família, especialmente a meu pai e meu irmão, pela sabedoria transmitida e valores inculcados, por contribuírem não só para a minha formação académica, como também para minha formação enquanto pessoa.

A meus amigos, um especial obrigado pela ajuda durante estes longos anos, pelo companheirismo e paciência.

A todos os que tornaram possível a realização deste trabalho.

Por fim, a uma pessoa muito especial para mim, a uma gigante estrela no céu, a um anjo da guarda, a minha mãe, que me criou, me deu todo o apoio e amor incondicional, me fez crescer e me tornou no homem que hoje sou.

Resumo: O vírus Epstein-Barr (EBV) é um membro da família *Herpesviridae* e pertence à subfamília *Gammherpesvirinae*. Este vírus, tem tropismo para as células B e para as células epiteliais. Trata-se de um vírus com elevadas taxas de incidência, infectando aproximadamente 95% da população mundial. Após a infecção primária, os indivíduos permanecem portadores do vírus, uma vez que a infecção permanece numa forma latente. A cavidade oral é a principal porta de entrada, a região inicial de propagação e também de persistência do EBV. O vírus é transmitido, sobretudo, através da saliva e infeta preferencialmente os linfócitos B através da ligação da glicoproteína viral principal (gp350) ao recetor celular CD21. O EBV é o fator etiológico da mononucleose infecciosa e da leucoplasia pilosa. Este vírus está ainda fortemente associado a diversos tumores. O largo espectro de neoplasias malignas associadas ao vírus Epstein-Barr abrange o linfoma de Hodgkin, o linfoma Burkitt, o carcinoma gástrico, o carcinoma da nasofaringe, entre outros. O EBV determina a expressão de proteínas de membrana e antigénios que interferem com o mecanismo celular, conduzindo a carcinogénese e proliferação de células neoplásicas. O médico dentista assume um papel importante na prevenção da doença e no diagnóstico precoce destas patologias. O médico dentista, durante a sua prática clínica, deve educar os pacientes e executar com regularidade um exame clínico exaustivo da cavidade oral.

Palavras-chave: Vírus Epstein-Barr (EBV), Herpesvírus, Linfomas, Carcinomas, Mononucleose infecciosa

Abstract: The Epstein-Barr virus (EBV) is part of the *Herpesviridae* family and it is included *Gammaherpesvirinae* subfamily, which mainly infects B lymphocytes and epithelial cells. It is a virus with high prevalent incident rates, affecting approximately 95% of worldwide population, and even after primary infection a patient remain carrier of the virus for the rest of their life. The oral cavity is a primary site for transmission and persistence of EBV. Saliva is the main vehicle of EBV transmission and the virus infuses B cells through the interaction of the major viral glycoprotein (gp350) with the cell surface molecule CD21. EBV is involved in the etiology of infectious mononucleosis and hairy leukoplakia and is a virus strongly associated with several of tumors. Infection of EBV can manifest in a range of malignant neoplasms, such as, Hodgkin's lymphoma, Burkitt's lymphoma, gastric carcinoma, nasopharyngeal carcinoma, among others. EBV determines the expression of latent membrane proteins and antigens which will interfere with the cellular machinery leading to carcinogenesis and proliferation of neoplastic cells. The dentist assumes an important role in preventing diseases and in early diagnosis of these pathologies. During their clinical practice, the dentist should educate patients and investigate alterations in the oral cavity.

Key-Words: Epstein-Barr virus (EBV), Herpesvirus, Lymphomas, Carcinomas, Infectious mononucleosis

ÍNDICE GERAL

1. INTRODUÇÃO.....	7
2. DESENVOLVIMENTO.....	11
2.1. Herpesvírus humano.....	11
2.2. Vírus do Epstein-Barr (EBV).....	15
2.2.1. Mecanismo de carcinogénese.....	19
2.2.2. Resposta Imunológica.....	23
2.2.3. Prevenção.....	24
2.2.4. Epidemiologia.....	25
2.3. Saliva.....	27
2.4. Manifestações clínicas.....	31
2.4.1. Mononucleose infecciosa.....	33
2.4.2. Leucoplasia Oral Pílosa	35
2.4.3. Linfomas na cavidade oral.....	36
2.4.3.1. Linfoma de Burkitt.....	37
2.4.3.2. Linfoma de Hodgkin.....	39
2.4.4. Carcinoma Gástrico.....	41
2.4.5. Carcinoma da Nasofaringe.....	43
2.4.6. Carcinoma das Glândulas Salivares.....	48
2.4.7. Doença Periodontal.....	49
2.5. Papel do Médico Dentista.....	51
3. CONCLUSÃO.....	55
4. BIBLIOGRAFIA.....	57

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 - Representação simplificada de um herpesvírus	12
Figura 2 - Classificação taxonómica dos vírus da família <i>Herpesviridae</i>	13
Figura 3 – Ciclo de replicação dos herpesvírus	14
Figura 4 – Esquematização das fases iniciais da infeção do vírus Epstein-Barr	18
Figura 5 – Infeção do vírus Epstein-Barr	19
Figura 6 – Localização das glândulas salivares	28
Figura 7 – Sinais clínicos da mononucleose	34
Figura 8 – Imagem endoscópica característica do carcinoma gástrico associado ao vírus Epstein-Barr na porção superior do estômago	42
Figura 9 – Distribuição geográfica dos carcinomas gástricos associados ao vírus Epstein-Barr	43
Figura 10 – Distribuição geográfica e por sexo da incidência do carcinoma da nasofaringe	45
Figura 11 – Percentagem de novos casos de cancro oral e carcinoma da nasofaringe nas diversas faixas etárias	46
Figura 12 – Sinais clínicos mais comuns em pacientes portadores de carcinoma da nasofaringe	48

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 - Expressão dos genes latentes do EBV nos vários períodos de latência e nas diferentes fases de diferenciação das células B20
Tabela 2 – Funções dos genes codificados pelo EBV na oncogénese.....	..23
Tabela 3 – Exemplos de infeções virais detetados pelos fluídos orais	31
Tabela 4 – Classificação dos estádios do carcinoma das células escamosas.....	..53

LISTA DE ABREVIATURAS

- CRS – Células Reed-Sternberg
DNA – Ácido Desoxirribonucleico
EBER – Moléculas de RNA codificadas pelo vírus Epstein-Barr
EBNA – Antígeno Nucleares do Vírus Epstein-Barr
EBV – Vírus Epstein-Barr
EBVaGC – Carcinoma Gástrico associado ao Vírus Epstein-Barr
GP – Glicoproteínas Virais
HCMV – Citomegalovírus Humano
HIV – Vírus da Imunodeficiência Humana
HPV - Vírus do Papiloma Humano
Ig - Imunoglobulina
Il – Interleucina
IM – Mononucleose Infeciosa
KSHV – Vírus do Herpes Humano associado ao Síndrome de Kaposi
LB – Linfoma de Burkitt
LH – Linfoma de Hodgkin
LMP – Proteína de Membrana Latente
MHC – Proteínas classe II do complexo principal de histocompatibilidade
NF- κ B – Factor Nuclear κ B
NIH – Instituto Nacional de Saúde
NK – Células “Natural Killer”
NPC – Carcinoma da Nasofaringe
PCR – Reação de Polimerização em Cadeia
PIGR – Recetor Polimérico da Imunoglobulina
RNA – Ácido Ribonucleico
SC – Componente Secretor
SEER - Programa de Vigilância, Epidemiologia e Resultados
SIDA – Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
TRAF – Recetores do fator tumoral
VHS – Vírus do Herpes Simplex
VVZ – Vírus da Varicela Zoster

1. INTRODUÇÃO

Os vírus representam os agentes infecciosos mais frequentes no planeta e são responsáveis em grande parte pela diversidade existente nos ecossistemas (Pride et al., 2012).

Os diversos microrganismos coabitam em todas as superfícies mucosas do ser humano. Uma vez que grande parte dos vírus são bacteriófagos, a sua distribuição depende muito das comunidades bacterianas existentes. Os vírus são parasitas intracelulares obrigatórios e conseqüentemente necessitam das células hospedeiras para a sua replicação. Muitas destas partículas são fatores etiológicos de várias patologias humanas. Estes microrganismos são constituídos por uma cadeia simples ou dupla de DNA ou de RNA e uma capsíde de natureza proteica, formando uma estrutura chamada virião. Alguns vírus podem adquirir um invólucro lipídico, que muitas vezes possui componentes da membrana da célula hospedeira (Abeles & Pride, 2014).

A cavidade oral é considerada um local ideal para a transmissão de vírus, sendo um dos principais focos de infecção viral e bacteriana (Corstjens, Abrams, & Malamud, 2016). A presença de tecidos moles e duros, gengivas, osso e língua permitem que a cavidade oral possua um dos mais diversificados microbiomas do corpo humano. Apesar do trato intestinal possuir mais comunidades bacterianas que a boca, é na cavidade oral que existe uma maior diversidade de microrganismos que pode incluir vírus, fungos, bactérias e protozoários (Abeles & Pride, 2014).

Os vírus são os microrganismos que existem em maior quantidade, que têm menores dimensões e que são mais simples e que têm a capacidade de infetarem o ser humano e provocarem doença. São uma presença constantemente na cavidade oral. As infecções virais são a principal causa de morte entre as doenças infecciosas humanas (Jiang, Feng, Lin, & Guo, 2016; Robles-Sikisaka et al., 2013).

A etiologia do cancro oral, assim como a de diversos cancros, é multifatorial. Para além de fatores externos, como hábitos tabágicos e consumo, fatores comportamentais, traumatismo prolongado da mucosa e a suscetibilidade genética, existem outros fatores, como a infecção pelo vírus do papiloma humano (HPV) e o vírus Epstein-Barr (EBV), que são responsáveis pela desregulação celular e proliferação de células neoplásicas, contribuindo para o desenvolvimento do cancro (Santos et al., 2011).

As lesões potencialmente malignas são indicativas e antecedem, na maior parte das vezes, alguns tipos de cancros. É fundamental detetar estas alterações precocemente,

especialmente na cavidade oral, antes que sofram transformações malignas. A falta de consciencialização acerca dos primeiros sinais e sintomas do cancro oral, do carcinoma da nasofaringe e do cancro em geral pode levar a um diagnóstico incorreto ou tardio (Adham et al., 2012).

Os médicos dentistas têm mais probabilidades de serem consultados perante casos de lesões orais e, desta forma, tornam-se os primeiros a ter um contato com as potenciais infeções virais, desempenhando um papel importante na deteção e diagnóstico das lesões orais provocadas por estes agentes infecciosos. É fulcral que o médico dentista, através do exame clínico, seja capaz de identificar e avaliar qualquer alteração na mucosa oral, realizar o correto diagnóstico e tratamento perante os sinais apresentados (Gajendra, Cruz, & Kumar, 2008; Mohan, Verma, Singh, & Agarwal, 2013).

Os agentes infecciosos, principalmente os vírus, podem estar associados ao desenvolvimento de células neoplásicas. Estes produzem proteínas virais que interferem com os mecanismos das células hospedeiras, permitindo a replicação viral no interior das mesmas. Da vasta gama de vírus existentes, alguns são mais conhecidos por estarem associados ao desenvolvimento de neoplasias, tais como o vírus Epstein-Barr (EBV), o vírus do papiloma humano (HPV), o vírus do herpes humano 8 (HHV-8), o vírus da hepatite B e C, entre outros (Pagano et al., 2004).

O EBV é um herpesvírus com alta taxa de incidência, sendo um dos vírus mais comuns na população mundial. Após a infeção do epitélio da mucosa oral, o EBV estabelece latência nas células B de memória, expressando um determinado padrão de genes responsáveis pela oncogénese e conseqüentemente desenvolvimento de tumores. O EBV está implicado em várias neoplasias malignas de origem epitelial e linfocítica (Bienemann, Borkhardt, Klapper, & Oschlies, 2015).

A escolha deste tema teve como objetivo a recolha da informação mais recente e atual sobre os Herpesvírus humano, nomeadamente o EBV, visto que são dos agentes infecciosos mais abundantes na população e com risco para a mesma. Estes podem causar tanto infeções latentes como líticas. O EBV é o γ -herpesvírus mais comum em humanos, cuja infeção é transmitida essencialmente através da saliva. O EBV é o fator etiológico da mononucleose infecciosa (infeção primária sintomática) e da leucoplasia pilosa. A mononucleose infecciosa, ocasionalmente, pode originar complicações mais graves, como problemas hepáticos, neurológicos e desordens hematológicas. Além disso, este vírus está associado a diversas neoplasias malignas localizadas na cavidade oral.

A Medicina Dentária Preventiva é uma das áreas que está em constante evolução, sendo o médico dentista fundamental para a identificação de todos os sinais anormais na cavidade oral e para dar início ao tratamento mais adequado, de modo a minimizar os riscos de neoplasias na mucosa oral. Detetar precocemente lesões na mucosa oral, assim como, alertar os pacientes das alterações na cavidade oral e incentivá-los na autodeteção destas lesões, permite com certeza para um melhor prognóstico e controlo destas patologias.

2. DESENVOLVIMENTO

2.1. Herpesvírus humano

A família *Herpesviridae* engloba mais de cem vírus que infetam muitos tipos de vertebrados. Estes vírus são ubíquos, induzem uma grande variedade de doenças e, após primoinfeção, permanecem no organismo durante toda a sua vida sob a forma latente (Kukhanova, Korovina, & Kochetkov, 2014).

Os herpesvírus estão divididos em 3 subfamílias *Alphaherpesvirinae*, *Betaherpesvirinae* e *Gamaherpesvirinae*, porém, estas distinguem-se pelas suas características virais, estruturais, tropismo e poder patológico. Os vírus da subfamília *Alphaherpesvirinae* são caracterizados como vírus líticos, apresentando um ciclo de replicação curto, especificidade para as células epiteliais e com capacidade para estabelecer infecções latentes nos gânglios sensoriais. A subfamília *Betaherpesvirinae* inclui vírus com um ciclo de replicação longo, com progressão lenta e a infecção latente, localizando-se nas glândulas secretoras, nos rins e noutros tecidos. Por fim, a subfamília *Gamaherpesvirinae* abrange vírus que estão associados a patologias, como o sarcoma de Kaposi, o linfoma de Burkitt e a mononucleose infecciosa, entre outras (Kukhanova et al., 2014). No entanto, todos os membros desta família têm a capacidade de estabelecer um período de latência após infecção primária e podem reativar mais tarde, sobretudo em pacientes imunodeprimidos. A reativação permite a infecção de novas células que podem ser transformadas, levando ao desenvolvimento de células neoplásicas (Jiang et al., 2016).

Os herpesvírus, da família *Herpesviridae*, são das infecções virais mais comuns nos seres humanos, afetando cerca de 90% da população adulta. Estruturalmente, o herpesvírus tem um diâmetro de aproximadamente 160 nm. As partículas virais são morfolologicamente semelhantes, constituídas por um núcleo denso que contém o material genético -DNA de cadeia dupla linear. Envolvendo o núcleo, encontramos uma capsíde icosaédrica altamente estável. Entre o capsíde e o invólucro existe uma camada proteica amorfa denominada tegumento e, por fim, uma camada externa, o invólucro, derivado das células da membrana do hospedeiro, contendo glicoproteínas virais que são responsáveis pelo reconhecimento, ligação e entrada nas células do hospedeiro (ver Figura 1) (Slots, Saygun, Sabeti, & Kubar, 2006; Zarrouk, Piret, & Boivin, 2017).

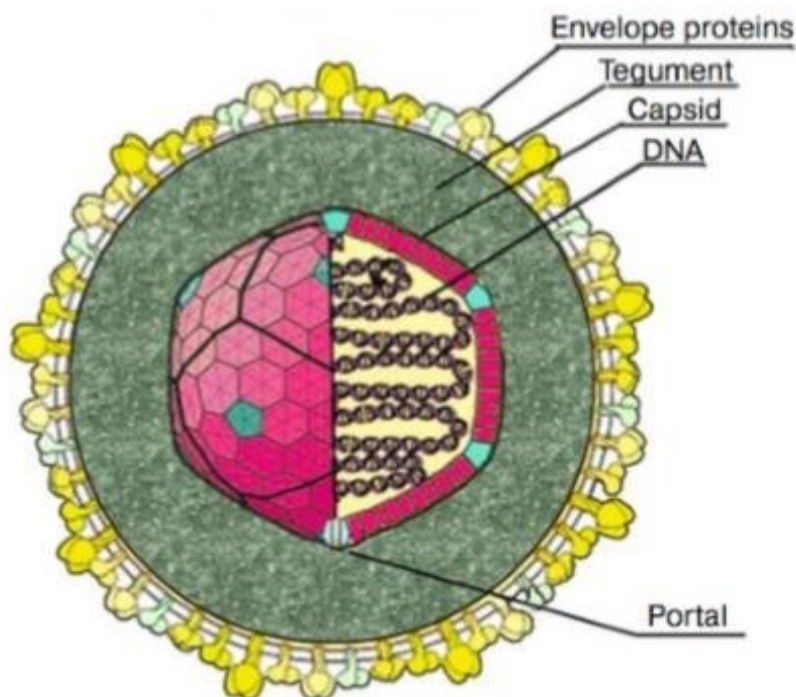


Figura 1 - Representação simplificada de um herpesvírus: o invólucro, o tegumento e a cápside icosaédrica que envolve o genoma DNA (Kukhanova et al., 2014).

Segundo Grywalska & Rolinski, embora a família *Herpesviridae* seja composta por mais de 100 tipos de vírus diferentes, apenas uma pequena parte, até ao presente, é patogénica para o ser humano, a saber: o vírus do herpes simplex 1 (VHS-1 ou HHV-1); o vírus do herpes simplex 2 (VHS-2 ou HHV-2); o vírus da Varicela-Zoster (VVZ ou HHV-3); o vírus Epstein-Barr (EBV ou HHV-4); o Citomegalovírus (HCMV ou HHV-5), o vírus do herpes humano 6 e 7 (HHV-6 e HHV-7) e o vírus do herpes humano 8 (HHV-8 ou KSHV, Herpesvirus associado ao Sarcoma de Kaposi) (ver Figura 2) (Grywalska & Rolinski, 2015).

Estes vírus têm a capacidade permanecer no organismo do hospedeiro e de reativar esporadicamente. As infeções são geralmente benignas, contudo, em certos casos, as infeções primárias e as sequelas do herpesvírus podem causar um largo espectro de doenças e podem conduzir a complicações mais graves, sobretudo, em pacientes imunocomprometidos (Zarrouk et al., 2017).

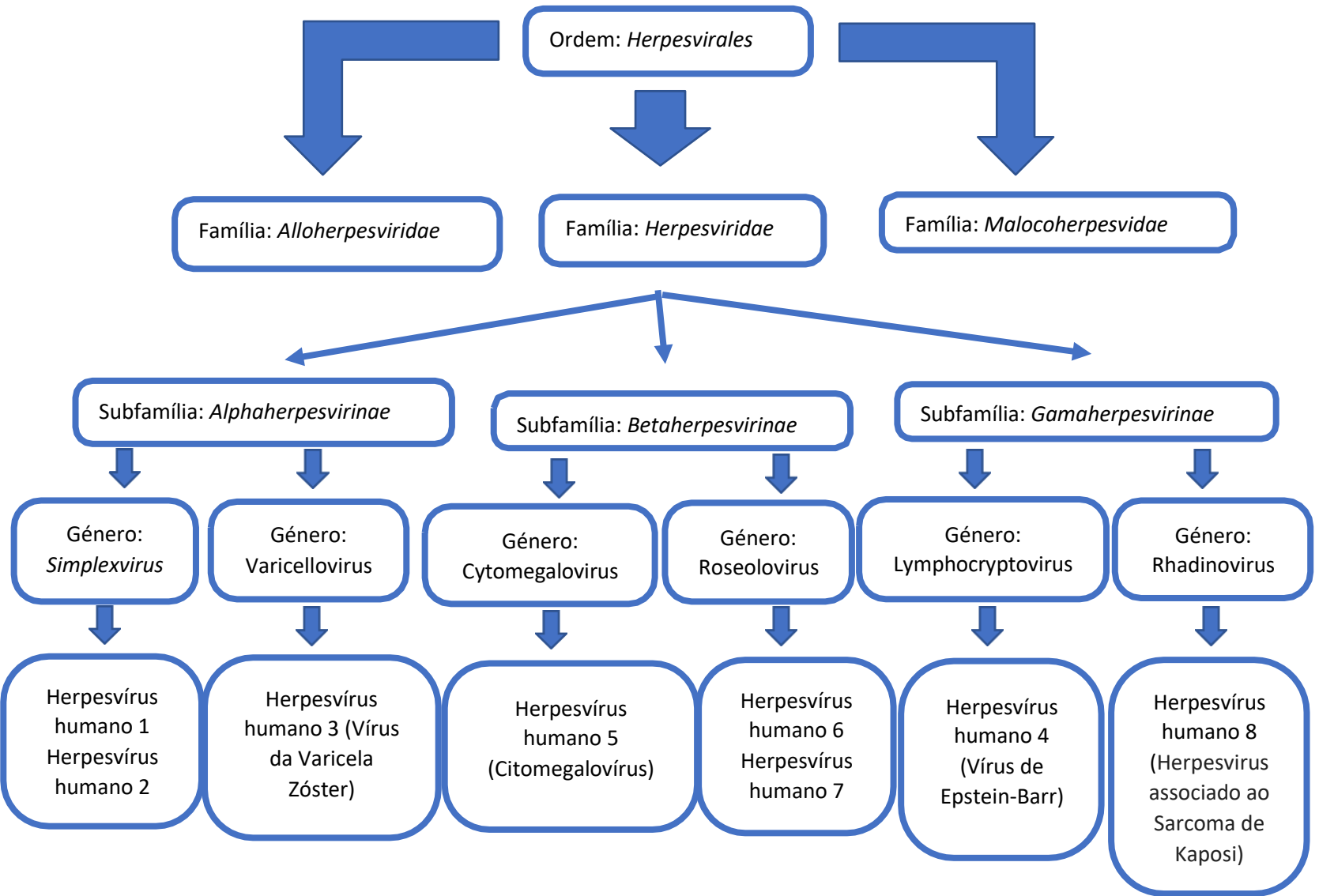


Figura 2 - Classificação taxonômica dos vírus da família *Herpesviridae* segundo ICTV (International Committee on Taxonomy of Virus). Acedido em 11 de Julho de 2017, no Web site da: International Committee on Taxonomy of Virus, disponível em: <https://talk.ictvonline.org/taxonomy>

Durante a replicação dos herpesvírus, as glicoproteínas presentes no invólucro do vírus interagem com os recetores das células hospedeiras, resultando com a fusão da membrana celular. Após a fusão com as membranas celulares e entrada do vírus na célula, o DNA viral é libertado no citoplasma. Posteriormente, o DNA migra para o núcleo da célula hospedeira, onde adquire uma forma circular. A transcrição do genoma viral requer uma regulação e coordenação constante. A transcrição do DNA viral, efetuado pela RNA polimerase, é regulado por três classes distintas de mRNAs e ocorre de uma forma sequencial.

As *immediate early* mRNAs (codificam para proteínas precoces imediatas) são sintetizadas 2 a 4 horas após infeção, sendo responsáveis pela codificação de proteínas iniciadoras e reguladoras da transcrição do vírus. Atuam também na modulação da resposta do hospedeiro à infeção.

As *early* mRNAs (codificam para proteínas precoces) contêm informação de proteínas não estruturais, como fatores de transcrição e enzimas, permitindo assim a replicação de novas moléculas de DNA.

As *late* mRNAs (codificam para proteínas tardias) codificam a maioria das proteínas estruturais, que fazem parte do invólucro e são geradas após o início da replicação do genoma viral (Slots et al., 2006; Zarrouk et al., 2017).

Segue-se a fase de síntese das proteínas estruturais no citoplasma das células hospedeiras. O invólucro é formado a partir da camada interna da membrana nuclear, onde ocorre a encapsulação do genoma viral. Consequentemente, as proteínas formados no complexo de Golgi são libertados para o citoplasma pelo retículo endoplasmático. Com exceção do CMV, que estimula a síntese dos ácidos nucleicos e proteínas, a maioria dos herpesvírus desliga o metabolismo das células hospedeiras que resulta na lise celular (ver Figura 3) (Galdiero et al., 2013).

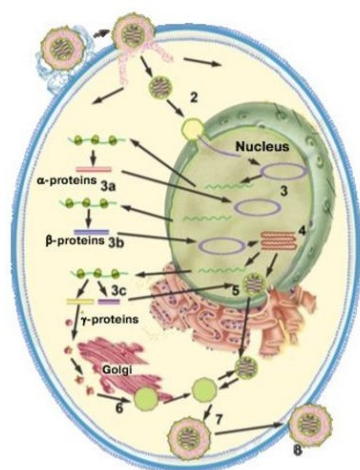


Figura 3 – Ciclo de replicação dos herpesvírus: 1) fixação do virião e entrada na célula; 2) transporte para o núcleo; 3) expressão do gene viral; 4) replicação do DNA viral; 5) conjunto do nucleocapsídeo; 6) maturação da capsídeo; 7) formação do invólucro principal; 8) exocitose (Kukhanova et al., 2014)

2.2. Vírus do Epstein-Barr (EBV)

O vírus Epstein-Barr (EBV) foi identificado pela primeira vez em 1964, por Epstein e Barr, a partir de observação microscópica de partículas virais, em linhas celulares do Linfoma de Burkitt. O EBV foi o primeiro vírus humano ao qual se atribuiu potencial oncogénico (Epstein, Achong, & Barr, 1964; Slots et al., 2006).

Este vírus é um membro da família *Herpesviridae*, que pertence à subfamília *Gammaherpesvirinae*, ao género *Lymphocryptovirus* e infeta os linfócitos B, onde estabelece vários processos de latência, as células epiteliais, os monócitos e os linfócitos T. Tal como os outros herpesvírus humanos, o EBV é ubíquo com larga distribuição a nível mundial, infetando a maioria da população adulta. A primoinfeção pode ser assintomática ou sintomática, traduzindo-se na mononucleose infecciosa. O seu genoma é composto de DNA de cadeia dupla linear com aproximadamente 172 quilobases (kb) (Baumforth, Young, Flavell, Constandinou, & Murray, 1999; Slots et al., 2006).

O genoma viral é encapsulado dentro da capsíde formando a nucleocapsíde, a qual, por sua vez, está rodeada pelo invólucro viral. Antes do vírus entrar nas células B, a glicoproteína viral (gp350) presente no invólucro atua como agente de união entre a membrana do vírus e o recetor celular, a molécula CD21, presente na superfície das células B. Outros fatores, como as “proteínas classe II do complexo principal de histocompatibilidade”, (MHC) funcionam como um cofator para a infeção dos linfócitos B (Iizasa, Nanbo, Nishikawa, Jinushi, & Yoshiyama, 2012).

O EBV é um herpesvírus que infeta as células através da fusão da sua membrana lipídica com a membrana da célula alvo (células epiteliais e células B). Este processo requer o envolvimento de uma série de glicoproteínas virais (Kirschner, Omerovic, Popov, Longnecker, & Jardetzky, 2006). O EBV infeta linfócitos B e células epiteliais através de mecanismos distintos (Guidry, Birdwell, & Scott, 2017). A entrada do vírus nas células epiteliais é mediada por vias alternativas e independentes do complexo CD21. A maioria das células epiteliais são CD21 negativas ou expressam concentrações baixas de CD21 (Iizasa et al., 2012).

No caso das células epiteliais ocorre uma fusão do invólucro do vírus com a membrana plasmática celular e pode haver contato direto entre as membranas dos linfócitos B infetados com EBV com as células epiteliais não infetadas, permitindo a entrada do EBV nas células epiteliais (Stanfield & Luftig, 2017).

Segundo Iizasa et al., as partículas virais do EBV são revestidas com imunoglobulinas IgA específicas para as glicoproteínas virais 350/220 (gp 350/220) com especificidade para se ligar ao recetor polimérico de IgA. A forma IgA polimérica (pIgA), produzida pelas células plasmáticas na lâmina própria adjacente nas superfícies mucosas, está predominantemente presente em secreções como a saliva (Iizasa et al., 2012). A IgA produzida nas mucosas é transportada através da barreira epitelial adjacente, sendo este transporte mediado pelo recetor polimérico da imunoglobulina (PIGR). O PIGR encontra-se presente no epitélio da nasofaringe onde intervém no processo de endocitose do complexo IgA/EBV (Hirunsatit et al., 2003). A IgA liga-se ao componente secretor (SC), uma proteína transmembranar que se expressa nas superfícies basolaterias das células epiteliais polarizadas. O complexo EBV/IgA/SC faz parte da via endocítica das células epiteliais (Iizasa et al., 2012). Caso o epitélio perca a sua polaridade, ou haja uma mutação no PIGR, o processo de translocação viral pode ficar afetado e consequentemente causar infeção por EBV (Hirunsatit et al., 2003).

Alguns autores, como Stanfield & Luftig, sugerem outro modelo de fixação do EBV nas células epiteliais, através da interação entre uma proteína de membrana codificada pelo EBV (BMRF2) com as integrinas ($\beta 1$ e $\alpha 5\beta 1$) presentes nas células epiteliais polimerizadas (Stanfield & Luftig, 2017). Contudo, o BMRF2 não é exclusivamente necessário para que haja fusão entre o vírus e as células e, aparentemente, existem poucas moléculas de BMRF2 no virião EBV (Iizasa et al., 2012).

Por outro lado, Kikuchi, Inoue, Miyazaki & Ide, explicam que nas células epiteliais, a interação direta entre as glicoproteínas H e L (gH/gL) do EBV e as integrinas $\alpha v\beta 6$ e $\alpha v\beta 8$ pode favorecer uma via de fusão entre as células epiteliais com EBV (Kikuchi, Inoue, Miyazaki, & Ide, 2017).

No caso dos linfócitos B, existem glicoproteínas virais responsáveis pela ligação do vírus à membrana das células. A entrada nos linfócitos B requer que o vírus seja integrado na via endocítica da própria célula antes de haver a fusão das membranas. Este processo necessita de 5 glicoproteínas virais fundamentais (Stanfield & Luftig, 2017). Numa fase inicial, a ligação entre o EBV e a membrana das células B ocorre através das gp 350/220 do invólucro viral e o recetor celular CD21. As gp350 apresentam extrema afinidade com o recetor celular e induzem a via endocítica. Este processo permite que os linfócitos B sejam capturados pelo EBV (Kikuchi et al., 2017). A interação de gp350/220 com CD21 resulta na alteração das principais vias de sinalização das células (Stanfield & Luftig, 2017). Esta interação aumenta a eficácia de infeção do vírus (Kirschner et al., 2006).

As glicoproteínas da membrana do EBV gp42 ligam-se especificamente às “proteínas classe II do complexo principal de histocompatibilidade” (MHC) para desencadear o processo de fusão do virião na membrana das células B (Stanfield & Luftig, 2017).

As gH/gL e gB são elementos da fusão do herpesvírus com a membrana dos linfócitos B. Estas glicoproteínas são conservadas e servem uma função essencial entre quase todos os herpesvírus (Kirschner et al., 2006).

Após a via endocítica, o EBV entra nos linfócitos B e o virião é libertado no citoplasma. As proteínas virais do EBV são responsáveis por desregular o correto funcionamento da célula hospedeira. As células B possuem um complexo supressor Daxx/ATRX, cuja função é inibir a transcrição viral através da metilação das histonas, uma vez que após entrada no núcleo existe uma associação entre o DNA viral e as histonas. A proteína viral, BNRF1, liga-se à proteína celular Daxx e inibe a formação do complexo Daxx/ATRX. A expressão de genes virais precoces é favorecida quando ocorre interrupção do complexo, por intervenção da proteína BNRF1 (ver Figura 4) (Tsai, Thikmyanova, Wojcechowskyj, Delecluse, & Paul, 2011).

O modelo de replicação do EBV é semelhante aos restantes vírus da família *Herpesviridae*. O genoma do EBV contém genes que codificam para cerca de 100 proteínas virais, durante a replicação do vírus. Estas proteínas são responsáveis pela regulação da transcrição dos genes virais; pela replicação do DNA viral; pela codificação dos genes estruturais da partícula viral (virião) e pela alteração da resposta imunitária do hospedeiro. O EBV é responsável pela desregulação de múltiplas proteínas do hospedeiro que fazem a regulação da apoptose e mantém a proliferação celular (Kikuchi et al., 2017).

A infeção das células epiteliais através do vírus Epstein-Barr origina uma replicação ativa, com a constante produção do vírus e consequente lise celular. No entanto, quando os linfócitos B são infetados pelo EBV, o resultado é uma infeção latente. Após a infeção das células B, o genoma linear EBV fica numa forma circular, permanecendo latente nas células linfocíticas. Das células B infetadas latentemente pelo EBV, apenas uma pequena percentagem vai ativar espontaneamente a replicação viral do EBV (Cohen, 2000).

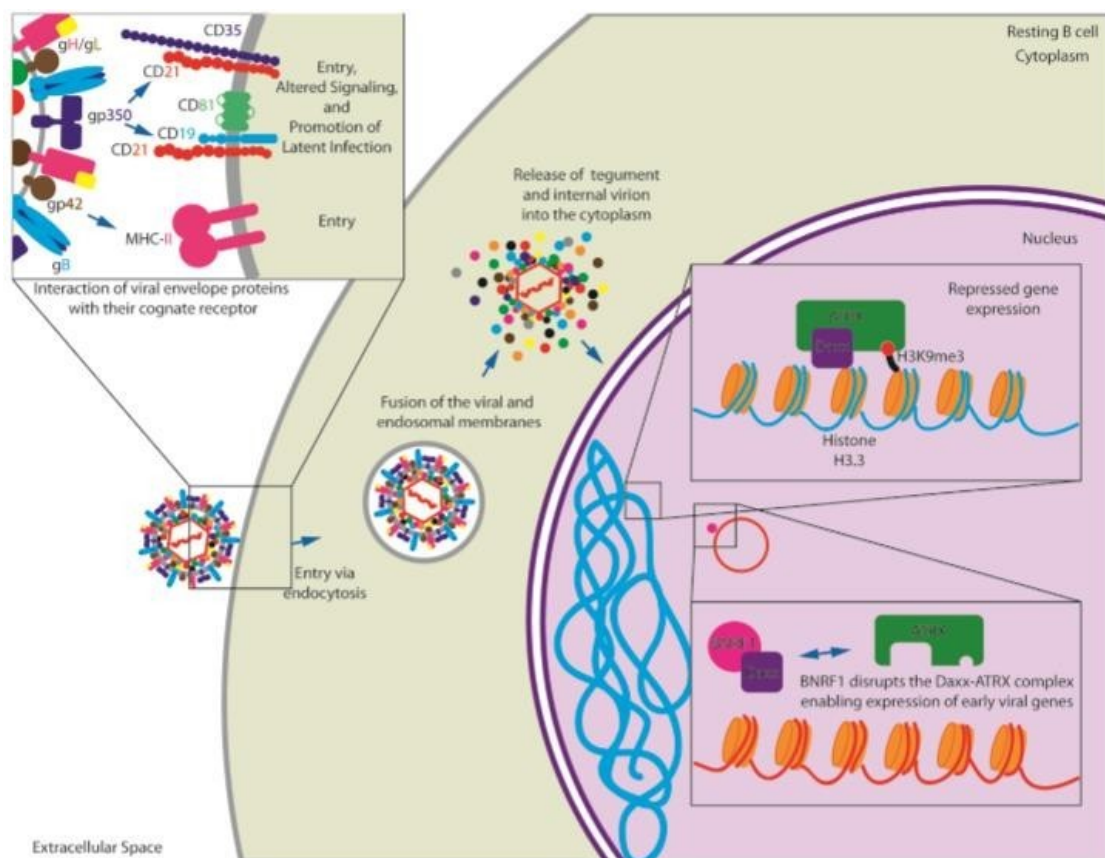


Figura 4 – Esquematização das fases iniciais da infecção do vírus Epstein-Barr (EBV). A glicoproteína viral 42 (gp42) liga-se ao recetor da superfície dos linfócitos B, as “proteínas classe II do complexo principal de histocompatibilidade” (MHC), para iniciar a entrada do vírus na célula. Em simultâneo, a gp350 liga-se ao recetor celular CD21. Esta interação vai modificar a sinalização da própria célula. Após endocitose, as proteínas são libertadas para o citoplasma das células B. Uma das proteínas, BNRF1, liga-se ao complexo repressor Daxx/ATRAX, favorecendo a expressão de genes virais (Stanfield & Luftig, 2017).

A infecção por EBV inicia-se na mucosa oral, geralmente por contacto com secreções orais. A orofaringe é o principal foco de infecção e é onde ocorre a replicação do vírus. No entanto, a cavidade oral é o principal local de transmissão e persistência do EBV. O processo de replicação nas células epiteliais é, normalmente, um ciclo lítico, o vírus passa a dominar o metabolismo da célula, levando à lise celular. Contudo, as infecções latentes das células epiteliais podem desencadear carcinoma gástrico ou carcinoma da nasofaringe. Após a replicação no epitélio, o vírus continua o seu ciclo de replicação ou maturação nas células linfocíticas (Stanfield & Luftig, 2017). O ciclo de replicação do EBV envolve dois compartimentos: o sangue periférico e a cavidade oral. Os linfócitos B de memória infetados latentemente pelo EBV circulam no sangue periférico

(Baumforth et al., 1999). Os linfócitos B infectados por EBV, presentes nos tecidos periodontais, nas glândulas salivares e nas amígdalas, desempenham um papel importante na saída dos viriões na cavidade oral através da saliva. (ver Figura 5)

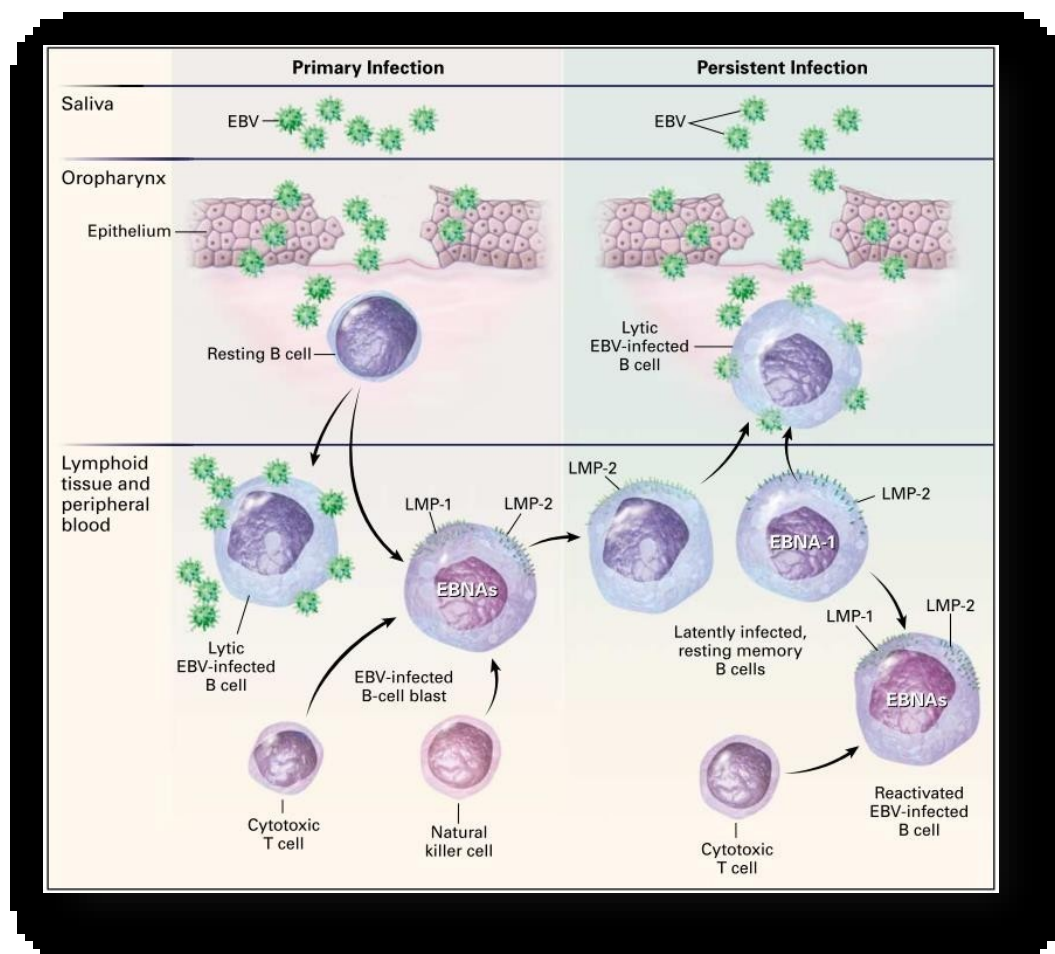


Figura 5 – Infecção do Vírus Epstein-Barr. Na orofaringe, o EBV tanto infeta diretamente as células B como infeta células epiteliais. Durante a infecção primária, as células B infectadas pelo vírus sofrem sucessivas infecções líticas, nas quais o vírus tem total controle sobre o metabolismo das células, resultando na replicação do vírus ou na expressão de proteínas virais latentes. As células infectadas são reguladas pelas células “Natural Killer” e pelas células T citotóxicas. O EBV está presente no sangue periférico, através das células B de memória infectadas, que são responsáveis pela expressão de antígenos nucleares de EBV (EBNA) e proteínas de membrana (LMP). Estas células podem, espontaneamente, sofrer reativação de EBV e dar origem a proteínas virais que são identificadas pelas células T citotóxicas sofrem destruição celular. Alguns linfócitos B infectados sofrem replicação lítica na orofaringe, resultando na replicação do vírus e consequente libertação para a saliva ou infecção de novas células epiteliais (Cohen, 2000).

2.2.1. Mecanismo de carcinogénese

O mecanismo de carcinogénese do EBV sobre as células difere entre cada patologia maligna associada com o vírus, apesar de apresentarem algumas características comuns

entre si. Em todas as neoplasias associadas ao EBV, o vírus encontra-se na fase latente. A infecção latente do vírus possibilita a codificação de oncogenes virais, impossibilitando o reconhecimento das partículas virais por parte do sistema imunitário do hospedeiro, durante a fase de replicação do vírus (Palareti et al., 2016).

As células B de memória são responsáveis pela manutenção e replicação do genoma viral. Diferentes estádios de latência expressam genes latentes restritos e podem ser observados nas diversas fases de diferenciação das células B (ver Tabela 1) (Guidry et al., 2017).

Tabela 1 - Expressão dos genes latentes do EBV nos vários períodos de latência e nas diferentes fases de diferenciação das células B (Guidry et al., 2017).

<i>EBV gene expression program</i>	<i>Cell compartment</i>	<i>Phenotype</i>	<i>EBV genes expressed</i>	<i>Associated diseases</i>
Latency III	Naïve B cells	EBV-induced B-cell growth and survival B-cell immortalization	EBNA1, 2, 3A,3B, 3C and EBNA LP LMP1, 2A, 2B EBV BART EBV miRNAs EBER 1 and 2	DLBCL, PTLTD, IM
Latency II	Germinal center B cells	B-cell survival	EBNA1 LMP1, 2A, 2B EBV BARTs EBV miRNAs EBER 1 and 2	DLBCL, HL, NPC and GC
Latency I	Dividing memory B cells	EBV episome maintenance	EBNA1 EBV BARTs EBV miRNAs EBER 1 and 2	BL
Latency 0	Non-dividing memory B cells	Quiescent state	None	
Lytic	Plasma B cells, epithelial cells	Viral replication	All viral genes in an ordered cascade of viral gene expression	OHL

A fim de conservar a integridade do genoma viral, é crucial a manutenção das proteínas virais no núcleo das células durante a fase de latência. Estas proteínas participam no crescimento e transformação dos linfócitos B, na preservação do ciclo de replicação viral e na manipulação dos diversos mecanismos biológicos de regulação das células hospedeiras (Skinner, Ivanov, Barr, Chen, & Skalsky, 2017). O EBV estabelece a expressão de proteínas de membrana latente (LMP1, LMP-2A, LMP-2B) e alguns antígenos (EBNA-1, EBNA-2, EBNA-3A, EBNA-3B, EBNA-3C) que interagem com proteínas chaves do ciclo celular, da apoptose e resposta do sistema imunitário, levando à proliferação das células neoplásicas. Os antígenos latentes codificados pelo EBV interferem com uma série de processos celulares, conduzindo à carcinogênese (Rowe, Fitzsimmons, & Bell, 2014).

Depois de induzir uma infecção, o EBV estabelece 3 fases de latência. Os diferentes padrões de latência estão associados a alguns tipos de câncros (Feederle & Tanriere, 2007). A fase de latência I é especialmente observada nos linfomas de Burkitt e nos carcinomas gástricos, no qual a expressão do antígeno nuclear EBV (EBNA-1) é predominante. A fase de latência II é caracterizada pela expressão de genes EBNA-1 e proteínas de membrana latente LMP 1 e 2. Surge, principalmente, nos linfomas de Hodgkin (LH) e carcinomas da nasofaringe (NPC). No caso da fase de latência III não existe predominância da expressão dos genes. A regulação genética ocorre a partir de um promotor diferente, resultando na expressão das várias proteínas. O antígeno nuclear EBNA-2 é a primeira proteína latente a ser detectada após a infecção por EBV: é um co-ativador da transcrição genética viral no estágio de latência III e de muitos genes celulares, desempenhando um papel fundamental na imortalidade celular. Esta fase encontra-se sobretudo nos tumores linfoblastoides induzidas pelo EBV, nas complicações linfoproliferativas pós-transplantes associadas à infecção por EBV e na mononucleose infecciosa (Grywalska & Rolinski, 2015).

O EBV incorpora vários mecanismos que permitem manter o seu genoma viral nas células epiteliais e linfócitos B; evitar que seja destruído por mecanismos celulares e prevenir que a célula infetada seja reconhecida pelo sistema imunitário. A infecção latente por EBV tem início com a entrada do genoma viral no núcleo das células B, onde persiste, quer como múltiplas cópias de epissomas circulares ou integrados, quer como DNA viral no genoma do hospedeiro. Desta forma, o vírus assegura a sua transmissão para as células descendentes, quando os linfócitos B se replicam (Damania, 2006).

Um dos principais mecanismos carcinogénicos do EBV é a sua capacidade de desregular o crescimento das células B e induzir uma transformação constante no seu crescimento. O crescimento neoplásico causado pelo EBV é demonstrado pela linfoproliferação de células B em pacientes imunocomprometidos (Pagano et al., 2004).

A infecção latente do EBV favorece o aparecimento de vários oncogenes (bcl-2, bcl-10, c-fgr) capazes de induzir a formação de tumores e alguns antígenos nucleares (EBNA-1, EBNA-2, EBNA-3A, EBNA-3C, LMP1) demonstram possuir propriedades oncogénicas. Estas proteínas latentes são essenciais para a transformação e imortalização das linhas celulares linfoblastoides. Além destas características oncogénicas, existe um antígeno nuclear EBV (EBNA-LP) responsável por interferir com as funções do p53 e pRb, levando à desregulação do ciclo celular (Rosenblatt, Rachmiel, & Goldenberg, 2001).

O EBV tem a capacidade de codificar proteínas virais com um potencial de transformação (ver Tabela 2). O LMP1 é fundamental para assegurar a permanência do vírus nas células B, este possui vários domínios transmembranares que vão interagir com recetores do fator tumoral (TRAFs). A interação entre o LMP1 com TRAFs resulta num aumento significativo da expressão do fator nuclear κ B (NF- κ B) em células epiteliais e linfócitos B. O LMP1 também é responsável pela expressão de diversos genes anti-apoptóticos. Por outro lado, o LMP2 demonstrou obstruir a sinalização do recetor das células B, inibindo a ativação deste recetor. Outros genes virais, como o EBNA-2 e o EBNA-3, mostram possuir um potencial de transformação. Também é importante realçar o papel do EBNA-3C, este pode interagir diretamente com a proteína supressora de tumor, inativando-a e promovendo consequentemente a progressão tumoral, ou seja, o EBNA-3C promove a proliferação das células neoplásicas e a modulação da expressão dos genes em células B infetadas por EBV (Damania, 2006).

Tanto o LMP1 como o LMP2 são expressos em diversos cancros associados com o EBV. Uma imunoterapia direcionada especificamente para as proteínas virais latentes ou uma inibição das vias de sinalização essenciais à ativação destas proteínas, pode tornar-se num tratamento eficaz na redução da transformação das células B por infeção de EBV e na formação de células neoplásicas (Pagano et al., 2004). A inibição do fator nuclear (NF- κ B) em células B infetadas pelo EBV estimula a apoptose celular em linfócitos B infetados, sugerindo que o fator nuclear é crucial para a modulação do crescimento dos tumores (Ren, Sato, Muro, Furukawa, & Yoshizaki, 2004).

Tabela 2 – Funções dos genes codificados pelo EBV na oncogênese (Kikuchi et al., 2017)

Genes latentes	Função do gene latente
<i>EBNA-1</i>	Ativação de genes latentes virais e de genes do hospedeiro; responsável pela replicação do episome e persistência do genoma viral; comprometido na degradação p53 e no processo de oncogênese
<i>EBNA-LP</i>	Co-ativador de transcrição do EBNA-2, fundamental para transformação de células B mediadas por EBV
<i>EBNA-2</i>	Primeira proteína latente a ser detetada após a infecção por EBV encarregada de ativar a transcrição de genes virais e celulares essenciais para a transformação de células B
<i>EBNA-3A</i>	É um co-ativador de EBNA-2; desregula a transcrição do c-Myc; induz a formação de CDKN2 e quimiocinas e possui potencial de transformação das células B mediadas por EBV
<i>EBNA-3B</i>	Co-ativador de transcrição do EBNA-2 e supressor de tumor viral, embora seja dispensável para a transformação de células B
<i>EBNA-3C</i>	É fulcral para a transformação de células B, promove a proliferação celular e é um co-ativador do EBNA-2
<i>LMP-1</i>	Estimula o fator nuclear κ B (NF- κ B), JNK e p38, é um importante oncogene codificado pelo EBV fundamental para assegurar a imortalização do vírus nas células B e expressão de diversos genes anti-apoptóticos
<i>LMP-2A</i>	É importante, mas não essencial, para a transformação e crescimento de células B, inibe a diferenciação celular, promove a propagação das células, estimula a motricidade das células epiteliais e aumenta os níveis de células tumorais
<i>EBER</i>	Moléculas de RNA mais abundantes do EBV em células latentes infectadas, estimula o crescimento celular e aumenta o número de formação de colônias, confere resistência celular à apoptose, produz citocinas e modula a imunidade inata do hospedeiro, a ativação de RIG-I mediada por EBER, possivelmente, contribui para a oncogênese do EBV
<i>miRNAs</i>	Fundamental para a sustentabilidade da fase latente nas células infectadas, BHRF miRNA e BART miRNA interferem na apoptose celular

2.2.2. Resposta Imunológica

A grande parte dos estudos que descrevem a ação imunológica perante a infecção do EBV decorram em pacientes com mononucleose infecciosa (Tangye, Palendira, & Edwards, 2017).

A resposta da imunidade inata do indivíduo, mediada pelas células “Natural Killer” (NK), ocorre durante a infecção primária do EBV. Estudos demonstram uma relação, tanto positiva como negativa, entre os níveis de células NK e a severidade dos sintomas e com

a carga do EBV em pacientes com mononucleose infecciosa (Balfour, Dunmire, & Hogquist, 2015).

Todavia, um número considerável de estudos suporta a ideia de que as células NK possuem funções anti-EBV na imunidade inata. As células NK, que são ativadas pelos linfócitos B infectados pelo vírus, apresentam a capacidade de minimizar o potencial de crescimento de células B mediadas pelo EBV (Tangye et al., 2017). As células NK contribuem para o controlo de linfócitos B infectados pelo EBV através da citólise das células infectadas ou bloqueio da via de transformação pela produção do interferão- γ (Balfour et al., 2015).

Desta forma, o insucesso no controlo viral precoce, por parte das células NK, pode favorecer o aparecimento da mononucleose infecciosa (Chung et al., 2013). O papel das células NK contra o EBV é realçado pelo facto de o vírus dispor de um mecanismo que suprime a ativação das células NK durante a replicação.

Por outro lado, a infeção primária de EBV em pacientes com mononucleose infecciosa é caracterizada pelo aumento considerável dos níveis de células T citotóxicas ($CD8^+$) no sangue periférico, em comparação com indivíduos assintomáticos (Tangye et al., 2017). Muitas destas células são específicas para os antígenos de EBV, derivados dos estádios precoces e iniciais do ciclo lítico. Os antígenos tardios da infeção lítica geram uma resposta característica das células T $CD8^+$. Para além das proteínas codificadas pelo EBV na fase lítica, as células $CD8^+$, de igual forma, respondem a antígenos latentes, especialmente EBNA-2 e EBNA-3. Desta forma, a resposta das células T é dirigida tanto para as infeções líticas, como para as infeções latentes (Balfour et al., 2015).

2.2.3. Prevenção

Apesar de existirem vacinas para a prevenção das infeções virais como a hepatite B e o vírus do papiloma humano, que são fatores etiológicos de carcinoma hepatocelular e carcinoma cervical (Cohen, Fauci, Varmus, & Nabel, 2012), até ao momento, não existe no mercado uma vacina capaz de prevenir eficazmente a infeção de EBV e de doenças associadas a este vírus. (Servat et al., 2015).

Uma procura constante de uma solução para impedir as patologias mediadas pelo EBV tem vindo a aumentar, gradualmente, nos últimos anos. Sabe-se que neoplasias malignas associadas ao vírus são responsáveis pela morte de aproximadamente 143.000 indivíduos por ano, sendo que os carcinomas gástricos e os carcinomas da nasofaringe são os que mais contribuem para esse número. O Instituto Nacional de Saúde (NIH) nos EUA propôs

que os ensaios clínicos se deviam focar, mormente, na prevenção da mononucleose infecciosa e nas malignidades associadas com EBV (Ozoya, Sokol, & Dalia, 2016).

A maioria das pesquisas e evolução das vacinas para a prevenção da infecção EBV e das doenças relacionadas com o vírus está focada, sobretudo, na glicoproteína viral 350 (gp350). Esta glicoproteína é a mais abundante, não só no vírus, como também nas células infetadas pelo EBV (Cohen et al., 2012).

Cohen sugeriu uma terapia em alternativa à vacina com base na gp350, destacando-se em “polipéptidos não estruturais” como o BHRF (fator de crescimento de leucemia de células B). No entanto, requerem-se mais estudos detalhados e uma avaliação da ação direta nas neoplasias malignas mediadas pelo EBV (Cohen, 2015).

O primeiro ensaio clínico em crianças, usando vacinas para neutralizar a ação da gp350, foi concretizado na China. A vacina tinha como função induzir um aumento na produção e na eficiência dos anticorpos em resposta ao gp350 (Cohen, 2015; Servat et al., 2015). Porém, este estudo provou ter pouca eficácia na prevenção da infecção EBV assintomática. Em contrapartida, esta vacina foi responsável pela redução considerável da incidência da mononucleose infecciosa nos indivíduos (Sokal et al., 2007). A partir deste estudo, o mecanismo de ação e a eficácia da vacina, com base na gp350, permanece inconstante contra o combate da infecção do EBV, ainda assim, a vacina continua a ser produzida e aperfeiçoada (Cohen et al., 2012).

Por outro lado, têm sido desenvolvidas outras soluções terapêuticas para minimizar as patologias associadas ao EBV. Um dos princípios fundamentais destas imunoterapias é estimular a produtividade e rendimento da imunidade das células T perante as proteínas virais do EBV expressas nos diversos tumores, essencialmente, contra os genes latentes do EBV (EBNAs) e proteínas da membrana latente (LMPs) (Cohen, 2015).

Além disso, uma vacina que conseguisse prevenir ou atenuar a infecção por EBV poderia ter um benefício clínico significativo, sobretudo, em pacientes submetidos a transplantes de órgãos ou em doenças imunodepressoras (Sokal et al., 2007). A vacinação contra o EBV pode diminuir a prevalência da infecção latente do EBV na população e, consequentemente, evitar o desenvolvimento de doenças associadas ao EBV (Ozoya et al., 2016).

2.2.4. Epidemiologia

O EBV é um vírus latente capaz de permanecer longos períodos inativos: é um herpesvírus que está presente em quase todos os países e os estudos epidemiológicos

indicam que cerca de 95% da população adulta, nos países desenvolvidos, está infetada ou já esteve em contato com o vírus (Kikuchi et al., 2017). A infeção por EBV tem sido associada a um largo espectro de tumores malignos com origem distintas, desde linfáticos a epiteliais. Mundialmente, o EBV representa 1,8% das mortes relacionadas com o cancro (Stanfield & Luftig, 2017).

Nos Estados Unidos, o linfoma Hodgkin, o linfoma de não Hodgkin e o carcinoma da nasofaringe são as patologias malignas mais associadas ao EBV. Entretanto, na China, a taxa de incidência do carcinoma da nasofaringe relacionado com o EBV é de 50 em cada 100.000 homens com idade superior aos 50 anos. O linfoma de Burkitt-EBV positivo é o tumor mais comum nas crianças da África equatorial e na Nova Guiné, enquanto os carcinomas gástricos são predominantes nas regiões do Sudoeste Asiático, Europa do Leste e América do Sul com cerca de 1 milhão de novos casos, anualmente (Cohen et al., 2012).

Após o primeiro contacto com o EBV, o indivíduo permanece portador do vírus durante toda a vida. A infeção primária da orofaringe, normalmente, inicia-se na infância e na adolescência e é geralmente assintomático (Palareti et al., 2016).

Segundo Tangye et al., as manifestações clínicas da infeção primária do vírus Epstein-Barr dependem da condição imunitária e da idade do hospedeiro (Tangye et al., 2017). Outros fatores como doenças infecciosas, uso de drogas ou transplante de órgãos podem levar à reativação do vírus (Kikuchi et al., 2015).

Existem 2 tipos de EBV que infetam a população humana, o EBV tipo 1 (EBV1) e o EBV tipo 2 (EBV2). Estes são geneticamente diferentes e distinguem-se um do outro pelo polimorfismo de genes que vão codificar antigénios nucleares distintos EBNA-2, EBNA-3A, 3B e 3C. A prevalência da infeção por EBV1 e por EBV2 difere de acordo com a localização geográfica: a infeção pelo EBV1 ocorre com maior incidência na Europa e na América do Norte (populações caucasianas e asiáticas), enquanto o EBV2 tem maior prevalência na África e na Oceânia (Baumforth et al., 1999).

Ambos os subtipos de EBV podem agir como agentes patogénicos em humanos, todavia, o EBV1 possui um poder oncológico superior ao EBV2, executando um papel fundamental na patogénese do carcinoma da nasofaringe (Khammissa, Fourie, Chandran, Lemmer, & Feller, 2016). Em contrapartida, alguns estudos demonstram que o EBV2 é predominante em pessoas saudáveis, ao passo que o EBV1 foi identificado com alguma frequência entre pacientes com HIV (Jakovljevic et al., 2015).

A reativação periódica do vírus resulta na passagem dos viriões para a saliva e os portadores assintomáticos, frequentemente, transmitem assim o vírus para indivíduos não infectados. No Japão, pretendeu-se avaliar a prevalência do vírus Epstein-Barr na população, através de “throat washings”. Através deste método, foi detetado o DNA do EBV em cerca de 90% de adultos saudáveis (21-75 anos) e em 38% da saliva de crianças saudáveis com idade dos 0 a 6 anos (Ikuta, Satoh, Hoshikawa, & Sairenji, 2000).

A saliva é responsável, em grande parte, pela transmissão do vírus. O EBV pode ser transmitido, de uma forma mais direta, através de secreções orais “beijo”, ou de uma forma indireta, por resíduos salivares deixados em copos, objetos ou comida. Embora menos comum, a infeção por EBV pode ser transmitida através de transfusão sanguínea, de transplante renal, hepático, de medula óssea, ou de coração e na amamentação (Baumforth et al., 1999; Slots et al., 2006).

2.3. Saliva

A saliva é uma substância muito complexa que desempenha algumas funções orais e tem um papel importante na manutenção e reparação dos constituintes da cavidade oral, funcionando como um protetor dos tecidos moles e duros. Quando os níveis salivares se encontram abaixo do normal, há um maior risco de se desenvolver infeção oral (Edgar & Thornhill, 2015).

A saliva é um fluído aquoso composto por água, eletrólitos (que incluem potássio, bicarbonato, sódio, cálcio, magnésio e fosfato), proteínas, imunoglobulinas e enzimas. As interações destes elementos são responsáveis pelas inúmeras funções atribuídas à saliva. Estas funções podem ser organizados em grupos, incluindo: (1) ação antiviral, antibacteriana, antifúngica, ação imunológica (presença de imunoglobulinas salivares); (2) lubrificação e proteção da cavidade oral (as glândulas salivares mantêm um fluxo salivar contínuo, lubrificando a mucosa oral e fazendo com que a cavidade permaneça húmida); (3) capacidade tampão e regulação do pH; (4) auxílio na formação do bolo alimentar, deglutição e digestão; e (5) controlo do processo de desmineralização e remineralização do dente (Humphrey & Williamson, 2001).

A saliva produzida é secretada para a cavidade oral através das “glândulas salivares major” (sublingual, submandibular e parótida), sendo estas responsáveis por cerca de 90% da produção total da saliva, o restante é produzido pelas numerosas “glândulas salivares minor” que se encontram distribuídas pela cavidade oral (ver Figura 5). A

secreção salivar é regulada pelo sistema nervoso autónomo (Sistema Nervoso Simpático e o Sistema Nervoso Parassimpático) (Carpenter, 2013; Castagnola et al., 2011).

Num indivíduo em repouso, as glândulas submandibulares produzem a maior parte da saliva total, cerca de 60-65%, e esta excreção é mista (mucosa e serosa). As glândulas sublinguais produzem aproximadamente 10% da saliva e a sua secreção é também mista, mas com predominância de mucosa. Por fim, a parótida é responsável pela produção de 20-25% da saliva e a sua excreção é sobretudo serosa. Contudo, quando existe estimulação salivar, a parótida possui um papel preponderante, passando a produzir aproximadamente 50-70% da saliva total (Humphrey & Williamson, 2001).

A saliva produzida por um indivíduo saudável varia entre os 0,5 a 1,5 litros, ainda assim, são muitos os estímulos que podem influenciar a secreção salivar: idade, exercício físico, nutrição, álcool, tabaco, doenças imunológicas, estado hormonal, estimulação visual e gustativa, entre outros. O pH da saliva compreende valores entre 6 a 7, contudo, este sofre constantes alterações. Quando há um aumento das concentrações de dióxido de carbono, o pH da saliva diminui e esta torna-se mais ácida, quando o inverso ocorre e os valores de dióxido de carbono diminuem, o pH torna-se mais básico. Para manter os valores do pH dentro dos padrões normais, o organismo possui um sistema tampão que permite manter os valores constantes. Isto ocorre porque a saliva contém iões como bicarbonato que interage com o meio e regula o pH da saliva (Carpenter, 2013; Edgar & Thornhill, 2015).

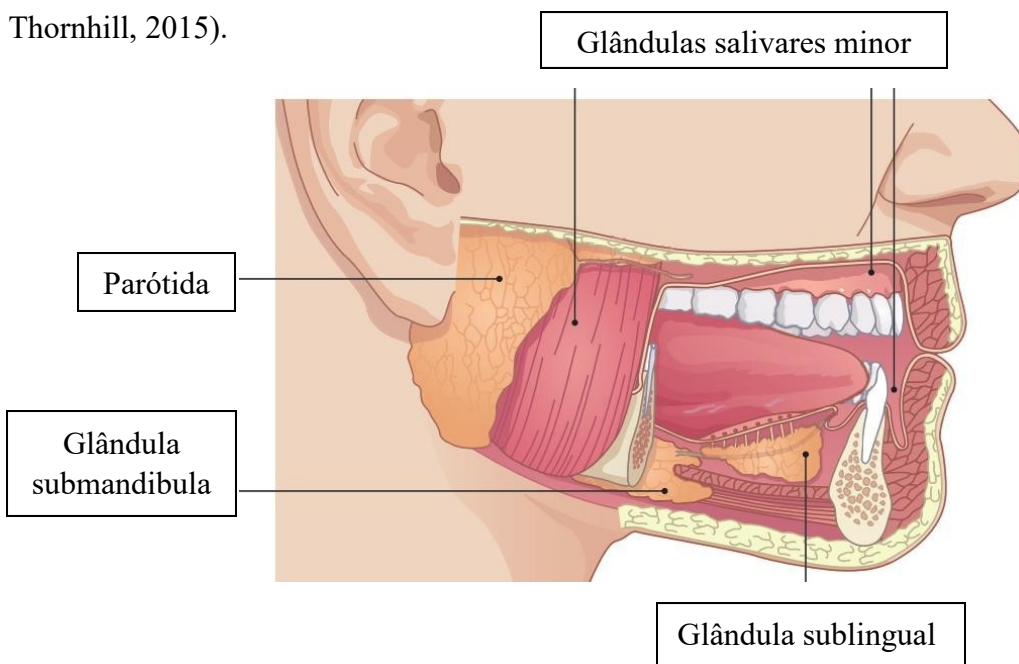


Figura 6 – Localização das Glândulas Salivares (Edgar & Thornhill, 2015).

Cada vez mais, os laboratórios e as diversas áreas de pesquisa estão a utilizar a saliva como meio diagnóstico, monitorização, tratamento e prevenção de doenças locais e sistêmicas (Wong, 2006). Para a realização dos diversos estudos são necessárias pequenas quantidades de saliva. As amostras salivares permitem analisar a reação do organismo perante um determinado fármaco, o estado emocional, hormonal, a condição imunológica e neurológica. Atualmente, a saliva é auxiliar no diagnóstico de doenças orais (que incluem cárie dentária, doença periodontal, disfunção das glândulas salivares, entre outros) e são cada vez mais os estudos que mostram que a saliva tem potencial no diagnóstico e na monitorização de doenças neoplásicas (linfomas e carcinomas da cabeça e do pescoço), infeções virais, doenças bacterianas (tuberculose), doenças cardiovasculares, doenças metabólicas (úlceras gástricas) e doenças autoimunes (esclerose sistémica, síndrome Sjogren) (Humphrey & Williamson, 2001).

A resposta imunitária do organismo contra uma infeção, na cavidade oral, é um processo complexo, envolvendo diferentes mecanismos. Inicialmente, o sistema imunológico inato é considerado como primeira linha de defesa não específica contra bactérias e vírus. O aumento das citocinas controladas pelas células T auxiliares e a produção de anticorpos específicos contra antígenos das várias infeções são as respostas imunitárias específicas reguladas pelo sistema imunológico adaptativo. Por fim, quando há reincidência do mesmo agente patogénico, as células B de memória, encarregues da resposta secundária, permitem uma ação mais eficaz e rápida contra a infeção. Desta forma, a presença de anticorpos específicos em resposta a uma determinada infeção pode ser usada como uma ferramenta de diagnóstico (Corstjens et al., 2016).

A saliva constitui um meio de diagnóstico favorável, visto que existe uma ligação direta entre os constituintes da saliva e do sangue, já que a maioria dos biomarcadores presentes na urina e no sangue estão presentes na saliva, embora em menores concentrações. Trata-se de uma recolha simples, de um processo não invasivo e indolor, que não provoca desconforto ao paciente e onde não há risco de contrair agentes patogénicos (Castagnola et al., 2011).

Segundo Rahim et al., apesar de a recolha de saliva ser um processo simples, mais segura e de baixos custos, em casos de lesão da cavidade oral, as amostras podem ser contaminadas com sangue (Rahim, Abdul Rahim, Wan Ahmad, & Hashim, 2015).

A saliva tem-se tornado, gradualmente, num meio auxiliar e de monitorização do estado de saúde do indivíduo (Castagnola et al., 2011; Edgar & Thornhill, 2015). Por isso, a utilização de testes, usando os fluídos orais como meio de diagnóstico de doenças virais

e bacterianas, tem aumentando exponencialmente, o que tem levado a um investimento cada vez maior em novas e mais eficazes técnicas de recolha, conservação e diagnóstico das doenças (Corstjens et al., 2016).

Em suma, o objetivo principal do diagnóstico salivar é a prevenção da doença e promoção da saúde geral, através de processos não invasivos que consigam uma monitorização eficaz da saúde e do aparecimento e proliferação da doença.

A saliva desempenha um papel preponderante na defesa do organismo contra determinadas infeções virais, para além da sua função no controlo da disseminação das bactérias na mucosa oral juntamente com o sistema de imunidade inata presente na cavidade oral (Castagnola et al., 2011). A maioria das biomoléculas presentes na saliva possui propriedades antivirais para vírus específicos (ver Tabela 3) e antimicrobianos, ou seja, os anticorpos essenciais para a inibição da generalidade dos agentes infecciosos, que estão presentes na mucosa oral e podem ser detetados na saliva (Corstjens et al., 2016).

Wong acredita que são necessários pelo menos três requisitos para a identificação de doenças orais e sistémicas:

- Recorrer a biomarcadores específicos para determinar o estado de saúde ou doença num indivíduo;
- Existência de uma abordagem não invasiva para detetar e monitorizar os biomarcadores;
- Tecnologias sensivelmente eficazes para discriminar os diversos biomarcadores-

(Wong, 2006)

Corstjens et al., sugeriu a recolha de amostras salivares no consultório do médico dentista na presença de sintomas e sinais patognomónicos ou em casos solicitados pelo paciente. Estas amostras seriam enviadas para um laboratório a fim de serem analisados e realizados testes de sensibilidade elevada para deteção de ácidos nucleicos virais. Em alternativa, a realização de testes mais práticos e rápidos para a deteção de anticorpos orais em ambulatório (Corstjens et al., 2016).

Tabela 3 – Exemplos de infecções virais detetados pelos fluídos orais (Corstjens et al., 2016).

Vírus	Doenças Malignas	Principal Meio de Transmissão	Células Infetadas
Vírus Epstein-Barr (EBV)	Mononucleose Infeciosa, Leucoplasia Oral Pilosa, Carcinoma da Nasofaringe	Saliva	Linfócitos B e Células epiteliais
Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV)	SIDA	Sexualmente transmitida	Macrófagos e Linfócitos T CD4 ⁺
Vírus do Papiloma Humano (HPV)	Cancros da cabeça e do pescoço, Verrugas anogenitais	Sexualmente transmitida	Queratinócitos, Células epiteliais da pele e mucosa
Herpes do Herpes Simplex	Herpes Labial e Genital	Fluídos corporais	Neurónios
Hepatite C	Cirrose Hepática	Sangue	Hepatócitos
Norovírus	Gastroenterite aguda	Resíduos alimentares contaminados	Macrófagos e Células de dendríticas
Vírus da Raiva	Encefalite aguda	Mordida de animal (saliva)	Células musculares e nervosas

2.4. Manifestações clínicas

O vírus Epstein-Barr é o fator etiológico de doenças como a mononucleose infecciosa e a leucoplasia oral pilosa (Palareti et al., 2016). O EBV tem sido associado a um número considerado de linfomas e lesões epiteliais malignas, sobretudo na cavidade oral e noutras regiões anatómicas (Guidry et al., 2017). O EBV foi, originalmente, descoberto através do Linfoma de Burkitt, mas desde então tem havido uma associação do vírus a várias patologias malignas, tais como o linfoma de Hodgkin, o carcinoma da nasofaringe, o carcinoma gástrico e o carcinoma epidermoide da orofaringe (Guidry et al., 2017).

Uma das principais características que distingue o EBV dos restantes vírus é a capacidade que este tem de infetar vários tipos de células. Vários estudos demonstram que o EBV está relacionado com diversos cancros, inclusive alguns derivados de células

hematopoiéticas, células epiteliais e, preferencialmente, linfócitos B (Grywalska & Rolinski, 2015). Em 1997, a Organização Mundial de Saúde (OMS) classificou o EBV como um vírus tumoral, devido à diversidade de tumores associados a este (Feederle & Taniere, 2007).

Ainda não se sabe, com total certeza, qual o papel que o EBV desempenha na carcinogênese da mucosa oral, não obstante, Kikuchi et al., tentou esclarecer o papel do EBV na carcinogênese da cavidade oral, analisando o epitélio normal, a displasia epitelial e o carcinoma oral das células escamosas. Kikuchi et al., detetou, ainda, a presença de genes de infecção latente, os antígenos nucleares de EBV (EBNA) e as proteínas de membrana latente (LMP), não só no carcinoma oral das células escamosas, como também na displasia epitelial severa, na gengivite e na mucosa saudável. Estes resultados sugerem que a presença dos genes de infecção latente na displasia epitelial, podem desempenhar um papel crucial no desenrolar das doenças malignas na cavidade oral. (Kikuchi et al., 2015)

Segundo Harris & Harris, o EBV está casualmente ligado com desordens neurológicas como a esclerose múltipla, mielite e encefalite. Apesar da informação entre a associação do EBV e a doença de Alzheimer ser limitada, Harris & Harris consideram que o vírus Epstein-Barr possa ser um fator de desenvolvimento da doença de Alzheimer (Harris & Harris, 2015).

No caso de indivíduos imunodeprimidos, pacientes prestes a receber um transplante, ou com Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (SIDA), existe um risco acrescido de desenvolver doenças malignas associadas ao EBV (Guidry et al., 2017), sobretudo doenças linfoproliferativas como leucoplasia oral pilosa, doença linfoproliferativa pós-transplante (DLPT) e linfomas das células B e T (Skinner et al., 2017). A maioria dos indivíduos que estão infetados pelo EBV não apresenta qualquer patologia. No entanto, as neoplasias malignas associadas ao EBV surgem como uma das principais causas de cancro em pessoas com imunodeficiência (Cesarman, 2014).

Em pacientes infetados com vírus da imunodeficiência humana, 90% dos linfomas Hodgkin e cerca de 50% dos linfomas de Burkitt são EBV positivos. Embora haja uma melhoria significativa da infecção HIV nos indivíduos tratados com antirretrovirais, o que contribui para o aumento da esperança média de vida e redução dos tumores associados com o vírus, as taxas de incidência de tumores malignos EBV positivos (linfoma de Burkitt e linfoma Hodgkin), neste grupo de pacientes, não tem vindo a diminuir (Cohen et al., 2012).

241. Mononucleose infecciosa

Em 1968, o EBV foi associado pela primeira vez à mononucleose infecciosa (IM) como sendo o seu principal fator etiológico (Slots et al., 2006). Pelo menos 125.000 novos casos de IM são anualmente identificados nos EUA e cerca de 200.000 novos casos de neoplasias malignas relacionados com EBV são mencionados todos os anos (Cohen et al., 2012).

A mononucleose infecciosa é uma doença autolimitada e linfoproliferativa, porém geralmente benigna, que ocorre especialmente em adolescentes e jovens adultos. O período de incubação da mononucleose infecciosa varia entre 32 a 49 dias (Balfour et al., 2015). A infecção primária do EBV é normalmente assintomática durante a adolescência, no entanto, alguns adolescentes na Europa e nos Estados Unidos exibem sintomatologia de mononucleose infecciosa no primeiro contato com EBV. O EBV replica-se nas células epiteliais de mucosa oral, especialmente em pacientes com mononucleose infecciosa (Ikuta et al., 2000).

Um estudo de coorte realizado por Hjalgrim et al., tentou demonstrar se existia uma associação entre a mononucleose infecciosa, que é causada pelo vírus Epstein-Barr, com diversos cânceres. Este estudo mostrou que pacientes com mononucleose infecciosa tinham maior probabilidade de desenvolver o Linfoma de Hodgkin, particularmente em casos de EBV positivos, ao fim de 20 anos após o diagnóstico (Hjalgrim et al., 2000).

A maior parte dos pacientes com mononucleose infecciosa apresenta uma série de sintomas, tais como dor de garganta, febre prolongada, cefaleias, hepatoesplenomegália, fadiga, faringite e linfadenopatias cervicais (Cohen, 2000; Palareti et al., 2016). Apesar de a maioria dos sintomas da IM desaparecer ao fim de 2 a 4 semanas após infecção primária, aproximadamente 10% dos indivíduos apresentam fadiga muscular constante durante 6 meses. Em casos mais graves, cerca de 1% das pessoas com IM podem sofrer de complicações mais graves, entre eles, problemas hepáticos, neurológicos e desordens hematológicas, nomeadamente anemia hemolítica, trombocitopenia, encefalites e meningites, dores abdominais e obstrução das vias aéreas devido a inflamação da orofaringe (Cohen et al., 2012).

Os sinais clínicos visíveis são faringite exsudativa com edema da úvula ou das amígdalas, petéquias no palato e aumento do volume dos gânglios linfáticos (ver Figura 7) (Balfour et al., 2015).

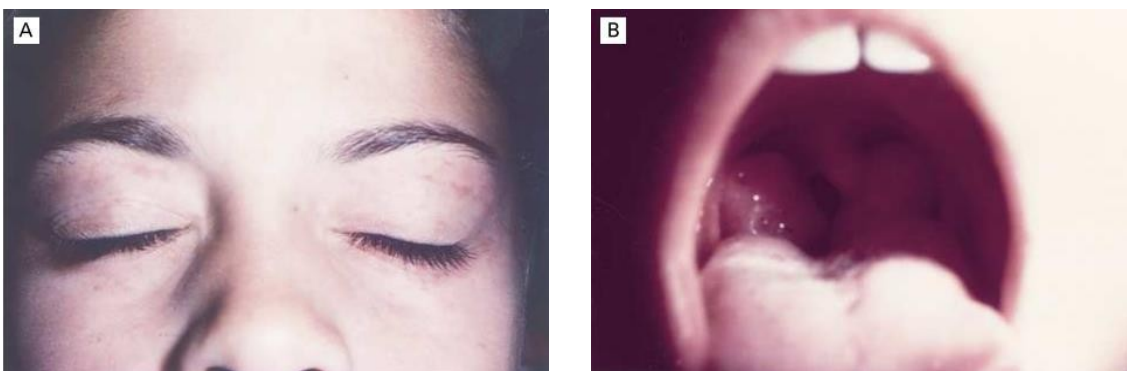


Figura 7 – Sinais clínicos da mononucleose: A) Petéquias das pálpebras com edema periorbital; B) Faringite exsudativa com edema da úvula (Cohen, 2000).

A grande parte dos pacientes com mononucleose infecciosa apresenta leucocitose, com aumento do número das células mononucleares periféricas, anticorpos heterófilos e linfócitos atípicos. Os linfócitos atípicos são principalmente células T, muitas das quais estão a responder às células B infetadas com EBV. A maioria dos sintomas da mononucleose infecciosa é consequência da ativação e proliferação das células T em resposta à infeção e replicação do vírus na orofaringe (Palareti et al., 2016).

Havendo um diagnóstico errado, ou se os sintomas primários forem ignorados, a mononucleose infecciosa pode ser confundida com o linfoma das células B, ou mesmo com o linfoma de Hodgkin, daí ser imprescindível efetuar um diagnóstico diferencial. No caso de IM, os linfócitos B infetados por EBV apresentam um padrão de expressão de latência III, abrangendo EBER, EBNA1, EBNA2 e LMP1, o que facilita a deteção da infeção por EBV. A simples presença do EBV nos linfócitos B não constitui, obrigatoriamente, um diagnóstico diferencial para o linfoma das células B, porém, a observação da presença do EBNA2 em células infetadas beneficia o diagnóstico de IM. Além do mais, os estudos serológicos específicos de EBV simplificam o diagnóstico médico (Feederle & Taniere, 2007).

O exame clínico, por si só, não consegue determinar se é ou não mononucleose infecciosa, daí que os exames complementares (laboratoriais) sejam essenciais e providenciem um diagnóstico preciso e prático (Balfour et al., 2015).

Foi sugerido um exame sorológico, investigando a presença de anticorpos heterófilos em crianças e adultos suspeitos de infeção primária por EBV, visto que estes anticorpos são detetados na IM, principalmente na fase aguda da infeção (Nystad & Myrmel, 2007). O teste Paul-Bunnell utiliza eritrócitos de diferentes espécies de mamíferos para

identificar anticorpos IgM que aparecem durante a resposta do sistema imunitário perante uma infecção aguda por EBV (Balfour et al., 2015).

O teste de detecção de anticorpos heterófilos é o exame mais recorrente para o diagnóstico, no entanto, são testes com pouca sensibilidade e especificidade, especialmente em crianças (Nystad & Myrmel, 2007). Este exame apresenta alguns contratempos: aproximadamente 40% das crianças com idade inferior a 4 anos não produzem anticorpos heterófilos após infecção primária de EBV (falsos negativos). Além disso, os anticorpos heterófilos não são muito específicos e não permitem a distinção do fator etiológico, já que pode ser localizado em outras infecções provocadas por diversas patologias ou doenças autoimunes. Por fim, os anticorpos heterófilos podem permanecer no organismo mais de um ano e por estes motivos nem sempre diagnosticam a infecção aguda da mononucleose (Balfour et al., 2015).

Por esta razão, para a confirmação do diagnóstico, é efetuado um exame adicional: uma pesquisa de anticorpos específicos anti-EBV que são anticorpos VCA IgM, VCA IgG e EBNA-1. O anticorpo VCA IgM está presente em aproximadamente 75% dos pacientes durante o processo de infecção aguda de IM, normalmente os falsos negativos estão relacionados, exclusivamente, com infecção pelo citomegalovírus (Nystad & Myrmel, 2007).

A detecção de anticorpos específicos torna-se o método mais fiável para a identificação de uma infecção primária por EBV, visto que todos os indivíduos com IM desenvolvem anticorpos IgM e IgG, durante a fase aguda de infecção. Alguns estudos revelam que os anticorpos VCA IgM possuem alta sensibilidade e especificidade para infecção aguda primária, enquanto níveis elevados de VCA IgG insinuam a existência de reativação viral (Rochford & Moormann, 2015).

2.4.2. Leucoplasia Oral Pilosa

A leucoplasia oral pilosa foi descrita pela primeira vez na década de 80 (Slots et al., 2006). Esta lesão não tem qualquer potencial maligno, trata-se de uma lesão benigna com hiperplasia das células epiteliais associada ao EBV, caracterizada pela replicação do vírus nas células do epitélio oral (Cohen, 2000). É uma infecção oportunista que afeta indivíduos imunodeprimidos, em particular, as pessoas infetadas com HIV (Corstjens et al., 2016) (Palareti et al., 2016).

Clinicamente, a leucoplasia oral pilosa apresenta-se como uma lesão de coloração branca, assintomática, que afeta essencialmente os bordos laterais e dorso da língua como pregas verticais brancas que não podem ser raspadas (Slots et al., 2006).

Histologicamente, a leucoplasia oral pilosa é caracterizada pela presença de hiperplasia epitelial, hiperqueratose e células semelhantes a “coilocitos”, no entanto com pouco ou nenhum infiltrado inflamatório no tecido conjuntivo subjacente (Slots et al., 2006)(Khammissa et al., 2016).

Parece haver uma correlação causal entre o vírus Epstein-Barr e a leucoplasia oral pilosa, devido à presença de DNA de EBV e de proteínas codificadas por genes de EBV nas células lesionadas. A leucoplasia oral pilosa parece ser causada pela replicação do EBV no epitélio da mucosa oral, particularmente nos bordos laterais e dorsais da língua (Slots et al., 2006). A periodontite apical é um processo inflamatório no tecido periodontal e apresenta-se com uma fonte de EBV no fluido oral. Estudos demonstram a presença de EBV nas bolsas periodontais ativas (Jakovljevic et al., 2015). A leucoplasia oral pilosa, induzida por EBV, pode ser a primeira manifestação clínica da infecção pelo vírus da Imunodeficiência Humana (HIV) e em indivíduos seropositivos pode ser um indicativo para o síndrome da imunodeficiência adquirida (SIDA) (Khammissa et al., 2016).

Após instituição do tratamento antirretroviral, alguns casos podem levar à remissão da lesão ou até desaparecer espontaneamente através de melhoria do estado imunitário. Contudo, visto que se trata de uma lesão benigna, não causa sintomas ou problemas dentários e geralmente não requer tratamento (Slots et al., 2006).

24.3. Linfomas na cavidade oral

Os linfomas na cavidade oral têm uma incidência baixa, representando apenas 5% de todos os linfomas. Porém, além dos carcinomas da cabeça, do pescoço e dos carcinomas das glândulas salivares, os linfomas são das patologias mais predominantes na cavidade oral. O linfoma de Hodgkin que, ocasionalmente, se apresenta na cavidade oral, pode afetar a língua, palato e amígdalas e está fortemente associado ao EBV, sendo que é possível identificar o vírus em pelo menos 50% dos casos. Os linfomas não Hodgkin, associados ao vírus Epstein-Barr, mais plausíveis de serem identificados na cavidade oral são o linfoma de Burkitt e o linfoma das células B (Grywalska & Rolinski, 2015; Palareti et al., 2016).

É fundamental detetar precocemente os linfomas orais, no entanto, estas patologias são frequentemente diagnosticadas de modo incorreto. Os sinais orais mais comuns dos linfomas não Hodgkin manifestam-se com dor local, inchaço, mobilidade dentária e ulcerações em múltiplas regiões da mucosa oral. Ainda assim, os sinais iniciais são idênticos a outras patologias da cavidade oral, podendo confundir-se com a doença periodontal, osteomielite e outras doenças, contribuindo para o diagnóstico tardio e a degradação do estado de saúde do indivíduo (Palareti et al., 2016).

Segundo a classificação da Organização Mundial de Saúde, em 2008, os linfomas de células B representavam um grupo heterogéneo de neoplasias hematológicas, com elevada associação com o EBV (Grywalska & Rolinski, 2015).

O genoma do vírus pode ser detetado no linfoma das células B, especialmente na população idosa. Mais de dois terços (2/3) destes linfomas possuem uma sequência de DNA específica do EBV, na qual a maior parte revela a presença de EBERs e LMP1. A manifestação do EBNA2 é talvez menor do que o LMP1, contudo, os tumores com transcrição para EBNA2 apresentam melhores prognósticos clínicos (Feederle & Tanriere, 2007).

Palareti et al., acredita que o genoma do EBV pode tornar-se num importante biomarcador para o diagnóstico precoce e tratamento de linfomas orais (Palareti et al., 2016).

2.4.3.1. Linfoma de Burkitt

Dennis Burkitt descreveu pela primeira vez, em 1958, um tumor de evolução rápida que envolvia a mandíbula de crianças africanas (Cesarman, 2014; Rochford & Moormann, 2015; Santos, Danda, & Teixeira, 2015). O Linfoma de Burkitt (LB) representa cerca de 30-50% de todos os linfomas na infância e adolescência e, segundo a organização mundial de saúde, é definido com um linfoma de células B. O LB é caracterizado como um linfoma não-Hodgkin de células B, com carácter agressivo, representado pela translocação do gene c-myc (Huang et al., 2015). Estatisticamente, este linfoma ocorre especialmente em crianças, com maior frequência no género masculino do que no feminino. O EBV é considerado o agente etiológico em 98% dos casos de Linfoma de Burkitt endémicos diagnosticados em África (Grywalska & Rolinski, 2015). Os sinais clínicos do Linfoma de Burkitt são uma tumefação na região afetada de rápida evolução, assimetria facial e, alguns casos, mobilidade dentária e dor.

Histologicamente, o LB é caracterizado por uma proliferação de linfócitos B. As células neoplásicas apresentam tamanho médio, citoplasma escasso, núcleos redondos e nucléolos evidentes. A presença de macrófagos, contendo restos celulares, confere um aspeto “céu estrelado” característico do linfoma de Burkitt (Santos et al., 2015).

Os subtipos epidemiológicos de Linfoma de Burkitt mais conhecidos são o endémico e o esporádico (Baumforth et al., 1999; Grywalska & Rolinski, 2015). No entanto, alguns autores consideram mais um subtipo, que está associado ao vírus de imunodeficiência humana (HIV) (Cesarman, 2014; Palareti et al., 2016; Santos et al., 2015).

A forma endémica do linfoma de Burkitt foi observada nas regiões da África Equatorial e Papua Nova Guiné, sendo a incidência deste linfoma, tradicionalmente, atribuída a cofatores causadores de supressão de linfócitos T, entre eles a malária. Ou seja, a alta incidência do LB em África é restrita às áreas geográficas onde o *Plasmodium falciparum* é endémico (Rowe et al., 2014). O subtipo endémico é caracterizado pela massa mandibular em crianças. A maioria dos casos está associada ao EBV, visto que o genoma viral pode ser encontrado nas células tumorais (Cesarman, 2014; Grywalska & Rolinski, 2015).

Segundo Rochford & Moormann, existe uma associação entre o Linfoma de Burkitt, o EBV e a malária causada pelo *Plasmodium falciparum* (Rochford & Moormann, 2015). Alguns estudos recentes sugerem que a infeção por *P. falciparum* constitui um fator de risco para o desenvolvimento do LB (Thorley-Lawson, Deitsch, Duca, & Torgbor, 2016). Tanto a malária como o HIV induzem “hipergamaglobulinemia” através da ativação de células B policlonais, causando um aumento significativo dos níveis de EBV. A malária influencia a imunidade das células T à infeção por EBV. Apesar desta deficiência ser transitória, os níveis aumentados de EBV presentes nas células B de memória circulantes, associados à infeção por malária, são de longa duração. A malária provoca uma expansão dos níveis dos linfócitos B infetados pelo vírus, desregula a enzima AID (desaminase induzida por ativação), ativa os efeitos imunossupressores das células T, levando à alteração do DNA, aumentando assim a probabilidade de ocorrerem translocações do c-myc (Rowe et al., 2014).

O subtipo esporádico da doença, encontrado nos Estados Unidos e na Europa, é diagnosticado particularmente em crianças e adolescentes. Apresenta-se com maior frequência nos gânglios linfáticos e está associado ao EBV em cerca de 20% dos casos (Cesarman, 2014; Palareti et al., 2016).

O linfoma de Burkitt associado ao HIV não tem uma distribuição geográfica específica, pode ser encontrada em qualquer parte do mundo e está associada ao EBV em 30% dos casos (Cesarman, 2014).

Estas formas de linfoma de Burkitt apresentam características clínicas e histológicas semelhantes, mas diferem na zona geográfica e prevalência de infecção EBV. As variantes epidemiológicas têm em comum a translocação do proto-oncogene myc, levando à expressão descontrolada da proteína myc e, conseqüentemente, a proliferação neoplásica (Palareti et al., 2016).

2.4.3.2. Linfoma de Hodgkin

Em consequência da preferência do EBV em infetar tanto linfócitos B como células epiteliais e da persistência do vírus na mucosa oral, o EBV é responsável por desencadear um número considerável de patologias presentes na cavidade oral (Guidry et al., 2017).

O Linfoma de Hodgkin (LH) é uma neoplasia maligna rara do sistema linfático, apresentando uma composição celular única, comum aos vários subtipos histológicos (Hashmi et al., 2017). Esta patologia representa cerca de 11% de todos os linfomas identificados nos EUA, afetando aproximadamente 9000 pessoas todos os anos (Ansell, 2015). Porém, nem todos subtipos de LH expressam a mesma correlação com a infecção pelo EBV. Alguns estudos revelam que o EBV raramente está associado com o Linfoma de Hodgkin, subtipo “rico em linfócitos”, em contrapartida, o vírus é mais frequente nos Linfomas de Hodgkin do subtipo “celularidade mista” e “depleção linfocitária”. Os subtipos “rico em linfócitos” e esclerose nodular possuem um prognóstico mais favorável em relação aos outros pela ausência de EBV (Grywalska & Rolinski, 2015).

Grande parte dos pacientes com linfoma de Hodgkin manifesta linfadenopatias (nódulos linfáticos inflamados) na região supradiaphragmática, cervical e na cadeia ganglionar supra clavicular. Ainda assim, as linfadenopatias retroperitoneal e inguinal podem ocorrer em menor frequência. Os indivíduos também podem expressar febres altas, sudorese noturna e perda de peso (Ansell, 2015).

A associação entre o Linfoma de Hodgkin e o EBV foi identificada, a partir, do aumento da frequência de LH em pacientes com antecedentes de mononucleose infecciosa (Hashmi et al., 2017). Aproximadamente, 1 em 800 pessoas na Suécia e Dinamarca, diagnosticadas com IM, desenvolveram linfoma de Hodgkin (Hjalgrim et al., 2003). Os estudos comprovaram que há um risco acrescido de desenvolvimento do Linfoma de

Hodgkin associado com o EBV, quando previamente o indivíduo foi diagnosticado com IM (Guidry et al., 2017; Palareti et al., 2016; Rosenblatt et al., 2001).

Além do mais, a presença de EBV em células neoplásicas Reed-Sternberg (CRS) veio confirmar a ligação entre os linfomas de Hodgkin e o EBV (Hashmi et al., 2017). As células neoplásicas de Reed-Sternberg são patognomônicas dos linfomas de Hodgkin, encontradas, essencialmente, em indivíduos com idade superior a 75 anos bem como em crianças abaixo dos 10 anos. As células Reed-Sternberg infectadas pelo EBV expressam os antígenos virais EBER, EBNA1, LMP1 e LMP2. A identificação de EBER foi confirmada por meio da hibridização *in situ* (Grywalska & Rolinski, 2015; Wang, Jiang, & Gewurtz, 2017).

Os linfomas de Hodgkin mostram um padrão de expressão viral de latência do tipo II com aumento dos níveis de LMP1. A detecção do vírus favorece o diagnóstico do linfoma de Hodgkin, especialmente, nos casos de diagnóstico diferencial com o linfoma das células grandes (Feederle & Tanriere, 2007; Palareti et al., 2016).

Os pacientes com linfoma de Hodgkin-EBV negativos possuem uma melhor taxa de sobrevivência, ao fim de 5 anos, relativamente aos indivíduos com linfoma de Hodgkin-EBV positivos. O prognóstico é mais reservado em pessoas com linfoma de Hodgkin-EBV⁺, sobretudo em indivíduos com idade superior aos 45 anos e inferior aos 15 anos. Porém, os pacientes com linfoma de Hodgkin, dentro da faixa etária dos 15 a 45 anos, independentemente da presença de EBV (EBV⁺ ou EBV⁻), se receberem um tratamento adequado, apresentam um prognóstico idêntico (Ozoya et al., 2016).

Estudos epidemiológicos demonstram que cerca de 40% dos casos de linfoma de Hodgkin, nos países desenvolvidos, são EBV positivos, por outro lado, nos países em desenvolvimento, o vírus está presente em 80% dos casos de linfoma de Hodgkin (Cohen, 2015).

A estimulação da imunidade celular é o objetivo principal das opções terapêuticas contra as neoplasias malignas associadas com o EBV. Apesar das células CD4 T neutralizarem a ação do LMP1 e do LMP2, estas, preferencialmente, anulam a ação do EBNA1 (Cohen, 2015). Alguns ensaios clínicos tentam demonstrar a ação de células T específicas contra o EBV nas neoplasias malignas associadas com o vírus, especialmente o carcinoma da nasofaringe e o linfoma de Hodgkin (Bollard et al., 2013). Os carcinomas da nasofaringe, o linfoma de Hodgkin, o linfoma de não Hodgkin e o linfoma das células T são doenças malignas com padrão de latência em comum (latência tipo II) com expressão idêntica de antígenos virais EBV (EBNA1) e proteínas de membrana latente

(LMP1 e LMP2), enquanto que, o carcinoma gástrico manifesta um padrão de latência do tipo I, com codificação específica de EBNA1 (Cohen, 2015; Hashmi et al., 2017; Wang et al., 2017).

Alguns estudos revelam que a vacina com base em epítomos múltiplos para LH e NPC pode torna-se uma solução terapêutica muito promissora, dado que estas vacinas têm demonstrado potencial, aumentando a eficácia da resposta das células T perante as células neoplásicas e a capacidade de limitar o crescimento dos tumores (Duraiswamy et al., 2003). Por outro lado, uma vacina que reduz a incidência da mononucleose infecciosa poderia minimizar a taxa de ocorrência do linfoma de Hodgkin (Cohen, 2015).

2.4.4. Carcinoma gástrico

No início dos anos 90, o genoma do EBV foi identificado em carcinomas gástricos, usando técnicas de biologia molecular, tais como a reação de polimerização em cadeia (PCR), que permitiu a amplificação do genoma do vírus e a hibridização *in situ* (ISH) que por sua vez identificou uma sequência específica do EBV, pequenas moléculas de RNA codificadas pelo EBV (EBERs) “encoded small ribonucleic acid 1” (Iizasa et al., 2012). Os EBERs podem não ter um papel essencial para a transformação após a infeção por EBV, contudo, tanto o EBER1 como o EBER2 são moléculas de RNA mais abundantes do EBV em células latentes infetadas. Por esta razão, os EBERs são utilizados como biomarcadores na deteção da infeção latente do EBV (Baumforth et al., 1999).

O carcinoma gástrico é um dos tumores malignos mais frequentes no trato gástrico, tratando-se do quinto tumor mais diagnosticado na população, sendo responsável pela morte de aproximadamente 723 mil indivíduos, e a terceira maior causa de mortalidade entre os cancros (Nogueira et al., 2017).

Estas descobertas mostraram que os carcinomas gástricos associados ao vírus Epstein-Barr (EBVaGC) são de origem epitelial e compreendem cerca de 10% de todos os carcinomas gástricos em todo o mundo (Stanfield & Luftig, 2017). Visto que EBVaGC se trata de proliferações monoclonais de uma célula infetada persistentemente pelo EBV, a infeção por EBV pode estar relacionada com os estádios iniciais da carcinogénese gástrica (Iizasa et al., 2012).

Para além do EBV, o *Helicobacter pylori* é considerado como agente etiológico principal de doenças gástricas como gastrite, úlcera péptica, linfoma do tecido linfoide associado à mucosa (MALT) e carcinoma gástrico. A manifestação clínica através da infeção *H. pylori* depende de vários fatores, nomeadamente, os fatores de virulência

bacteriana, fatores ambientais, hábitos de vida e a da suscetibilidade genética de cada indivíduo. Alguns estudos questionam a possibilidade de existir uma eventual simbiose entre o EBV e *H. pylori* levando à estimulação da proliferação de células tumorais, todavia, os resultados mostraram ser inconclusivos ou discordantes (Nogueira et al., 2017).

Os EBVaGC, caracteristicamente, adquirem mutações no gene PIK3CA e exibem níveis de “hipermetilação celular” acima do normal. Os tumores identificados com a mutação PIK3CA, no terço médio do estômago, apresentam uma forte associação com o EBV e um aumento considerável de recorrência peritoneal (Stanfield & Luftig, 2017).

Uma das características histológicas do EBVaGC é a presença de um infiltrado linfocítico. O EBVaGC é definido pela presença do EBV em células neoplásicas. A hibridização EBER1- *in situ* (ISH) é utilizada para identificar o EBVaGC, uma vez que o EBER1 se encontra em quantidades significativas em cada célula infetada. O método mais útil de diagnóstico do carcinoma gástrico é a endoscopia. Através da endoscopia é possível visualizar se o EBVaGC apresenta lesões ulcerativas superficiais na porção superior do estômago (ver Figura 8).

O tumor localiza-se, predominantemente, nas porções do cárdia, do fundo e do corpo do estômago (Iizasa et al., 2012).



Figura 8 – Imagem endoscópica característica do Carcinoma Gástrico associado ao Vírus Epstein-Barr na porção superior do estômago (Iizasa et al., 2012).

Segundo Iizasa, os estudos mostram que não existe uma correlação entre uma faixa etária específica e o EBVaGC (Iizasa et al., 2012). Contudo, a maioria dos estudos

revelam uma prevalência maior nos homens (Akiba, Koriyama, Herrera-goepfert, & Eizuru, 2008). Um estudo realizado no Japão demonstrou que a constante ingestão de alimentos salgados e a exposição de partículas finas como a serradura ou limalhas, pode induzir lesões na mucosa gástrica e estão relacionados com aumento do risco de EBVaGC (Koriyama, Abika, Minakami & Eizuru, 2005).

Ao contrário do que acontece com neoplasias malignas associadas com EBV, como o linfoma de Burkitt e o carcinoma da nasofaringe que são endêmicos na África Equatorial e no Sudoeste Asiático, o EBVaGC é uma doença não endêmica numa determinada região e que tem uma distribuição mundial praticamente uniforme, havendo uma maior ocorrência nos Estados Unidos e na Alemanha e uma menor prevalência na China (ver Figura 9) (Takada, 2000).

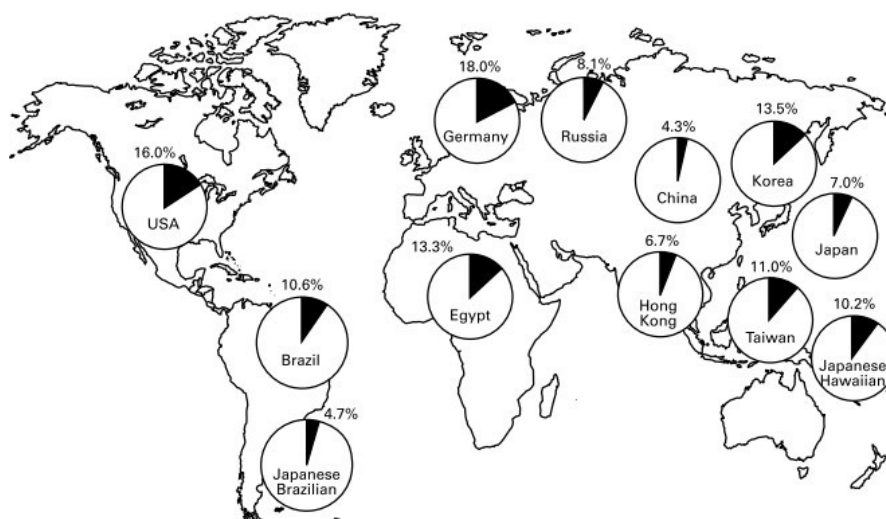


Figura 9 – Distribuição geográfica dos carcinomas gástricos associados ao Vírus Epstein-Barr (Takada, 2000).

Relativamente a Portugal, segundo a Organização Mundial de Saúde, em 2012, o carcinoma gástrico era considerado o terceiro tumor mais letal em território nacional e responsável pela morte de aproximadamente 2.000 indivíduos e 3.000 novos casos na população portuguesa, representando a quinta doença maligna mais frequente em Portugal (Nogueira et al., 2017).

2.4.5. Carcinoma da Nasofaringe

Segundo Grywalska & Rolinski, o EBV pode afetar tanto células B como células epiteliais e é nas células epiteliais da nasofaringe que ocorre a reativação e a replicação

das partículas virais, permitindo a propagação do vírus (Grywalska & Rolinski, 2015). O EBV tem sido reconhecido como um fator etiológico do carcinoma da nasofaringe (NPC), um tumor com uma distribuição geográfica e étnica distinta (Dogan et al., 2014). Recentemente, o Vírus do Papiloma Humano (HPV) foi implicado como potencial indutor destes tumores (Aaro, Jaana, Reidar, & Kari, 2017).

Os cancros da cabeça e do pescoço (HNC) são tumores comuns na população mundial, com cerca de meio milhão de novos casos por ano e, aproximadamente, 37 mil mortes (Aaro et al., 2017).

O carcinoma da nasofaringe (NPC) é um tumor maligno epitelial, extremamente invasivo que, frequentemente, origina metástases e tem importante relevância pela sua associação com infecção pelo EBV, exibindo a fase de latência II (Ren et al., 2004). Os carcinomas nasofaríngeos são as patologias malignas mais comuns da região da nasofaringe. Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), o NPC pode ser classificado em 3 subtipos consoante a suas características histológicas:

- *Carcinoma queratinizado das células escamosas;*
- *Carcinoma não queratinizado diferenciado;*
- *Carcinoma não queratinizado indiferenciado;*

(Kamran, Riaz, & Lee, 2015)

Todos os três tipos expressam citoqueratina, no entanto, o genoma viral do EBV é fortemente ligado ao “NPC não queratinizado indiferenciado” e ao “não queratinizado diferenciado” e incorporam os anticorpos IgA circulantes para EBV no sangue periférico, independentemente da origem geográfica e étnica da pessoa. O DNA do EBV é detetado com menor frequência em pacientes com “carcinoma queratinizado das células escamosas” (Rosenblatt et al., 2001). Nas regiões endémicas do EBV, como o Sudoeste Asiático, o “carcinoma não queratinizado indiferenciado” compreende cerca de 90 a 95% dos casos. O NPC associado ao EBV tem maiores taxas de incidência nas áreas endémicas. Em contrapartida, os carcinomas mais comuns nos países desenvolvidos são do subtipo “carcinoma queratinizado das células escamosas” (Kamran et al., 2015).

Estudos epidemiológicos sugerem, tal como acontece com outros carcinomas, que o NPC é uma patologia multifatorial e que desta forma existem inúmeros fatores externos para além da infecção pelo EBV que contribuem para a proliferação de células neoplásicas, mormente, o consumo de álcool e o uso de tabaco, fatores comportamentais, predisposição genética e a exposição em idade precoce a agentes químicos carcinogénicos (presentes na alimentação) (Kamran et al., 2015). Os carcinomas nasofaríngeos são

patologias malignas mais comuns da região da nasofaringe. O NPC representa cerca de 70% de todas as neoplasias da nasofaringe, embora raro nas populações ocidentais é uma doença maligna encontrada com alguma frequência no Sudoeste Asiático (Adham et al., 2012).

No carcinoma da nasofaringe, o EBV infeta as células epiteliais da nasofaringe posterior na Fossa de Rosenmuller do Anel Waldeyer (Poh, Lee, Chua, & Wee, 2016; Thorley-lawson, 2015). A Fossa de Rosenmuller, na maior parte das vezes, é o local de origem onde o NPC se desenvolve e se espalha ao nível intracraniano ou localmente levando à formação de uma massa na cabeça (Adham et al., 2012; Poh et al., 2016).

Segundo um estudo realizado em 2008, eram estimados cerca de 84.400 novos casos de NPC e 51.600 mortes por ano, representando aproximadamente 1,7% de todos os cancros a nível mundial. O NPC ocorre com maior frequência nos homens do que nas mulheres, tanto em países desenvolvidos como em países em desenvolvimento (ver Figura 10) (Jemal, Bray, & Ferlay, 2011).

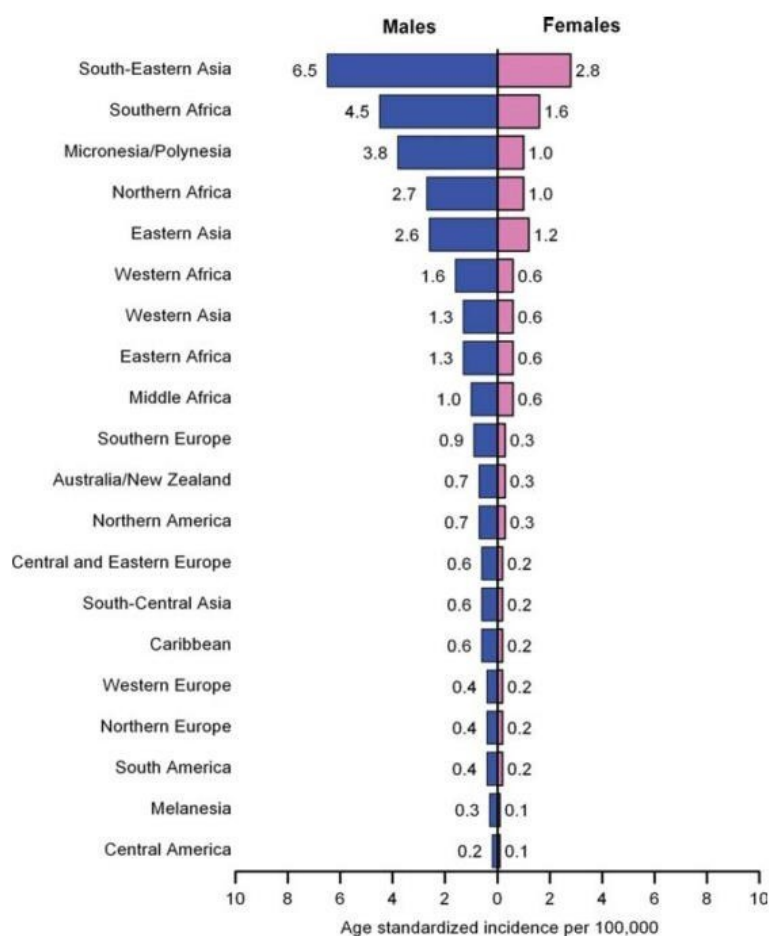


Figura 10 – Distribuição geográfica e por sexo da incidência do carcinoma da nasofaringe (Jemal et al., 2011).

De acordo com a distribuição mundial, as maiores taxas de incidência de NPC são no Sudoeste Asiático, em ambos os sexos, sendo esta a sexta doença mais comum entre a população masculina da região. Os valores também são elevados no Norte de África, ocorrendo com menor frequência nas populações caucasianas, especialmente nos países desenvolvidos (Feederle & Taniere, 2007).

Segundo Jemal et al., aproximadamente 92% dos novos casos de NPC surgem nos países em desenvolvimento (Jemal et al., 2011). O EBV tem sido fortemente associado ao desenvolvimento do NPC e é possível encontrar a infecção por EBV em 90% a 100% dos casos de carcinomas da nasofaringe em regiões endêmicas (Kamran et al., 2015).

O Programa de Vigilância, Epidemiologia e Resultados (SEER) providencia dados estatísticos sobre os diversos cancros com o intuito de reduzir a taxa de incidência de cancro na população. Segundo o Instituto Nacional do Cancro (INC), a faixa etária mais frequentemente diagnosticada com cancro oral e carcinoma da nasofaringe compreende os 55-64 anos (ver Figura 11) (The Surveillance, Epidemiology, and End Results (SEER) Program of the National Cancer Institute).

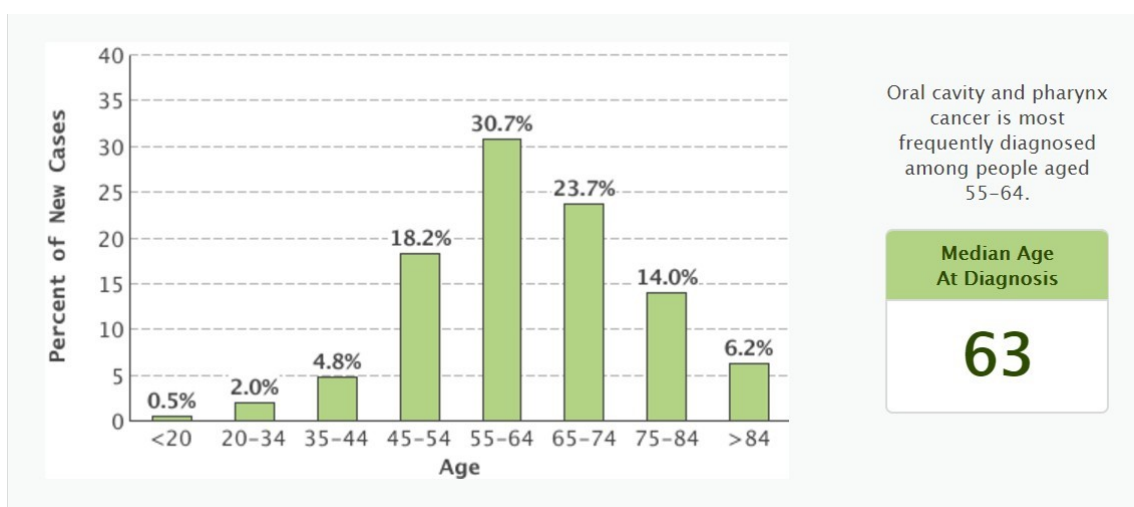


Figura 11 – Percentagem de novos casos de cancro oral e carcinoma da nasofaringe nas diversas faixas etárias. Acedido em 6 de Setembro de 2017, no *Web Site* de: The Surveillance, Epidemiology, and End Results (SEER) Program of the National Cancer Institute, disponível em: <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/oralcav.html>

Os oncogenes LMP1, LMP-2A, EBNA1 e BARF1, presentes no EBV, são indutores da patogénese do NPC. Os EBER são pequenas moléculas de RNA codificadas pelo EBV

e que estão presentes na maioria das células infetadas, sendo utilizados como marcadores da infecção por EBV. Os EBER modificam as vias de sinalização em células infetadas. As LMP são proteínas de membrana latente que estimulam as vias responsáveis pela persistência de EBV, enquanto que os antigénios (EBNA) regulam a expressão genética e ativação da carcinogénese. O LMP1 orienta a atividade dos oncogenes Bcl-2 e hTERT que promovem a instabilidade do DNA, impedindo os mecanismos de reparação cromossómica e induzindo a transformação maligna, mediada pelo EBV (Aaro et al., 2017).

A angiogénese é fundamental para que haja proliferação tumoral, invasão dos tecidos adjacentes e metástases. A interleucina 8 (IL-8) tem sido identificada com alguma frequência em amostras do NPC e tem uma correlação significativamente positiva com a angiogénese. Assim, o fator de crescimento fibroblástico (bFGF), o fator de crescimento vascular das células endoteliais (VEGEF) e a IL-8 possuem propriedades angiogénicas tumorais, incluído o NPC (Ren et al., 2004). De acordo com resultados obtidos por Wong, a interleucina 8 constitui um marcador promissor do cancro oral (Wong, 2006).

O LMP1 estimula a IL-8, que desempenha um papel essencial na formação de tumores, através da ativação do NF- κ B. Quando inibido o NF- κ B, a transcrição do promotor de IL-8 diminui drasticamente, pois a inibição do fator nuclear tem um papel relevante na supressão da proliferação celular e metástase mediada por LMP1 em pacientes com NPC (Ren et al., 2004).

Segundo um estudo realizado por Adham et al., os sinais clínicos e sintomas são difíceis de diagnosticar clinicamente no período inicial do NPC, devido ao elevado grau de dificuldade em localizar os tumores na região da nasofaringe (Adham et al., 2012). Por esta razão, os sintomas normalmente surgem em estádios mais avançados da neoplasia. A falta de conhecimento sobre os primeiros sinais e sintomas de NPC pode conduzir para a diagnóstico tardio ou incorreto. Para além do exame clínico, o exame de eleição para a recolha de biópsias da nasofaringe e das células tumorais é a nasoendoscopia. Dos pacientes que participaram no estudo, grande parte deles apresentavam problemas auditivos em pelo menos um dos ouvidos, um dos primeiros sinais do NPC (ver Figura 12). O segundo e terceiro sintoma mais frequentes foram o congestionamento nasal persistente e secreção de sangue nasal (Adham et al., 2012). O nervo craniano mais frequentemente afetado pelo NPC é o nervo abducente (VI) (Kamran et al., 2015).

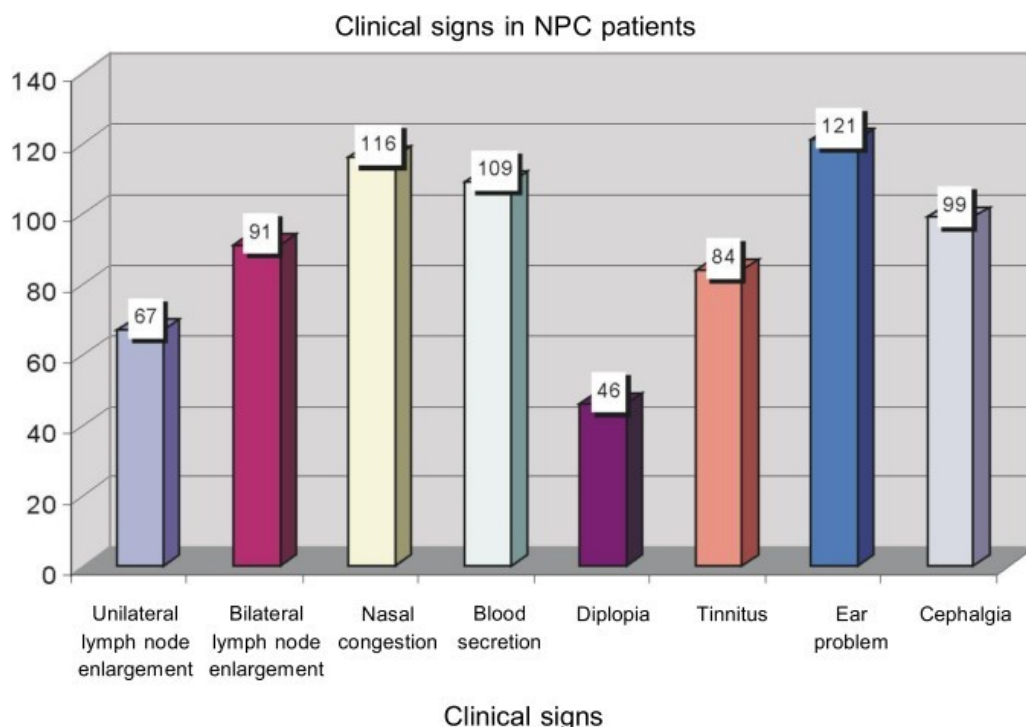


Figura 12 – Sinais clínicos mais comuns em pacientes portadores de carcinoma da nasofaringe (Adham et al., 2012).

24.6. Carcinoma das Glândulas Salivares

Embora seja menos frequente, o EBV está também associado a vários carcinomas epiteliais, sendo um deles o carcinoma das glândulas salivares (Kikuchi et al., 2017). O carcinoma das glândulas salivares é uma neoplasia maligna rara, endêmica no sudoeste asiático e ártico (Guidry et al., 2017; Palareti et al., 2016). As neoplasias das glândulas salivares englobam menos de 3% de todas as doenças malignas da região da cabeça e pescoço (Ambrosio et al., 2013). De todos os tumores verificados na região, apenas 20% assume malignidade. É uma doença mais frequente nos homens e com envolvimento quase exclusivo da glândula parótida (Mozaffari, Ramezani, & Janbakhsh, 2017).

Histologicamente, o carcinoma das glândulas salivares apresenta características idênticas ao carcinoma da nasofaringe “não queratinizado indiferenciado” (Ambrosio et al., 2013).

A constante associação do EBV com o carcinoma das glândulas salivares revela que o vírus, presumivelmente, desempenha um papel etiológico deste tumor, sobretudo na população asiática (Rosenblatt et al., 2001). Alguns autores demonstraram que o EBV possui uma função essencial na patogênese dos carcinomas das glândulas salivares na população chinesa (Wu, Cheng, Lu, Zhou & Saku, 2004).

A confirmação da existência do vírus nos tecidos afetados é confirmada pela detecção da EBER através a hibridização *in situ* ou por meio da reação de polimerização em cadeia (PCR) que identifica a proteína de membrana latente (LMP).

Mozaffari et al., acredita que fatores ambientais, predisposição genética, até mesmo a distribuição geográfica, têm um impacto significativo na prevalência do EBV nas neoplasias malignas das glândulas salivares, especialmente carcinomas indiferenciados (Mozaffari et al., 2017).

2.4.7. Doença Periodontal

A periodontite é uma doença complexa, considerada uma das doenças inflamatórias crônicas e microbianas mais comuns em todo o mundo. A periodontite é caracterizada pela reabsorção óssea alveolar e destruição periodontal, sendo uma das principais causas da perda dentária. Apesar da doença periodontal possuir uma etiologia multifatorial, os agentes microbianos são os que têm maior peso para o desenvolvimento da periodontite (Zhu et al., 2015). Os casos mais severos da doença periodontal ocorrem sobretudo em países em desenvolvimento, principalmente entre indivíduos com baixo nível sócio econômico (Slots et al., 2006).

O EBV infeta os linfócitos B nos tecidos periodontais, prejudicando a defesa periodontal e estimulando o crescimento excessivo de bactérias patogênicas da doença periodontal. Os herpesvírus possuem um efeito citopático direto sobre fibroblastos, células inflamatórias, células endoteliais e inclusive em células ósseas do periodonto. O vírus pode ser considerado um fator etiológico responsável pela alteração de saúde periodontal. A periodontite crônica é o subtipo mais frequentemente associado ao EBV (Shah & Mehta, 2016) (Gao, Lv, & Wang, 2016).

Alguns estudos detetaram a existência de determinados vírus no periodonto que poderão ser causadores do desenvolvimento da doença periodontal. Cerca de milhões de cópias dos vírus estão presentes nas lesões periodontais (Zhu et al., 2015). Outros estudos analisaram a presença do DNA dos herpesvírus nos tecidos periapicais, utilizando a reação de polimerase em cadeia e determinaram que a infecção viral do vírus herpes humano, especialmente o HCMV e o EBV, pode contribuir para a patogênese da periodontite apical (Sabeti, Simon, Nowzari, & Slots, 2003). O DNA do EBV pode ser detetado entre 60 a 80% em lesões de periodontite e em 15 a 20% dos casos de gengivite e em situações de saúde periodontal. O EBV também é responsável pela destruição do tecido gengival em pacientes infectados com HIV, para além de que a infecção ativa do

EBV surge concomitante em cerca de 70% das lesões periapicais sintomáticas (Slots et al., 2006).

Um estudo realizado por Jakovljevic et al., pretendeu demonstrar que as variações no genoma do EBV têm a capacidade de afetar as comunicações entre o vírus e o sistema imunitário do hospedeiro. Embora o EBV-1 seja mais frequentemente identificado na doença periodontal crônica e agressiva, tanto o EBV-1 como o EBV-2 foram observados na doença periodontal e saúde periodontal (Jakovljevic et al., 2015).

A doença periodontal associada aos herpesvírus está interligada com níveis elevados de bactérias subgengivais presentes nos tecidos periodontais (Corstjens et al., 2016). Existe uma relação direta entre a *Porphyromonas gingivalis* e a *Tannerella forsthia* com a expressão do genoma do EBV e HCMV (Zhu et al., 2015).

As lesões nas bolsas periodontais e a existência do EBV no periodonto podem contribuir para o sangramento gengival, justificadas pela presença do genoma viral em tecidos periodontais que apresentam sangramento após sondagem (Saygun, Kubar, Sahin, Sener, & Slots, 2008).

A presença do EBV ativa as células T helper 1 (Th1) e T helper 2 (Th2), aumentando consideravelmente a formação de citocinas e quimiocinas. Estas mediam as respostas inflamatórias, processos de cicatrização de tecidos, modulação das respostas imunes adquiridas, entre outros mecanismos biológicos (Brown, 2011). O aumento do nível das citocinas pro-inflamatórias nos locais de doença periodontal deve-se sobretudo à existência de infecção ativa por herpesvírus. A abundância de células B, observada em algumas lesões de periodontite, pode ser causada, sobretudo, pela ativação de linfócitos B mediada pelo EBV. Dentro do contexto da periodontite, as citocinas participam na destruição do tecido e estimulam a reabsorção óssea alveolar, como consequência da inflamação (Slots et al., 2006).

Slots et al., acredita que a doença periodontal associada com os herpesvírus é fruto de uma cascata de acontecimentos. Em primeira instância, as bactérias subgengivais que iniciam o processo de inflamação possibilitam a entrada das células B infetadas com EBV no periodonto. O uso de drogas, febres altas, stress emocional, trauma persistente no tecido, uma infecção prévia são todos fatores que prejudicam o sistema imunitário do organismo e, conseqüentemente, pode originar a reativação do EBV latente presente no tecido periodontal. A ativação do EBV motiva um crescimento acentuado de linfócitos B infetados com EBV e a libertação de mediadores prejudiciais para o periodonto (Slots et al., 2006).

O EBV infeta preferencialmente linfócitos e o HCMV infeta diversos tipos de células, mas o papel que o EBV e o HCMV assumem na patogênese da periodontite permanece desconhecida (Zhu et al., 2015). Alguns estudos relataram que os riscos da doença periodontal aumentavam significativamente na presença dos herpesvírus, havendo uma correlação positiva entre eles; por outro lado, existem estudos que sugerem não haver relação causal entre os herpesvírus com a periodontite crônica (Gao et al., 2016).

No entanto, foram apresentadas algumas teorias, Carmo et al., sugeriu a hipótese de os níveis elevados de herpesvírus nos tecidos periodontais aparecerem como resultado secundário da infecção bacteriana inicial, que causou destruição e inflamação do tecido periapical e de modo consequente um aumento significativo do afluxo de células inflamatórias infetadas pelo vírus para o local de lesão periapical (Carmo et al., 2011). Em contrapartida, Jakovljevic propôs a hipótese de que os vírus estaria implicado na patogênese da periodontite apical, devido a infecção direta do vírus sobre as células do hospedeiro, diminuindo a imunidade local e alterando os mecanismos de defesa do indivíduo, o que favorece um crescimento excessivo de bactérias (Jakovljevic et al., 2015).

O tratamento da doença periodontal pode contribuir para a redução da carga viral do EBV nos tecidos periodontais, assim como na saliva, tendo o potencial de minimizar o risco de transmissão viral entre indivíduos (Slots et al., 2006).

2.5. Papel do Médico Dentista

O médico dentista tem um papel importante na prevenção da doença e, ao mesmo tempo, na preservação e melhoria da qualidade de vida dos pacientes. A cavidade oral é um dos órgãos, constantemente, afetados nos estádios mais severos das neoplasias. Os microrganismos presentes na mucosa oral vão intensificar a proliferação das patologias malignas. O médico dentista, na sua prática clínica, tem de ser capaz de identificar tumores sólidos na região da cabeça e do pescoço e manifestações orais das neoplasias malignas (Mighell & Gallagher, 2012) (Mol, 2010).

Mol sugere que a comunidade em geral se encontra desinformada em relação ao papel que o médico dentista desempenha perante as lesões malignas. Os pacientes, normalmente, procuram o auxílio do médico dentista, somente, na presença de dor ou desconforto (Mol, 2010).

O médico dentista deve ser capaz de estabelecer uma intercomunicação com o paciente (Sanz, Treasure, Dijk, Feldman, & Groeneveld, 2008), a fim de recolher o máximo de informação possível e estabelecer uma história clínica detalhada e um exame objetivo concreto (Mol, 2010). Hertrampf et al., admite que a partilha constante com o paciente sobre os fatores de risco e um exame objetivo rigoroso à cavidade oral devem fazer parte do exame de rotina do médico dentista (Hertrampf, Wenz, Koller, & Grund, 2013).

Os dentistas generalistas, eventualmente, podem ser as primeiras pessoas a fazer um diagnóstico precoce dos tumores da cabeça e do pescoço, dado que entram em contato com as lesões pré-malignas. Mais de dois terços dos pacientes diagnosticados, com tumores da cabeça e do pescoço, encontram-se num estágio avançado da doença, resultando num prognóstico muito reservado. Normalmente, os indivíduos, que procuram atendimento médico, aparecem com uma massa na região do pescoço, indicativo de metástases do cancro. O diagnóstico precoce e o tratamento na fase inicial da neoplasia maligna limitam a morbilidade da doença e favorecem o prognóstico do tratamento, assim como melhoram a qualidade de vida e aumentam a taxa de sobrevivência (Haddad, Annino, & Tishler, 2008; Hertrampf et al., 2013; Messadi, Wilder-Smith, & Wolinsky, 2010).

O T (tumor primário) N (gânglios linfáticos envolvidos) M (metástases à distância) é o sistema usado para caracterizar os estádios dos tumores e propor uma terapêutica mais adequada (ver Tabela 4).

O carcinoma da nasofaringe, da cavidade oral, da orofaringe e laringe são tumores biologicamente complexos que podem ser identificados na região da cabeça e do pescoço, apresentando fatores etiológicos semelhantes, embora exibindo respostas diferentes aos vários tratamentos. Os pacientes com tumores da cabeça e pescoço manifestam sintomas específicos consoante a localização do cancro. A rouquidão é característica do cancro da laringe, por outro lado, disfagia, odinofagia e dor de garganta são comuns no cancro da orofaringe. Além disso, problemas auditivos, congestionamento nasal e secreção nasal são indicativos de carcinoma da nasofaringe. A identificação dos sintomas facilita ao médico dentista a identificação da origem do cancro (Haddad et al., 2008).

Tabela 4 – Classificação dos estádios do carcinoma das células escamosas (Haddad et al., 2008).

Tumor size

- T1: Tumor 2 cm or less in greatest dimension
- T2: Tumor size between 2 and 4 cm in size
- T3: Tumor greater than 4 cm in size
- T4: Tumor invading adjacent structures such as bone, skin, deep muscle of tongue, pterygoid plates, skull base

Lymph node involvement

- N0: No lymph nodes metastasis
- N1: One lymph node involved; 3 cm or less in size
- N2a: One lymph node involved; more than 3 cm and less than 6 cm in size
- N2b: Multiple ipsilateral lymph nodes involved; none bigger than 6 cm in size
- N2c: Multiple bilateral or contralateral lymph nodes involved none more than 6 cm in size
- N3: At least one lymph node more than 6 cm in size

Distant metastasis

- M0: No distant metastasis
- M1: Distant metastasis present

Stage I: T1N0

Stage II: T2N0

Stage III: T3N0, T3N1, T2N1, T1N1

Stage IV: All others

Alguns dentistas revelam alguma hesitação em falar com os seus pacientes sobre questões relacionadas com cancro oral, sobretudo quando fazem o exame objetivo à cavidade oral (Lehew & Kaste, 2007).

Com este intuito, Awojobi et al., criou um estudo piloto que fosse capaz de estimular uma discussão entre médicos dentistas sobre os principais sintomas e a importância do diagnóstico precoce. O principal objetivo deste questionário seria o de melhorar a autoestima do médico dentista e aumentar as intenções do médico de discutir o cancro oral com pacientes considerados de alto risco (Awojobi, Newton, & Scott, 2016).

A falha de comunicação entre o médico dentista e o paciente resulta numa oportunidade desperdiçada para alertar o paciente para os fatores de risco e os perigos da doença, do mesmo modo que incentiva a autodeteção dos sinais por parte do indivíduo (Awojobi et al., 2016; Hertrampf et al., 2013; Mighell & Gallagher, 2012).

3. CONCLUSÃO

Em virtude dos factos mencionados, os herpesvírus humanos são dos agentes infecciosos mais abundantes na população. Os herpesvírus humano vão estimular o desenvolvimento de várias patologias malignas e são responsáveis pelas infeções virais mais frequentes na cavidade oral. A mucosa oral está em constante alteração, uma vez que a cavidade oral é um dos maiores focos de infeções e transmissão viral.

O vírus Epstein-Barr é considerado um dos vírus da família *Herpesviridae* mais comum, afetando 95% da população, podendo ser transmitido oralmente sobretudo através da saliva.

A saliva apresenta um papel imunológico preponderante contra as infeções virais e bacterianas. Os anticorpos específicos, para a maioria das infeções virais, podem ser detetados na saliva. Daí, a saliva se tornar, cada vez mais, como um meio auxiliar da monitorização da saúde do indivíduo, bem como, um meio de diagnóstico fiável para deteção de doenças de origem viral e bacteriana.

Apesar disso, o EBV é capaz de entrar tanto nas células B como nas células epiteliais, por meio de várias glicoproteínas virais presentes no invólucro que são reconhecidas pelos diversos recetores celulares, fazendo aumentar a eficácia da transmissão viral.

Por outro lado, as células infetadas pelo vírus, durante o período de latência, podem revelar um grupo de genes restritos que intervêm na carcinogénese, desregulando a função celular.

Até ao momento, não existe nenhuma vacina totalmente eficaz para a prevenção da infeção por EBV, mas têm sido realizados ensaios clínicos e trabalhos de investigação com o objetivo de encontrar soluções alternativas que minimizem os efeitos da infeção.

O médico dentista assume, então, um papel importante na avaliação e diagnóstico de lesões orais provocadas por agentes infecciosos, além de atuar na preservação da saúde do paciente. Quanto mais precocemente for realizado o diagnóstico, melhor será o prognóstico da doença e do tratamento.

Por fim, recomenda-se a realização de estudos, especialmente dirigidos aos médicos dentistas, que alertem sobre as neoplasias malignas associadas ao vírus Epstein-Barr e às complicações a nível da cavidade oral. Sugere-se, ainda, que alunos de medicina dentária e médicos dentistas sejam incentivados a detetar e a diagnosticar precocemente as lesões pré-malignas que antecedem os tumores da cabeça e do pescoço, contribuindo assim de forma ativa para a redução de doenças malignas na população.

4. BIBLIOGRAFIA

- Aaro, T., Jaana, R., Reidar, G., & Kari, S. (2017). Epstein-Barr virus (EBV) -encoded small RNAs (EBERs) associated with poor prognosis of head and neck carcinomas. *Oncotarget*, 8(16), 27328–27338.
- Abeles, S. R., & Pride, D. T. (2014). Molecular bases and role of viruses in the human microbiome. *Journal of Molecular Biology*, 426(23), 3892–3906. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2014.07.002>
- Adham, M., Kurniawan, A. N., Muhtadi, A. I., Roezin, A., Hermani, B., Gondhowiardjo, S., ... Middeldorp, J. M. (2012). Nasopharyngeal carcinoma in Indonesia: epidemiology, incidence, signs, and symptoms at presentation. *Chinese Journal of Cancer*, 31(4), 185–196.
- Akiba, S., Koriyama, C., Herrera-goepfert, R., & Eizuru, Y. (2008). Epstein-Barr virus associated gastric carcinoma : Epidemiological and clinicopathological features. *Cancer Science*, 99(2), 195–201. <https://doi.org/10.1111/j.1349-7006.2007.00674.x>
- Ambrosio, M. R., Mastrogiulio, M. G., Barone, A., Rocca, B. J., Gallo, C., Lazzi, S., ... Bellan, C. (2013). Lymphoepithelial-like carcinoma of the parotid gland : a case report and a brief review of the western literature. *Diagnostic Pathology*, 8(1), 1–6. <https://doi.org/10.1186/1746-1596-8-115>
- Ansell, S. M. (2015). Hodgkin Lymphoma : Diagnosis and Treatment. *Mayo Clinic Proceedings*, 90(11), 1574–1583. <https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2015.07.005>
- Awojobi, O., Newton, J. T., & Scott, S. E. (2016). Pilot study to train dentists to communicate about oral cancer : the impact on dentists ' self- reported behaviour , confidence and beliefs. *Nature Publishing Group*, 220(2), 71–76. <https://doi.org/10.1038/sj.bdj.2016.57>
- Balfour, H. H., Dunmire, S. K., & Hogquist, K. A. (2015). Infectious mononucleosis. *Clinical & Translational Immunology*, 4(2), 1–6. <https://doi.org/10.1038/cti.2015.1>
- Baumforth, K. R., Young, L. S., Flavell, K. J., Constandinou, C., & Murray, P. G. (1999). The Epstein-Barr virus and its association with human cancers. *Molecular Pathology : MP*, 52(6), 307–22. <https://doi.org/10.1136/mp.52.6.307>
- Bienemann, K., Borkhardt, A., Klapper, W., & Oschlies, I. (2015). High incidence of Epstein – Barr virus (EBV) -positive Hodgkin lymphoma and Hodgkin lymphoma-like B-cell lymphoproliferations with EBV latency profile 2 in children with

- interleukin-2-inducible T-cell kinase deficiency. *Histopathology*, 67(5), 607–616.
<https://doi.org/10.1111/his.12677>
- Bollard, C. M., Gottschalk, S., Torrano, V., Diouf, O., Ku, S., Hazrat, Y., ... Rooney, C. M. (2013). Sustained Complete Responses in Patients With Lymphoma Receiving Autologous Cytotoxic T Lymphocytes Targeting Epstein-Barr Virus Latent Membrane Proteins. *Journal of Clinical Oncology*, 32(8), 798–808.
<https://doi.org/10.1200/JCO.2013.51.5304>
- Brown, D. M. (2011). Cytolytic CD4 Cells: Direct Mediators in Infectious Disease and Malignancy. *Cellular Immunology*, 262(2), 89–95.
<https://doi.org/10.1016/j.cellimm.2010.02.008>
- Carmo, L., Isabela, N. R., Ferreira, D. C., Paiva, S. S. M., Rosado, A. S., & Siqueira, F. (2011). Identification of Herpesviruses Types 1 to 8 and Human Papillomavirus in Acute Apical Abscesses. *Journal of Endodontics*, 37(1), 10–16.
<https://doi.org/10.1016/j.joen.2010.09.009>
- Carpenter, G. H. (2013). The Secretion, Components, and Properties of Saliva. *Annual Review of Food Science and Technology*, 4(1), 267–276.
<https://doi.org/10.1146/annurev-food-030212-182700>
- Castagnola, M., Picciotti, P. M., Messana, I., Fanali, C., Fiorita, a, Cabras, T., ... Scarano, E. (2011). Potential applications of human saliva as diagnostic fluid. *Acta Otorhinolaryngologica Italica: Organo Ufficiale Della Società Italiana Di Otorinolaringologia E Chirurgia Cervico-Facciale*, 31(6), 347–57.
<https://doi.org/unknown>
- Cesarman, E. (2014). Gammaherpesviruses and Lymphoproliferative Disorders. *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease*, 9(1), 349–372.
<https://doi.org/10.1146/annurev-pathol-012513-104656>
- Chung, B. K., Tsai, K., Allan, L. L., Zheng, D. J., Nie, J. C., Biggs, C. M., ... Tan, R. (2013). Innate immune control of EBV-infected B cells by invariant natural killer T cells. *Blood*, 122(15), 2600–2609. <https://doi.org/10.1182/blood-2013-01-480665>.J.J.P.
- Cohen, J. I. (2000). Epstein-Barr Virus Infection. *The New England Journal of Medicine*, 343, 481–492.
- Cohen, J. I. (2015). Epstein – barr virus vaccines. *Clinical & Translational Immunology*, 4(1), 1–6. <https://doi.org/10.1038/cti.2014.27>
- Cohen, J. I., Fauci, A. S., Varmus, H., & Nabel, G. J. (2012). Epstein-Barr Virus: An

- Important Vaccine Target for Cancer Prevention. *Nacional Institute of Health*, 3(107), 1–6. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3002878>. Epstein-Barr
- Corstjens, P. L. A. M., Abrams, W. R., & Malamud, D. (2016). Saliva and viral infections. *Periodontology 2000*, 70(1), 93–110. <https://doi.org/10.1111/prd.12112>
- Damania, B. (2006). DNA tumor viruses and human cancer. *Trends in Microbiology*, 15(1), 38–44. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2006.11.002>
- Dogan, S., Hedberg, M. L., Ferris, R. L., Rath, T., J., Assaad, A., M., & Chiosea, S., I. (2014). Human papillomavirus and Epstein-Barr virus in nasopharyngeal carcinoma in low-incidence population. *Head Neck*, 36(4), 511–516. <https://doi.org/10.1038/nbt.3121>. ChIP-nexus
- Duraiswamy, J., Sherritt, M., Thomson, S., Tellam, J., Cooper, L., Connolly, G., ... Khanna, R. (2003). Therapeutic LMP1 polyepitope vaccine for EBV-associated Hodgkin disease and nasopharyngeal carcinoma. *Blood*, 101(8), 3150–3156. <https://doi.org/10.1182/blood-2002-10-3092>. J.D.
- Edgar, M., & Thornhill, M. (2015). Saliva A review of its role in maintaining oral health and preventing dental disease. *Nature Publishing Group*, 2, 1–3. <https://doi.org/10.1038/bdjteam.2015.123>
- Epstein, M., Achong, B., & Barr, Y. (1964). Virus Particles in Cultures Lymphoblasts Form Burkitt's Lymphoma. *Lancet*, (cm), 1964.
- Feederle, R., & Taniere, P. (2007). Epstein-Barr virus-associated tumours: an update for the attention of the working pathologist. *Journal of Clinical Pathology*, 60(12), 1358–1364. <https://doi.org/10.1136/jcp.2006.044586>
- Gajendra, S., Cruz, G., & Kumar, J. (2008). Oral Cancer Prevention and Early Detection: Knowledge, Practices, and Opinions of Oral Health Care Provides in New York State. *Nacional Institute of Health*, 23(1), 1–7. <https://doi.org/10.1038/jid.2014.371>
- Galdiero, S., Falanga, A., Tarallo, R., Russo, L., Galdiero, E., Cantisani, M., ... Galdiero, M. (2013). Peptide inhibitors against herpes simplex virus infections. *Journal of Peptide Science*, 19(3), 148–158. <https://doi.org/10.1002/psc.2489>
- Gao, Z., Lv, J., & Wang, M. (2016). Epstein – Barr virus is associated with periodontal diseases. *Medicine*, 96(6), 1–6.
- Grywalska, E., & Rolinski, J. (2015). Epstein-Barr virus-associated lymphomas. *Seminars in Oncology*, 42(2), 291–303. <https://doi.org/10.1053/j.seminoncol.2014.12.030>
- Guidry, J., Birdwell, C., & Scott, R. (2017). Epstein-Barr virus in the pathogenesis of oral

- cancers. *Oral Diseases*, 1–12. <https://doi.org/10.1111/odi.12656>
- Haddad, R., Annino, D., & Tishler, R. B. (2008). Multidisciplinary Approach to Cancer Treatment : Focus on Head and Neck Cancer. *The Dental Clinics of North America*, 52(1), 1–17. <https://doi.org/10.1016/j.cden.2007.10.005>
- Harris, S. A., & Harris, E. A. (2015). Herpes Simplex Virus Type 1 and Other Pathogens are Key Causative Factors in Sporadic Alzheimer’s Disease. *Journal of Alzheimer’s Disease*, 48(2), 319–353. <https://doi.org/10.3233/JAD-142853>
- Hashmi, A. A., Hussain, Z. F., Hashmi, K. A., Zafar, M. I., Edhi, M. M., Faridi, N., & Khan, M. (2017). Latent membrane protein 1 (LMP1) expression in Hodgkin lymphoma and its correlation with clinical and histologic parameters. *World Journal of Surgical Oncology*, 1, 1–5. <https://doi.org/10.1186/s12957-017-1147-y>
- Hertrampf, K., Wenz, H., Koller, M., & Grund, S. (2013). Early detection of oral cancer : Dentists ’ opinions and practices before and after educational interventions in Northern-Germany. *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery*, 41(8), e201–e207. <https://doi.org/10.1016/j.jcms.2013.01.019>
- Hirunsatit, R., Kongruttanachok, N., Shotelersuk, K., Supiyaphun, P., Voravud, N., Sakuntabhai, A., & Mutirangura, A. (2003). Polymeric immunoglobulin receptor polymorphisms and risk of nasopharyngeal cancer. *BMC Genetics*, 9, 1–9.
- Hjalgrim, H., Askling, J., Rostgaard, K., Hamilton-dutoit, S., Frisch, M., Zhang, J., ... Melbye, M. (2003). Characteristics of Hodgkin’s Lymphoma after Infectious Mononucleosis. *The New England Journal of Medicine*, 349(14), 1324–1332.
- Hjalgrim, H., Askling, J., Sørensen, P., Madsen, M., Storm, H. H., Stener, L., & Frisch, M. (2000). Risk of Hodgkin ’ s Disease and Other Cancers After Infectious Mononucleosis Background : Infectious mononucleosis , which is caused by the Epstein-Barr vi- rus , has been associated with an in- fectionous mononucleosis affects long- term risk of Hodgkin ’ . *Journal of the National Cancer Institute*, 92(18), 1522–1528.
- Huang, H., Liu, Z. L., Zeng, H., Zhang, S. H., Huang, C. S., Xu, H. Y., ... Yang, W. P. (2015). Clinicopathological study of sporadic Burkitt lymphoma in children. *Chinese Medical Journal*, 128(4), 510–514. <https://doi.org/10.4103/0366-6999.151106>
- Humphrey, S. P., & Williamson, R. T. (2001). A review of saliva: Normal composition, flow, and function. *Journal of Prosthetic Dentistry*, 85(2), 162–169. <https://doi.org/10.1067/mpr.2001.113778>

- Iizasa, H., Nanbo, A., Nishikawa, J., Jinushi, M., & Yoshiyama, H. (2012). Epstein-barr virus (EBV)-associated gastric carcinoma. *Viruses*, 4(12), 3420–3439. <https://doi.org/10.3390/v4123420>
- Ikuta, K., Satoh, Y., Hoshikawa, Y., & Sairenji, T. (2000). Detection of Epstein-Barr virus in salivas and throat washings in healthy adults and children. *Microbes and Infection*, 2(2), 115–120. [https://doi.org/10.1016/S1286-4579\(00\)00277-X](https://doi.org/10.1016/S1286-4579(00)00277-X)
- Jakovljevic, A., Andric, M., Knezevic, A., Soldatovic, I., Nikolic, N., Karalic, D., & Milasin, J. (2015). Human cytomegalovirus and Epstein-Barr virus genotypes in apical periodontitis lesions. *Journal of Endodontics*, 41(11), 1847–1851. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2015.08.027>
- Jemal, A., Bray, F., & Ferlay, J. (2011). Global Cancer Statistics. *A Cancer Journal for Clinicians*, 61(2), 69–90. <https://doi.org/10.3322/caac.20107>. Available
- Jiang, Y.-C., Feng, H., Lin, Y.-C., & Guo, X.-R. (2016). New strategies against drug resistance to herpes simplex virus. *International Journal of Oral Science*, 8(1), 1–6. <https://doi.org/10.1038/ijos.2016.3>
- Kamran, S. C., Riaz, N., & Lee, N. (2015). Nasopharyngeal Carcinoma. *Surgical Oncology Clinics of NA*, 24(3), 547–561. <https://doi.org/10.1016/j.soc.2015.03.008>
- Khammissa, R. A. G., Fourie, J., Chandran, R., Lemmer, J., & Feller, L. (2016). Epstein-Barr virus and its association with oral hairy leukoplakia: A short review. *International Journal of Dentistry*, 2016, 1–6. <https://doi.org/10.1155/2016/4941783>
- Kikuchi, K., Inoue, H., Miyazaki, Y., & Ide, F. (2017). Epstein — Barr virus (EBV) - associated epithelial and non-epithelial lesions of the oral cavity. *Japanese Dental Science Review*, 53(3), 1–15. <https://doi.org/10.1016/j.jdsr.2017.01.002>
- Kikuchi, K., Noguchi, Y., Rivera, M. W. G. De, Hoshino, M., Sakashita, H., Yamada, T., ... González-lópez, B. S. (2015). Detection of Epstein-Barr virus genome and latent infection gene expression in normal epithelia , epithelial dysplasia , and squamous cell carcinoma of the oral cavity. *Tumor Biology: The Journal of International Society for Oncodevelopmental Biology and Medicine*, 37(3), 3389–404. <https://doi.org/10.1007/s13277-015-4167-7>
- Kirschner, A. N., Omerovic, J., Popov, B., Longnecker, R., & Jardetzky, T. S. (2006). Soluble Epstein-Barr Virus Glycoproteins gH , gL , and gp42 Form a 1 : 1 : 1 Stable Complex That Acts Like Soluble gp42 in B-Cell Fusion but Not in Epithelial Cell Fusion. *America Society for Microbiology*, 80(19), 9444–9454.

<https://doi.org/10.1128/JVI.00572-06>

- Koriyama, C.; Akiba, S.; Minakami, Y.; Eizuru, Y. (2005). Environmental factors related to Epstein–Barr virus–associated gastric cancer in Japan. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, 24(4), 547–553
- Kukhanova, M. K., Korovina, a N., & Kochetkov, S. N. (2014). Human Herpes Simplex Virus: Life Cycle and Development of Inhibitors. *Biochemistry-Moscow*, 79(13), 1635–1652. <https://doi.org/10.1134/s0006297914130124>
- Lehew, C. W., & Kaste, L. M. (2007). Oral Cancer Prevention and Early Detection Knowledge and Practices of Illinois Dentists – A Brief Communication. *Journal of Public Health Dentistry*, 67(2), 89–93. <https://doi.org/10.1111/j.0022-4006.2007.00020.x>
- Messadi, D. V., Wilder-Smith, P., & Wolinsky, L. (2010). Improving Oral Cancer Survival : The Role of Dental Providers. *Journal of California Dental Association*, 37(11), 789–798.
- Mighell, A. J., & Gallagher, J. E. (2012). Oral cancer – improving early detection and promoting prevention . Are you up to date ? *Nature Publishing Group*, 213(6), 297–299. <https://doi.org/10.1038/sj.bdj.2012.838>
- Mohan, R. P. S., Verma, S., Singh, U., & Agarwal, N. (2013). Acute primary herpetic gingivostomatitis. *BMJ Case Reports*, 2013(C), 1–3. <https://doi.org/10.1136/bcr-2013-200074>
- Mol, R. P. (2010). The Role of Dentist in Palliative Care Team. *Indian Journal of Palliative Care*, 16(2), 74–78. <http://doi.org/10.4103/0973-1075.68408>
- Mozaffari, H. R., Ramezani, M., & Janbakhsh, A. (2017). Malignant Salivary Gland Tumors and Epstein-Barr Virus (EBV) Infection : A Systematic Review and Meta-Analysis. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 18(5), 1201–1206. <https://doi.org/10.22034/APJCP.2017.18.5.1201>
- Nogueira, C., Mota, M., Gradiz, R., Cipriano, M. A., Caramelo, F., Cruz, H., ... Pereira, J. M. (2017). Prevalence and characteristics of Epstein – Barr virus-associated gastric carcinomas in Portugal. *Infectious Agents and Cancer*, 1–8. <https://doi.org/10.1186/s13027-017-0151-8>
- Nystad, T. W., & Myrmel, H. (2007). Prevalence of primary versus reactivated Epstein-Barr virus infection in patients with VCA IgG- , VCA IgM- and EBNA-1-antibodies and suspected infectious mononucleosis. *Journal of Clinical Virology*, 38(4), 292–297. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2007.01.006>

- Ozoya, O. O., Sokol, L., & Dalia, S. (2016). EBV-Related Malignancies, Outcomes and Novel Prevention Strategies. *Infectious Disorders - Drug Targets*, 16(1), 4–21.
- Pagano, J. S., Blaser, M., Buendia, M., Damania, B., Khalili, K., Raab-traub, N., & Roizman, B. (2004). Infectious agents and cancer : criteria for a causal relation. *Seminar in Cancer Biology*, 14(6), 453–471. <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2004.06.009>
- Palareti, G., Legnani, C., Cosmi, B., Antonucci, E., Erba, N., Poli, D., ... Tosetto, A. (2016). Comparison between different D-Dimer cutoff values to assess the individual risk of recurrent venous thromboembolism: Analysis of results obtained in the DULCIS study. *International Journal of Laboratory Hematology*, 38(1), 42–49. <https://doi.org/10.1111/ijlh.12426>
- Poh, S. S., Lee, M., Chua, K., & Wee, J. T. S. (2016). Carcinogenesis of nasopharyngeal carcinoma : an alternate hypothetical mechanism. *Chinese Journal of Cancer*, 35(9), 1–9. <https://doi.org/10.1186/s40880-015-0068-9>
- Pride, D. T., Salzman, J., Haynes, M., Rohwer, F., Davis-Long, C., White, R. A., ... Relman, D. A. (2012). Evidence of a robust resident bacteriophage population revealed through analysis of the human salivary virome. *The ISME Journal*, 6(5), 915–926. <https://doi.org/10.1038/ismej.2011.169>
- Rahim, M. A. A., Abdul Rahim, Z. H., Wan Ahmad, W. A., & Hashim, O. H. (2015). Can saliva proteins be used to predict the onset of acute myocardial infarction among high-risk patients? *International Journal of Medical Sciences*, 12(4), 329–335. <https://doi.org/10.7150/ijms.11280>
- Ren, Q., Sato, H., Muroso, S., Furukawa, M., & Yoshizaki, T. (2004). Epstein-Barr Virus (EBV) Latent Membrane Protein 1 Induces Interleukin-8 through the Nuclear Factor- kB Signaling Pathway in EBV-Infected Nasopharyngeal Carcinoma Cell Line. *The Laryngoscope*, 114(5), 855–859.
- Robles-Sikisaka, R., Ly, M., Boehm, T., Naidu, M., Salzman, J., & Pride, D. T. (2013). Association between living environment and human oral viral ecology. *The ISME Journal*, 7(9), 1710–1724. <https://doi.org/10.1038/ismej.2013.63>
- Rochford, R., & Moormann, A. M. (2015). *Burkitt's Lymphoma. Current topics in Microbiology and Immunology* (Vol. 390). <https://doi.org/10.1007/978-3-319-22822-8>
- Rosenblatt, E., Rachmiel, A., & Goldenberg, R. F. (2001). Epstein-Barr Virus and Cancers of the Head. *American Journal of Otolaryngology*, 22(3), 197–205.

<https://doi.org/10.1053/ajot.2001.23429>

- Rowe, M., Fitzsimmons, L., & Bell, A. I. (2014). Epstein-Barr virus and Burkitt lymphoma. *Chinese Journal of Cancer*, 33(12), 609–619. <https://doi.org/10.5732/cjc.014.10190>
- Sabeti, M., Simon, J. H., Nowzari, H., & Slots, J. (2003). Cytomegalovirus and Epstein-Barr Virus Active Infection in Periapical Lesions of Teeth with Intact Crowns. *Journal of Endodontics*, 29(11), 5–7.
- Santos, I. G. P., Danda, T. F. Q., & Teixeira, A. L. de S. (2015). Aspectos clínicos e tomográficos do linfoma de Burkitt em paciente pediátrico - relato de caso. *Revista de Cirurgia E Traumatologia Buco-Maxilo-Facial*, 15(2), 21–26.
- Santos, I. V., Daltro, T., Alves, B., Miranda, M., Falcão, L., & Freitas, V. S. (2011). O papel do cirurgião-dentista em relação ao câncer de boca The paper of the dentist in relation to the oral cancer. *Odontologia Clínico-Científica*, 10(3), 207–210.
- Sanz, M., Treasure, E., Dijk, W. Van, Feldman, C., & Groeneveld, H. (2008). Profile of the dentist in the oral healthcare team in countries with developed economies. *European Journal of Dental Education*, 12(September 2007), 101–110.
- Saygun, I., Kubar, A., Sahin, S., Sener, K., & Slots, J. (2008). Quantitative analysis of association between herpesviruses and bacterial pathogens in periodontitis. *Journal of Periodontal Research*, 43(3), 352–359. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0765.2007.01043.x>
- Servat, E., Ro, B. W., Cayatte, C., Gemmell, L., Barton, C., Rao, E., ... Hayes, G. M. (2015). Identification of the critical attribute(s) of EBV gp350 antigen required for elicitation of a neutralizing antibody response in vivo. *Vaccine*, 33(48), 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2015.10.024>
- Skinner, C. M., Ivanov, N. S., Barr, S. A., Chen, Y., & Skalsky, R. L. (2017). An Epstein-Barr Virus microRNA Blocks IL-1 Signaling By Targeting the Interleukin-1 Receptor 1. *Journal of Virology*, (August). <https://doi.org/10.1128/JVI.00530-17>
- Slots, J., Saygun, I., Sabeti, M., & Kubar, A. (2006). Epstein-Barr virus in oral diseases. *Journal of Periodontal Research*, 41(4), 235–244. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0765.2006.00865.x>
- Sokal, E. M., Hoppenbrouwers, K., Vandermeulen, C., Moutschen, M., Léonard, P., Moreels, A., ... Denis, M. (2007). Recombinant gp350 Vaccine for Infectious Mononucleosis : A Phase 2 , Randomized , Double- Blind , Placebo-Controlled Trial to Evaluate the Safety , Immunogenicity , and Efficacy of an Epstein- Barr Virus

- Vaccine in Healthy Young Adults. *The Journal of Infectious Diseases*, 196(12), 1749–1753. <https://doi.org/10.1086/523813>
- Stanfield, B. A., & Luftig, M. A. (2017). Recent advances in understanding Epstein-Barr virus. *F1000Research*, 6(0), 386. <https://doi.org/10.12688/f1000research.10591.1>
- Takada, K. (2000). Epstein-Barr virus and gastric carcinoma. *Journal of Clinical Pathology: Molecular Pathology*, 53(5), 255–261.
- Tangye, S. G., Palendira, U., & Edwards, E. S. J. (2017). Human immunity against EBV — lessons from the clinic. *J Exp Med*, 214(2), 269–283. <https://doi.org/10.1084/jem.20161846>
- Thorley-lawson, D. A. (2015). EBV Persistence-Introducing the Virus. *Current Topics in Microbiology and Immunology*, 390(Pt 1), 151–209. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-22822-8>
- Thorley-Lawson, D., Deitsch, K. W., Duca, K. A., & Torgbor, C. (2016). The Link between Plasmodium falciparum Malaria and Endemic Burkitts Lymphoma-New Insight into a 50-Year-Old Enigma. *PLoS Pathogens*, 12(1), 12–16. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1005331>
- Tsai, K., Thikmyanova, N., Wojcechowskyj, J. A., Delecluse, H., & Paul, M. (2011). EBV Tegument Protein BNRF1 Disrupts DAXX-ATRAX to Activate Viral Early Gene Transcription. *PLoS Pathogens*, 7(11), 1–12. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1002376>
- Wang, L. W., Jiang, S., & Gewurtz, B. E. (2017). Epstein-Barr Virus LMP1 Mediated Oncogenicity. *Journal of Virology*, (August), 1–25. <https://doi.org/10.1128/JVI.01718-16>
- Wong, D. T. (2006). Towards a simple , saliva-based test for detection of oral cancer. *Expert Review of Molecular Diagnostics*, 6(3), 267–272.
- Wu LY, Cheng J, Lu Y, Zhou ZY, Saku T (2004). Epstein-Barr virus infection in lymphoepithelial carcinoma of salivary glands in Sichuan Chinese. *Journal of Sichuan University* , 35(4), 506-7.
- Zarrouk, K., Piret, J., & Boivin, G. (2017). Herpesvirus DNA Polymerases: Structures, Functions and Inhibitors. *Virus Research*, 234, 177–192. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2017.01.019>

Zhu, C., Li, F., Wong, M. C. M., Feng, X.-P., Lu, H.-X., & Xu, W. (2015). Association between Herpesviruses and Chronic Periodontitis: A Meta-Analysis Based on Case-Control Studies. *Plos One*, *10*(12), e0144319. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0144319>