

# INFECÇÃO PELO VÍRUS EPSTEIN-BARR E ONCOGÊNESE

EPSTEIN-BARR VIRUS INFECTION AND ONCOGENESIS

ANTONIO VAZ DE MACEDO\*, MANOEL OTÁVIO DA COSTA ROCHA\*\*

## RESUMO

As infecções como um todo associam-se a 15% a 20% dos cânceres em geral. Entre os agentes etiológicos carcinogênicos, destacam-se os vírus oncogênicos. O vírus Epstein-Barr (VEB) é o mais potente vírus indutor de transformação e crescimento celular conhecido, sendo capaz de imortalizar linfócitos B humanos. Está relacionado com o linfoma de Burkitt, o carcinoma nasofaríngeo e outros tipos de neoplasia. Porém, não se sabe ao certo se o VEB seria apenas um componente inocente ou se contribui realmente para o desenvolvimento desses tumores. A compreensão da persistência do VEB no organismo e dos mecanismos pelos quais, na sua interação com a célula, ele contribui para o surgimento de uma neoplasia pode permitir novas abordagens para a prevenção e o tratamento dos tumores a ele associados.

**Palavras-chave:** Vírus oncogênicos, vírus Epstein-Barr, linfoma de Burkitt, neoplasias nasofaríngeas.

As infecções parecem constituir, depois do tabagismo, a mais importante causa prevenível de câncer em seres humanos. Entre 15% a 20% desses cânceres estão associados com as infecções (em torno de 7%, nos países desenvolvidos, e 22%, nos países em desenvolvimento), correspondendo a 1,2 milhão de casos por ano.<sup>1</sup>

Os vírus oncogênicos estão especialmente envolvidos nesse processo. O VEB está relacionado com o carcinoma nasofaríngeo (CNF), linfoma de Burkitt (LB) e outros tipos de neoplasia; o vírus do papiloma humano (VPH), com o câncer anogenital; os vírus das hepatites B e C, com o carcinoma hepatocelular; e o vírus T linfotrópico humano do tipo I (VTLH-1), com a leucemia/linfoma de células T do adulto. Cabe lembrar o papel direto ou indireto da infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (VIH) no desenvolvimento de diversas neoplasias.

\* Acadêmico do curso de Medicina da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais

\*\* Professor Titular do Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais

Endereço para correspondência:  
Prof. Manoel Otávio da Costa Rocha  
Curso de Pós-Graduação em Medicina Tropical  
Faculdade de Medicina da UFMG  
Av. Alfredo Balena, 130  
30130-100 Belo Horizonte – MG  
(31) 3248-9822  
E-mail: rochamoc@medicina.ufmg.br

Em todos os tumores associados com infecção viral, observa-se longo período de latência entre a infecção e o aparecimento da neoplasia e baixa proporção de indivíduos infectados que desenvolvem tumor maligno. Os vírus oncogênicos parecem ser, portanto, necessários, mas não suficientes para a indução das neoplasias a eles associadas – as condições no momento da infecção inicial, além de outros fatores, são essenciais, e podem determinar o padrão da interação agente-hospedeiro.<sup>2,3</sup>

Os vírus oncogênicos são capazes de persistir no organismo, podendo infectar precursores de células malignas e continuar a expressar genes virais em células tumorais. Para que uma neoplasia se desenvolva, entretanto, a infecção viral tem de afetar as células pluripotentes de um tecido, já que células diferenciadas, de maneira geral, não podem se imortalizar.<sup>3</sup> Tumores que se desenvolvem como resultado de agentes infecciosos são quase sempre monoclonais, o que indica que eles teriam sua origem em uma única célula maligna. É interessante observar que a remoção do agente infeccioso pode reverter o desenvolvimento tumoral.

É preciso ter cautela ao se associar um tipo de neoplasia e um dado agente viral. O vírus pode, por exemplo, ser ativado como consequência de um processo carcinogênico e, dessa forma, não ser o agente etiológico do mesmo. Além disso, pode constituir um mero marcador de uma infecção por outro agente, o verdadeiro agente causal. Por outro lado, associações podem passar despercebidas caso se usem marcadores sorológicos inadequados, ou se o vírus for removido do genoma hospedeiro durante a carcinogênese.

O estudo da carcinogênese viral ajuda a compreender a carcinogênese em geral, na medida em que se conhecem os mecanismos pelos quais os vírus, na sua interação com a célula hospedeira, contribuem para o surgimento de uma neoplasia. O LB, por exemplo, constitui modelo único para o entendimento das várias etapas envolvidas nesse processo. Nele, o VEB aparece como provável iniciador dos processos oncogênicos.

## INFECÇÃO VIRAL E CARCINOGENESE

Os vírus necessitam, para se replicar, da maquinaria biossintética celular. Na sua interação com a célula, as seguintes situações podem ocorrer:<sup>2,4</sup>

- *infecção produtiva, com lise celular*: ocorre multiplicação do vírus em células permissivas, com inibição da biossíntese celular e consequente lise da célula hospedeira;
- *infecção celular com baixa e contínua produção de vírus*, em que a expressão reduzida de antígenos virais permitiria aos vírus escaparem da resposta imunológica;

- *infecção não-produtiva*, na qual duas situações são possíveis:
  - a informação genética viral permanece em estado latente na célula (sob a forma de epissoma ou incorporada ao genoma celular), mas sujeita à reativação subsequente para um novo ciclo produtivo;
  - o genoma do vírus, incorporado ao genoma celular, também não se replica, mas se expressa por alterações celulares de transformação maligna.

Essas diversas formas de infecção podem ser concomitantes em um mesmo indivíduo, desde que, é claro, afetem diferentes células-alvo.<sup>4</sup>

A presença do genoma viral pode afetar o controle do ciclo de divisão e diferenciação da célula hospedeira. Mais especificamente, a integração ao genoma celular pode resultar em *mutagênese insercional*, ao provocar deleções, transposições, duplicações (nos genomas viral e celular), translocações cromossômicas, ampliações do ADN hospedeiro, inserção de genes virais transformantes ou de promotores e transativadores virais na intimidade de oncogenes celulares, etc. Esses rearranjos podem ocorrer no próprio sítio de integração, ou mesmo à distância, uma vez que a inserção viral pode desencadear “instabilidade genética”, favorecendo o acúmulo de mutações.<sup>2</sup>

A carcinogênese viral é um processo em múltiplas etapas, que envolve:<sup>2</sup>

- *iniciação*: ocorre quando as macromoléculas celulares, particularmente o ADN, sofrem uma alteração que culmina com a aquisição de um traço genético de malignidade;
- *promoção*: implica expansão clonal, incrementando a possibilidade de que as células sofram uma segunda alteração genética, a qual pode proporcionar uma vantagem seletiva, com subsequente produção de outras expansões clonais, associadas a novas alterações genéticas;
- *progressão*: processo decorrente dos dois anteriores e segundo o qual as células adquirem, progressivamente, características malignas e capacidade metastática.

Nos cultivos de células transformadas por vírus, observam-se células com morfologia alterada e que, devido à perda da inibição por contato, se dispõem em várias camadas, formando colônias desorganizadas. Nessas colônias, as células com o genoma viral integrado expressam um ou mais genes virais que podem promover a sua *imortalização* (capacidade de se reproduzir indefinidamente). Notam-se modificações antigênicas no nível de membrana, e outros novos antígenos são expressos, codificados por genes virais e celulares. Passadas várias gerações, as células transformadas são capazes de induzir tumores, ao serem inoculadas, por exemplo, em camundongos recém-

nascidos ou atímicos, desfavorecidos pela imaturidade ou deficiência imunológica.

Em relação aos mecanismos gerais de oncogênese viral, citam-se:<sup>3</sup>

- *transformação direta de células*: por meio da inserção de oncogenes virais ativos, da inativação de proteínas supressoras tumorais ou do estímulo à mitose, ocorreria a transformação maligna das células infectadas.
- *indução de inflamação crônica*, como resultado da persistência de um agente infeccioso no organismo. Frequentemente, este processo é acompanhado pela formação de compostos de oxigênio e nitrogênio reativos que interferem na atividade enzimática e expressão gênica celulares, e danificam, por “estresse oxidativo”, ADN, proteínas e membranas celulares. Com o dano celular repetido, sobrevém um estado hiperproliferativo, em que maior número de células estão susceptíveis a dano no material genético, o que pode favorecer o crescimento de células malignas.
- *indução de imunossupressão*, com conseqüente redução da imunovigilância. Em pacientes com a síndrome da imunodeficiência adquirida (SIDA), por exemplo, o curso do câncer costuma ser bastante agressivo.

A proliferação normal das células é regulada por genes promotores de crescimento, denominados *proto-oncogenes*, e genes que restringem a proliferação celular, conhecidos como genes *supressores tumorais*. Qualquer alteração produzida nesse equilíbrio por alguma modificação na atividade desses genes pode iniciar a cascata de eventos que conduz a uma progressiva transformação maligna.<sup>2</sup> Quaisquer genes envolvidos na regulação da expressão gênica ou da replicação do material genético, na progressão através de fases específicas do ciclo celular ou em mecanismos de sinalização extra-celular podem, potencialmente, funcionar como genes supressores tumorais.<sup>5</sup>

Proteínas celulares que, normalmente, são supressoras da indução tumoral interagem com proteínas virais transformantes. Duas delas, a *p53* e a *Rb105*, parecem estar envolvidas em um mecanismo central de regulação em células de mamíferos. A interação com proteínas celulares entregaria aos vírus oncogênicos o controle dos sistemas transcricionais ou regulatórios das células, como os responsáveis pelo controle do ciclo celular, o que poderia ser importante, talvez, para otimizar a replicação viral.<sup>6,7</sup>

As mutações na *p53* são as alterações mais frequentes nos cânceres humanos. Esta proteína desempenha papel central na vigilância e manutenção da estabilidade genômica logo após o dano genético celular. As mutações na *p53* determinam sua inabilidade para deter o ciclo celular na fase G1 e induzir *apoptose* (morte celular programada). Proliferação celular desordenada também resulta de

mutação na proteína *Rb105*, a qual exerce função importante no controle do ciclo celular, através da ativação indireta de genes, como o *c-myc*, envolvido na replicação do ADN e na proliferação celular.

Além dos fatores virais e celulares implicados na carcinogênese, o estado imunológico do hospedeiro e fatores hormonais, genéticos e ambientais podem também estar envolvidos.

#### ASPECTOS ONCOGENÉTICOS DA INFECÇÃO PELO VEB

O VEB é o mais potente vírus indutor de transformação e crescimento celular conhecido, sendo capaz de imortalizar linfócitos B humanos. Linhagens celulares podem ser facilmente obtidas, *in vitro*, a partir do sangue de indivíduos que estiveram expostos ao VEB, ou se linfócitos são cultivados na presença desse agente. Portanto, o genoma do VEB é necessário para a obtenção de culturas contínuas de células linfoblastóides humanas.<sup>4,8</sup> A confirmação de que o agente transformante é o VEB foi feita através da detecção de antígenos virais, por imunofluorescência indireta ou por hibridização *in situ* de ADN celular com ADN purificado de VEB, dentro do núcleo das células transformadas.<sup>9</sup>

No caso da mononucleose infecciosa (MI), a célula que inicia essas linhagens é de caráter não-maligno, carreando o genoma viral, *in vivo*, sob a forma não-produtiva. Quando transferidas para condições laboratoriais, tais células sofrem uma série de transformações, indistinguíveis, para alguns, das obtidas a partir de células de LB; estas, entretanto, já apresentam transformação maligna *in vivo*.

O VEB tem 10 genes transformantes (o genoma completo contém mais de 100 genes), um dos quais codifica uma proteína de membrana essencial para a imortalização, a *PLM* (proteína latente de membrana), cuja expressão só ocorre em células transformadas; por sua estrutura, ela poderia ser um receptor para fatores de crescimento. A *PLM-1* ativa fatores de transcrição e interage com moléculas celulares de sinalização, podendo ter papel importante na oncogênese associada ao VEB. É capaz de transformar morfológicamente linfócitos B e células epiteliais, além de prevenir a apoptose mediada pela *p53*.<sup>10,11,12</sup> Induz a expressão de *bcl-2*, oncogene que promove a sobrevivência celular, e numerosas outras alterações fenotípicas.<sup>11</sup> Não parece ser regularmente expressa na infecção lítica *in vivo* de linfócitos B pelo VEB. Durante a infecção latente *in vitro* de linfócitos B, são expressos os antígenos nucleares do VEB (*ANVEB*), *PLMs* e pequenos ARNs do VEB (*AVEB*). O *ANVEB* desempenha papel importante na imortalização dos linfócitos B; os *AVEBs*, por sua vez, constituem marcadores sensíveis da infecção latente pelo vírus.

A detecção de ADN, ARN e proteínas do VEB, bem como de respostas imunes vírus-específicas, tem permiti-

do a associação do vírus com diversas afecções malignas. A reação em cadeia da polimerase (RCP) tem possibilitado a detecção precoce do ADN viral no líquido de alguns pacientes com SIDA e linfoma do sistema nervoso central (SNC), associado ao VEB. Além disso, por meio dela, é possível monitorar a quantidade de ADN viral no sangue de pacientes com doença linfoproliferativa. O envolvimento do VEB em tumores que não os do cérebro pode ser verificado pela demonstração *in situ* do ADN do vírus ou pela detecção de antígenos virais por técnicas imunocitoquímicas.

Cerca de 75% de todas as leucemias linfóides e 90% de todos os linfomas têm origem em linfócitos B. As leucemias linfocíticas agudas (LLA) são predominantemente cânceres de crianças e adultos jovens. A leucemia de Burkitt (de linfócitos B) ou do tipo L3, que constitui a leucemia linfóide clinicamente mais agressiva conhecida, ocorre em crianças de países em desenvolvimento, e parece estar associada à infecção pelo VEB. Responde por pequena parcela das LLAs na infância e na idade adulta.

Os linfomas de linfócitos T são mais frequentemente associados com o VEB que os linfomas de linfócitos B. Isso sugere que os linfócitos T não sejam tão bem adaptados quanto estes à infecção por esse vírus e, portanto, sejam incapazes de sustentar uma infecção latente não-transformante.<sup>13</sup>

Em pacientes com tumores associados ao VEB, o estágio exato em que a infecção ocorre parece variar, podendo esta se dar antes da expansão clonal maligna (caso em que o VEB poderia desempenhar papel essencial no processo de carcinogênese) ou após a mesma, ou seja, em tumores já estabelecidos. Neste caso, a infecção poderia não ter efeito algum no processo ou, alternativamente, conferiria vantagem de crescimento aos subclones de células infectadas.<sup>13</sup> Acredita-se que a célula infectada pelo VEB e em proliferação seria mais susceptível ao acúmulo de mutações genéticas, as quais, por sua vez, levariam à transformação maligna.

Fatores próprios do hospedeiro, como capacidade imunológica, condições genéticas e comportamentais e contato com outros agentes infecciosos, além de características intrínsecas do vírus, poderiam, talvez, explicar o fato de o VEB induzir proliferação maligna em apenas certas pessoas. A imunidade celular representa, provavelmente, parte importante do controle das neoplasias malignas. A compreensão da persistência do VEB no organismo e de seu papel oncogênico pode permitir novas abordagens para a prevenção e o tratamento dos tumores a ele associados.

## LINFOMA DE BURKITT

Em 1958, Dennis Burkitt descreveu, pela primeira vez, um linfoma que incidia de maneira endêmica em certas regiões da África, acometendo, sobretudo, crianças.<sup>14</sup> A partir do cultivo, *in vitro*, de células tumorais obtidas de biópsias de LB, Epstein et al. mostraram, em 1964, através da microscopia eletrônica, a presença de vírus, com morfologia típica dos herpesvírus, em pequena proporção dos linfócitos em cultura.<sup>15</sup> Estudos virológicos e imunológicos subsequentes demonstraram tratar-se de vírus diferente, que foi denominado “vírus de Epstein-Barr”.<sup>16</sup>

Nas regiões africanas em que o LB é endêmico, a infecção primária pelo VEB ocorre, sobretudo, no grupo etário de um a três anos; entretanto, a incidência máxima desse linfoma encontra-se naquele de seis a oito anos.<sup>17</sup> Isso indica que o desenvolvimento do tumor poderia estar relacionado a uma infecção primária tardia, rara na região, ou, o que é mais provável, a um evento secundário, que ocorreria alguns anos após a infecção primária.

Estudos demonstraram que os títulos médios geométricos dos anticorpos contra o antígeno do capsídeo viral (anti-ACV) do VEB eram oito a 10 vezes mais altos nos pacientes com LB que em controles normais.<sup>18,19</sup> Mais de 85% dos pacientes com o linfoma tinham anticorpos contra os antígenos precoces (AP) do VEB – com notável predomínio do componente R e em títulos altos o suficiente para exceder, algumas vezes, os títulos de anti-ACV.<sup>20</sup> Em controles normais, tais anticorpos, quando presentes, encontravam-se em títulos baixos. Títulos elevados de anti-AP-R parecem se correlacionar com maior probabilidade de recidiva da doença.<sup>19,20</sup>

Um estudo prospectivo iniciado na década de 70, em Uganda, do qual fizeram parte 42.000 crianças de um a cinco anos, revelou, até 1981, 14 casos de LB. Concluiu-se que o risco de desenvolver esse linfoma naquela região africana era, aproximadamente, 30 vezes maior nas crianças com títulos de anti-ACV – duas ou mais diluições acima da média da população controle normal, o que corresponde a um risco superior àquele observado entre o tabagismo pesado e o carcinoma broncogênico.<sup>17,21</sup>

Acredita-se que existam duas formas distintas de LB: uma associada ao VEB, que ocorre principalmente em crianças, na África Central, onde é endêmico, e, esporadicamente, em outras partes do mundo; e uma outra, de ocorrência rara, não associada ao vírus, em todo o mundo, inclusive na África. Além disso, existe uma terceira forma, associada à imunodeficiência, que ocorre, por exemplo, em pacientes com SIDA.

Tem sido postulado que a causa do LB, nos países onde ocorre endemicamente, seria uma combinação da infecção pelo VEB e pelo *Plasmodium falciparum*. A

malária pode deprimir o controle imunológico através da ativação de linfócitos T-supressores. Além disso, há evidências de que a malária aguda está associada com um aumento no número de linfócitos carreadores de VEB na circulação: esse vírus, agindo conjuntamente com o plasmódio, estimula a proliferação de linfócitos B infectados.<sup>22</sup> O estado hiperproliferativo que daí sobrevém favoreceria o aparecimento de anormalidades citogenéticas nestas células, com conseqüente evolução para câncer.<sup>23</sup>

### CARCINOMA NASOFARÍNGEO

A associação do VEB com o CNF (ou linfioepitelioma) surgiu com as observações de Old et al. de que o soro de pacientes com esta neoplasia comportava-se, em testes de dupla-difusão com extratos de culturas de linfócitos produtoras de VEB, de maneira idêntica ao soro de pacientes com LB.<sup>24,25,26,27</sup> Demonstrou-se, mais tarde, que praticamente todos os pacientes com CNF tinham anticorpos contra o vírus, e que os títulos de anti-ACV eram bem maiores nestes pacientes que nos respectivos controles.<sup>28</sup>

O CNF, raro na América do Norte, é prevalente no Extremo Oriente (sobretudo entre chineses do Sudeste Asiático), em esquimós do Pólo Norte, no Alasca, no leste da África e em populações do norte deste continente, onde ocorre endemicamente. Nesses indivíduos, a infecção primária pelo VEB ocorre nos primeiros anos de vida, precedendo em muitos anos o aparecimento do tumor, o qual predomina em adultos jovens. O CNF pode, entretanto, acometer crianças, correspondendo a cerca de 1% das neoplasias nesta faixa etária. Tem sido também associado com fatores genéticos e ambientais, como o consumo de peixes salgados. Constitui a principal causa de morte entre adultos jovens do sul da China, sendo um dos cânceres mais comuns nessa região (corresponde a 20% de todos os cânceres em determinadas áreas<sup>29</sup>).

Em estudo realizado no Brasil, envolvendo três crianças com diagnóstico confirmado de CNF, foram observados, por métodos imuno-histoquímicos, antígenos *PLM-1* do VEB no citoplasma de 50 a 60% das células tumorais. Destacou-se que, apesar da raridade dessa neoplasia na infância, é freqüente sua associação com a infecção pelo VEB.<sup>30</sup> Entretanto, o papel exato desse vírus na patogênese do CNF ainda não está plenamente esclarecido. A expressão de *PLM* pode ser um importante fator causal deste tumor ou, se não essencial para a gênese do mesmo, pode ser vantajosa para a progressão tumoral.<sup>10</sup> Poder-se-ia, ainda, atribuir um papel etiológico ao VEB baseando-se na constatação do epissoma clonal do vírus nas células tumorais, o que sugere uma possível expansão clonal a partir de uma célula progenitora infectada.<sup>31</sup>

Carcinomas não-diferenciados do tipo nasofaríngeo são raramente observados em outros sítios anatômicos. É provável que, na medida em que se analisarem números maiores de carcinomas, novas associações com o VEB sejam identificadas.<sup>13</sup>

### DOENÇA DE HODGKIN

A doença de Hodgkin (DH) é mais freqüente em indivíduos de condição socioeconômica mais alta de populações ocidentais. Há dois picos de incidência da doença: um por volta dos 25 anos e outro após os 45 anos. Acredita-se que o VEB possa desempenhar papel direto ou indireto na patogênese de alguns casos de DH, notavelmente naqueles pacientes com títulos elevados de anticorpos para esse vírus (30% a 40% dos casos).<sup>32</sup>

Demonstrou-se, recentemente, a presença de *ANVEB-1* e de ácidos nucléicos do VEB em tecido neoplásico obtido de 20% a 40% dos casos de DH, nos quais se observou uma proliferação oligo- ou monoclonal de linfócitos B infectados pelo vírus.<sup>12,33,34,35,36</sup> Sabe-se que, além de *ANVEB-1*, *PLM-1* e *PLM-2* são expressos nesse tipo de tumor. Acredita-se que a expressão de *PLM* esteja relacionada a subtipos histológicos agressivos de DH.<sup>34</sup> O ADN do vírus parece residir, primariamente, na célula de *Reed-Sternberg* e variantes, sendo encontrado, com maior freqüência, na população pediátrica, principalmente em tumores do tipo “celularidade mista”.

A detecção do VEB na DH parece ser maior nos países em desenvolvimento, sobretudo nos latino-americanos, sendo a população infanto-juvenil de países como o Brasil possível alvo preferencial dos efeitos desse vírus.<sup>37</sup> Os idosos, os infectados pelo VIH e os pacientes de países pobres apresentam, mais comumente, DH do tipo “celularidade mista” ou “depleção linfocitária”. Porém, independentemente do tipo histológico, a presença do VEB não parece ter efeito significativo no prognóstico. Além disso, a variabilidade nos resultados de diversos estudos sugere que esse linfoma apresenta múltiplas etiologias. Quanto à MI, a ocorrência precoce dessa infecção poderia estar especificamente relacionada com o desenvolvimento da DH. Acredita-se que o risco de desenvolver esta doença seja duas a três vezes maior em indivíduos com história de MI do que o normalmente esperado.<sup>32</sup>

Em um estudo realizado no Ceará, com a finalidade de avaliar o perfil da DH infanto-juvenil nesse estado e sua possível associação com o VEB, demonstrou-se a presença do vírus em 29 (85,29%) dos 34 pacientes com confirmação histológica da doença. A *PLM* foi detectada em 27 dos 34 casos (79,41%), enquanto o *AVEB* o foi em 28 casos (82,35%). Em relação aos subtipos histológicos específicos, 100% dos casos de “celularidade mista” (cor-

respondente a 64,70% do total de pacientes), 50% dos de “esclerose nodular” e o único caso de “depleção linfocitária” – além de um caso inclassificável – foram positivos para o VEB (não se diagnosticou o subtipo “predominância linfocitária” no estudo). Observou-se pico de incidência na faixa etária de 5 a 9 anos (47,05% dos casos). Os cinco casos negativos para o vírus foram todos do subtipo “esclerose nodular” e ocorreram em pacientes com mais de 15 anos. É importante destacar, entretanto, que o VEB constitui apenas um dentre vários co-fatores da DH infanto-juvenil brasileira: a heterogeneidade genética da população, somada a fatores ambientais, pode produzir diferentes padrões de resposta imunológica e susceptibilidades variadas ao vírus.<sup>37</sup>

### INFECÇÃO PELO VEB E IMUNOSSUPRESSÃO

A MI constitui, via de regra, doença linfoproliferativa auto-limitada, já que a resposta imunitária celular permite o controle da ativação policlonal de linfócitos B. Entretanto, ocasionalmente, casos esporádicos de infecção primária pelo VEB evoluem para síndromes linfoproliferativas incontroladas.

Em todos os tipos de imunodeficiência, observa-se aumento na incidência de linfomas malignos e, embora haja certa heterogeneidade, na maioria dos casos, a característica marcante é a alteração da função citotóxica dos linfócitos T. A maioria dos linfomas, nesses casos, são do tipo LB ou de “células grandes difusas”. Inicialmente, a proliferação de linfócitos B é claramente policlonal; logo, entretanto, parece haver uma seleção oligoclonal ou, ainda, monoclonal, que pode dar lugar ao aparecimento de células malignas.

Em transplantados, por exemplo, especialmente naqueles tratados com ciclosporina A, é relativamente comum o aparecimento de doenças linfoproliferativas associadas ao VEB. As desordens linfoproliferativas pós-transplante ocorrem em 2,5% dos casos de transplantes renais, em 5% dos cardíacos e em 2% a 4% dos hepáticos.<sup>2</sup> Quanto ao transplante alogênico de medula óssea, a prevalência é muito variável e depende de múltiplos fatores. Esses pacientes começam com uma infecção pelo VEB, a qual progride rapidamente para uma forma disseminada. Linfócitos B infectados proliferantes infiltram linfonodos e múltiplos órgãos, e os pacientes se apresentam com febre e linfadenopatia ou sintomas gastrointestinais. Estudos histopatológicos mostram hiperplasia de linfócitos B ou linfoma mono- ou policlonal.

Na imunossupressão induzida por medicamentos em pacientes transplantados, há um delicado balanço entre o tratamento necessário para evitar a rejeição do tecido transplantado ou a doença enxerto-*versus*-hospedeiro e as

conseqüências danosas da reativação do VEB e de outros herpesvírus. Métodos de monitoração de pacientes, com a finalidade de prever o aparecimento de linfomas, estão sendo investigados. Títulos decrescentes de anti-*ANVEB-1* indicam controle inadequado sobre linfócitos B transformados pelo VEB. Isso pode estar relacionado com doença linfoproliferativa, mas esse achado é muito freqüente em indivíduos imunossuprimidos para que possa ser útil.<sup>38</sup> O crescimento espontâneo de linfócitos B transformados e a presença de genomas do VEB no soro, medidos pela RCP, podem prever o surgimento de linfomas;<sup>39</sup> entretanto, são necessárias avaliações mais precisas para verificar a utilidade dessas observações.

### INFECÇÃO PELO VEB, ONCOGÊNESE E SIDA

Nos pacientes imunodeprimidos, em especial naqueles com SIDA, as infecções provocadas pelos herpesvírus constituem causa importante de morbimortalidade. Essas enfermidades podem recorrer com mais freqüência e com curso mais grave e prolongado nessa condição. Devido à grande carga viral existente nestas situações, há, também, maior propensão para desenvolver resistência às drogas antivirais.<sup>40</sup>

Por constituírem infecções crônicas, pandêmicas, e serem mantidas sob controle pela imunidade celular, as infecções pelos herpesvírus tornaram-se mais prevalentes e graves após a eclosão da SIDA. Além disso, passaram a manifestar sintomatologia atípica quando associadas a esta doença.<sup>40</sup> Um aspecto interessante dessas infecções, nessa condição, é a observação de Golden et al.<sup>41</sup> de que antígenos de diversos herpesvírus, especificamente o vírus herpes simplex (VHS), o citomegalovírus (CMV) e o VEB, são capazes de estimular macrófagos a produzirem citocinas associadas ao aumento da expressão do VIH em células CD4+.

Na infecção pelo VIH, ocorrem linfomas extra-nodais agressivos, principalmente do SNC, devido à proliferação mono- ou policlonal de linfócitos B infectados pelo VEB. Genomas deste vírus estão presentes em cerca de um terço dos linfomas de linfócitos B e em virtualmente todos os casos de linfoma do SNC em pacientes com SIDA.<sup>40,42,43</sup> O linfoma do SNC ocorre em cerca de 10% desses pacientes, sendo o tumor cerebral mais comum nesse grupo. A demonstração do VEB no líquido é forma diagnóstica importante, uma vez que genomas deste vírus podem ser aí detectados antes mesmo que os pacientes desenvolvam sintomas clínicos. Além disso, a presença do genoma viral no soro poderia constituir um marcador de linfomas generalizados associados ao vírus. Entretanto, o valor diagnóstico da RCP sérica está ainda sob investigação.

Para explicar o desenvolvimento do linfoma do SNC em pacientes imunossuprimidos, duas situações são possíveis:<sup>44</sup>

- os linfomas originar-se-iam de proliferações linfóides locais induzidas pelo VEB;
- o VEB seria conduzido, passivamente, ao SNC, dentro de linfócitos B atraídos por alguma infecção nessa região.

No Brasil, a incidência desse tipo de linfoma é desconhecida, e sua associação com o VEB tem sido pouco pesquisada. Para verificar esta associação, foram analisados 12 casos de linfoma primário do SNC, em pacientes brasileiros. Evidenciaram-se somente três casos positivos para o VEB, dois dos quais tinham história de imunossupressão associada a transplante renal e o outro, de SIDA. Nos demais casos, negativos para o VEB, não havia qualquer evidência clínica ou laboratorial de imunodeficiência. Concluiu-se que esse vírus parece ter papel importante no desenvolvimento do linfoma do SNC na presença de imunossupressão.<sup>44</sup>

O genoma do VEB foi também detectado em linfoma primário do SNC em pacientes sem imunodeficiência evidente. A detecção de ADN viral no tecido tumoral, mas não no tecido normal adjacente, indica provável indução do linfoma pelo vírus.<sup>45</sup> Outras etiologias poderiam também estar implicadas.<sup>44</sup>

Em pacientes com SIDA, a infecção pelo VEB parece preceder a expansão clonal dos linfomas a ele associados. No entanto, a proliferação induzida pelo vírus é apenas uma das múltiplas etapas do processo de transformação neoplásica, estando também implicadas alterações genéticas, como a ativação de oncogenes (por exemplo, o *c-myc*) e a inativação de genes supressores de tumor, como o *p53*.<sup>43</sup>

A associação entre o VEB e tumores de músculo liso, em pacientes com SIDA e em transplantados, tem sido descrita, havendo relatos de leiomiossarcomas e leiomiomas em glândula adrenal, fígado, cólon e membrana epidural. O linfoma testicular também está relacionado ao VEB nesses pacientes.

A infecção pelo VIH predispõe a várias condições neoplásicas, principalmente ao linfoma não-Hodgkin e ao sarcoma de Kaposi. O potencial oncogênico do VIH está relacionado com o grave comprometimento do sistema imunológico, já que o câncer está associado a uma gama de desordens imunossupressoras. Porém, parecem existir efeitos oncogênicos diretos da infecção pelo VIH, como mutagênese insercional, super-regulação de oncogenes, estimulação antigênica crônica e desregulação de citocinas. Há, também, a hipótese de que a proteína *tat* (uma proteína regulatória) desse vírus promoveria crescimento em lesões de sarcoma de Kaposi.<sup>3</sup>

## LINFOMA NÃO-HODGKIN

O VEB está presente em cerca de um terço dos casos de linfoma não-Hodgkin em pacientes com SIDA, os quais desenvolvem linfomas agressivos. Parece estar também implicado no desenvolvimento de alguns casos de linfoma não-Hodgkin em pacientes sem imunodeficiência evidente.<sup>12</sup>

## LEUCOPLASIA PILOSA ORAL

Pouco após a infecção inicial pelo VIH e anos antes que um indivíduo desenvolva SIDA, há um aumento no número de VEB, medido através da RCP, na saliva. Este vírus está relacionado à patogênese da leucoplasia pilosa oral (LPO) associada à SIDA, e sua presença nas lesões constitui critério diagnóstico. A ocorrência da LPO pode estar ligada à carga viral alta do VEB, mas o motivo exato do aparecimento das lesões é desconhecido.

Em indivíduos VEB+, a imunodeficiência resulta na reativação da replicação do vírus na orofaringe e na expansão da população de linfócitos B infectados. Nos pacientes com SIDA, o risco de se desenvolverem linfomas associados a esse vírus correlaciona-se tanto com o grau quanto com a duração da linfopenia CD4+. Entretanto, a presença de LPO nesses pacientes ou em transplantados não se correlaciona, respectivamente, nem com a contagem de linfócitos CD4+, nem com os níveis séricos de ciclosporina A.<sup>46,47</sup>

A LPO afeta cerca de 25% dos pacientes VIH+, e constitui manifestação precoce de imunossupressão, comumente a primeira, em adultos infectados por esse vírus. Ocasionalmente, ocorre em indivíduos imunossuprimidos iatrogenicamente ou, mesmo, em indivíduos saudáveis. Portanto, embora o estado imunológico deva ser importante, a patogênese da LPO pode incluir, também, fatores determinados diretamente por vírus.

Fato importante nessa doença, com provável implicação patogênica, é a presença de co-infecção pelos tipos I e II do VEB e por múltiplas cepas do mesmo e a recombinação, inter- ou intra-cepas, de seqüências únicas ou repetidas de ADN, incluindo os genes *ANVEB-2* e *PLM-I*, dentro do genoma desse vírus.<sup>48,49,50,51,52,53</sup> Segundo Resnick et al.<sup>54</sup> é necessária a replicação ativa do VEB nas células epiteliais para que a LPO se desenvolva.

A análise de biópsias de lesões de LPO negativas para o VEB sugere que tais lesões constituiriam, antes, condição propícia à expressão desse vírus que uma consequência da infecção pelo mesmo.<sup>46</sup>

Existem lesões VEB- similares à LPO, algumas contendo *Candida albicans*, outras, por exemplo, resultando de irritação mecânica. O diagnóstico de certeza da LPO só pode ser obtido através da demonstração de genes ou

de produtos gênicos do VEB nas lesões. Hibridização com *AVEBs* não é útil, devido à ausência de uma fase de infecção latente detectável.<sup>55</sup>

## PREVENÇÃO E TRATAMENTO DA INFECÇÃO PELO VEB

Estudos sobre o papel do VEB em malignidades e o desenvolvimento de métodos de triagem apropriados para a predição de linfomas e do CNF, em populações de alto risco, são muito importantes. Contudo, a demonstração da presença do vírus em uma neoplasia raramente modifica a terapia a ser instituída e, portanto, não é indicada rotineiramente. A doença linfoproliferativa pós-transplante de medula óssea constitui uma exceção, pois tem sido tratada com sucesso com linfócitos T-citotóxicos VEB-específicos do doador.<sup>56</sup>

A imunização com hemácias de carneiro leva à produção de anticorpos heterófilos, mas estes não são persistentes nem protetores. Linhagens celulares que produzem grandes quantidades de vírus são disponíveis, existindo, pois, a possibilidade de que seja produzida uma vacina inativada. Entretanto, o risco potencial de oncogênese traz problemas para a elaboração de uma vacina eficaz contra o VEB, sendo necessárias informações adicionais sobre os riscos implicados antes que experimentos clínicos mais extensos sejam realizados em seres humanos.

Anticorpos contra uma glicoproteína de superfície do VEB, a *gp340*, que se liga ao receptor celular para o vírus, demonstraram possuir atividade neutralizante contra o vírus. Recente estudo em animais revelou que a vacinação com essa glicoproteína, gerada por tecnologia de ADN recombinante, protege os mesmos contra o desenvolvimento de tumores, após serem infectados pelo VEB.<sup>57</sup> Novas tentativas com o uso de preparações vacinais adequadas para uso em seres humanos estão sendo realizadas de forma que, futuramente, possam ser usadas, por exemplo, na prevenção do LB e do CNF em populações de alto risco.

Um estudo mostrou remissão temporária, com o uso de aciclovir, de uma desordem linfoproliferativa policlonal de linfócitos B, que se desenvolveu em um paciente, após transplante renal.<sup>58,59</sup> Por outro lado, Sullivan et al.<sup>60</sup> sugerem que as desordens linfoproliferativas policlonais induzidas pelo VEB em indivíduos imunocomprometidos são não-produtivas e, portanto, não-susceptíveis aos efeitos antivirais dessa droga.

Aciclovir e desciclovir são capazes de reverter, temporariamente, a LPO associada ao VEB, em pacientes com infecção pelo VIH-1.<sup>54,61</sup> Aciclovir, na dosagem de 400mg a 800mg, cinco vezes ao dia, também tem se mostrado útil no tratamento da doença crônica ativa pelo VEB.<sup>62</sup> Entretanto, esse agente, em geral, não tem sido benéfico em pacientes com síndromes linfoproliferativas,<sup>62</sup> além de

não ter sido eficaz na erradicação da infecção latente pelo vírus.<sup>63</sup> A ressecção cirúrgica de massas tumorais pode ser considerada nos casos em que estas são localizadas ou pouco numerosas.<sup>62</sup> Quando possível, a terapia para as doenças linfoproliferativas deve ser dirigida no sentido de reduzir a medicação imunossupressora. Determinados métodos imuno-virológicos podem auxiliar na identificação precoce de pacientes com alto risco de desenvolver esse tipo de doença, possibilitando intervenção terapêutica oportuna.<sup>39</sup>

Em um estudo envolvendo três crianças com diagnóstico confirmado de CNF, evidenciou-se resposta clínica satisfatória, nos três casos, com um esquema quimioterápico inicial (epirubicina-cisplatina-bleomicina), seguido de radioterapia.<sup>30</sup>

Novas terapias, incluindo o uso de IFN- $\alpha$ , a terapia gênica (com genes supressores tumorais) e a infusão de anticorpos monoclonais e de linfócitos T-citotóxicos VEB-específicos, estão sendo estudadas. Até o momento, entretanto, embora muitos agentes tenham revelado atividade antiviral in vitro, as indicações para o seu uso clínico, no tratamento das doenças associadas ao VEB, são limitadas.<sup>56,62</sup>

Na infecção crônica pelo VEB, têm sido propostas tentativas de fortalecimento do sistema imune, como, por exemplo, pelo uso de imunoglobulinas, já que o aumento nos níveis de certas classes de anticorpos poderia ser benéfico.<sup>58</sup> Postula-se que, no CNF, os níveis de anticorpos neutralizantes correlacionam-se com o prognóstico.<sup>64</sup> Porém, ensaios clínicos controlados são necessários para melhor elucidar essas questões.

## SUMMARY

Infections as a whole are associated with 15% to 20% of human cancers. Amongst a variety of infectious agents, oncogenic viruses are of especial importance, particularly the Epstein-Barr virus (EBV). It is the most efficient virus known to induce transformation and cellular growth and induces immortality of B-cells. Its relation to Burkitt's lymphoma and nasopharyngeal carcinoma, as well as to other neoplasms, has long been emphasized. However, it is not clear whether it actually plays a causative role in these tumors or is simply an incidental finding. A better understanding of the means of EBV persistence and of the mechanisms by which this virus leads to malignant transformation of the host-cell may shed light on new approaches to the prevention and treatment of EBV-associated tumors.

**Keywords:** Oncogenic viruses, Epstein-Barr virus, Burkitt lymphoma, nasopharyngeal neoplasms.



**REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- 1- Pisani P, Parkin DM, Munoz N, Ferlay J. Cancer and infection: estimates of the attributable fraction in 1990 (Review). *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1997; 6(6):387-400.
- 2- Alonio LV, Picconi MA, Distefano AL, Teysie AR. Mecanismos de oncogênese viral. *Infect & Microbiol Clín* 1997; 9(1):7-18.
- 3- Kuper H, Adami HO, Trichopoulos D. Infections as a major preventable cause of human cancer. *J Int Med* 2000; 248:171-83.
- 4- Epstein MA, Achong BG. Various forms of Epstein-Barr virus infection in man: established facts and a general concept. *Lancet* 1973; 2:836-9.
- 5- Hollingsworth R, Lee WH. Tumor suppressor genes: new prospects for cancer research. *J Nat Cancer Inst* 1991; 83(2):91-6.
- 6- Moran B, Zerler B. Interactions between cell growth-regulating domains in the products of the adenovirus E1A oncogene. *Mol Cell Biol* 1988; 8(4):1756-64.
- 7- Zur Hausen H. Papillomaviruses causing cancer: evasion from host-cell control in early events in carcinogenesis. *J Natl Cancer Inst* 2000; 92(9):690-8.
- 8- Pattengale PK, Smith RW, Perlin E. Atypical lymphocytes in acute infectious mononucleosis: identification by multiple T and B lymphocyte markers. *N Engl J Med* 1974; 291(22):1145-8.
- 9- Schooley RT. Epstein-Barr Virus (Infectious Mononucleosis). In: Mandell GL, Bennett, JE, Dolin R, eds. *Mandell Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*. 4ed. New York: Churchill-Livingstone; 1995. 1364-77. p.
- 10- Fahraeus R, Rymo R, Rhim JS, Klein G. Morphological transformation of human keratinocytes expressing the LMP gene of Epstein-Barr virus. *Nature* 1990; 345:447-9.
- 11- Henderson S, Rowe M, Gregory C et al. Induction of bcl-2 expression by Epstein-Barr virus latent membrane protein 1 protects infected B-cells from programmed cell death. *Cell* 1991; 65:1107-15.
- 12- Kanavaros P, Jiwa M, Van der Valk P, Walboomers J, Horstman A, Meijer CJLM. Expression of Epstein-Barr virus latent gene products and related cellular activation and adhesion molecules in Hodgkin's disease and non-Hodgkin's lymphoma arising in patients without overt pre-existing immunodeficiency. *Hum Pathol* 1993; 24(7):725-9.
- 13- Niedobitek G, Young LS. Epstein-Barr virus persistence and virus-associated tumors. *Lancet* 1994; 343:333-5.
- 14- Burkitt D. A sarcoma involving the jaws in African children. *Brit J Surg* 1958; 46:218-23.
- 15- Epstein MA, Achong BG, Barr YM. Virus particles in cultured lymphoblasts from Burkitt's lymphoma. *Lancet* 1964; 1:702-3.
- 16- Epstein MA, Henle G, Achong BG, Barr YM. Morphological and biological studies on a virus in cultured lymphoblasts from Burkitt's lymphoma. *J Exp Med* 1965; 121:761-70.
- 17- Henle W, Henle G. Seroepidemiology of the virus. In: Epstein MA, Achong BG, eds. *The Epstein-Barr virus*. New York: Springer-Verlag; 1979: 61-78 apud Pannuti CS. Soro-epidemiologia do vírus de Epstein-Barr (VEB). *Rev Saúde públ* 1981; 15:93-100.
- 18- De-Thé G, Day NE, Geser A et al. Sero-epidemiology of the Epstein-Barr virus: preliminary analysis of an international study - a review. *IARC Sci Publ* 1975; (11 Pt 2):3-16.
- 19- Nkrumah F, Henle W, Henle G, Herberman R, Perkins V, Depue R. Burkitt's lymphoma: its clinical course in relation to immunologic reactivities to Epstein-Barr virus and tumor-related antigens. *J Natl Cancer Inst* 1976; 57(5):1051-6.
- 20- Henle W, Henle G, Gunvén P, Klein G, Clifford P, Singh S. Patterns of antibodies to Epstein-Barr virus-induced early antigens in Burkitt's lymphoma. Comparison of dying patients with long-term survivors. *J Natl Cancer Inst* 1973; 50:1163-73.
- 21- Epstein MA, Achong BG. The relationship of the virus to Burkitt's lymphoma. In: Epstein MA, Achong BG, eds. *The Epstein-Barr virus*. New York: Springer-Verlag; 1979: 321-37 apud Pannuti CS. Soro-epidemiologia do vírus de Epstein-Barr (VEB). *Rev Saúde públ* 1981; 15: 93-100. p.
- 22- Lai PK, Alpers MP, MacKay-Scollay EM. Development of cell-mediated immunity to Epstein-Barr herpesvirus in infectious mononucleosis as shown by leukocyte migration inhibition. *Infect & Immun* 1977; 17(1):28-35.
- 23- Okano M, Thiele GM, Davis JR, Grierson HL, Purtilo DT. Epstein-Barr virus and human diseases: recent advances in diagnosis. *Clin Microbiol Rev* 1988; 1(3):300-12.
- 24- Old LJ, Boyse EA, Oettgen HF et al. Precipitating antibody in human serum to an antigen present in cultured Burkitt's lymphoma cells. *Proc Nat Acad Sci USA* 1966; 56:1699-704.
- 25- Old LJ, Boyse EA, Geering G, Oettgen HF. Serologic approaches to the study of cancer in animals and in man. *Cancer Res* 1968; 28:1288-99.
- 26- Evans AS, Niederman JC, McCollum RW. Seroepidemiologic studies of infectious mononucleosis with EB virus. *N Engl J Med* 1968; 279(21):1121-7.
- 27- Evans AS, Niederman JC. Epstein-Barr virus. In: Evans AS, ed. *Viral infections of humans*. New York: Plenum Press; 1976: 209-31 apud Pannuti C.S. Soro-epidemiologia do vírus de Epstein-Barr (VEB). *Rev Saúde públ* 1981; 15:93-100.

- 28-De Schryver A, Friberg Jr S, Klein G et al. Epstein-Barr virus-associated antibody patterns in carcinoma of the post-nasal space. *Clin Exp Immunol* 1969; 5:443-59.
- 29-Linde A. Diagnosis of Epstein-Barr virus-related diseases. *Scand J Infect Dis Suppl* 1996; 100:83-8.
- 30-Paes RAP, Teixeira RAP, Barrezuela LFM, Bruniera P. Três casos de carcinoma de nasofaringe associados ao vírus Epstein-Barr (EBV) em crianças: aspectos clínicos, patológicos e imunohistoquímicos. *J Bras Patol* 1996; 32(2):76-82.
- 31-Raab-Traub N, Flynn K. The structure of the termini of the Epstein-Barr virus as a marker of clonal cellular proliferation. *Cell* 1986; 47:883-9.
- 32-Evans AS, Gutensohn NM. A population-based case-control study of EBV and other viral antibodies among persons with Hodgkin's disease and their siblings. *Int J Cancer* 1984; 34:149-57.
- 33-Weiss LM, Movahed LA, Warnke RA, Sklar J. Detection of Epstein-Barr viral genomes in Reed-Sternberg cells of Hodgkin's disease. *N Engl J Med* 1989; 320:502-6.
- 34-Pallesen G, Hamilton-Dutoit SJ, Rowe M, Young LS. Expression of Epstein-Barr virus latent gene products in tumor cells of Hodgkin's disease. *Lancet* 1991; 337:320-2.
- 35-Herbst H, Steinbrecher E, Niedobitek G et al. Distribution and phenotype of Epstein-Barr virus-harboring cells in Hodgkin's disease. *Blood* 1992; 80(2):484-91.
- 36-Khan G, Norton AJ, Slavin G. Epstein-Barr virus in Hodgkin's disease. Relation to age and subtype. *Cancer* 1993; 71:3124-9.
- 37-Abreu ES, Ferreira FVA, Rocha Filho FD et al. Doença de Hodgkin infanto-juvenil no Estado do Ceará e sua relação com o vírus de Epstein-Barr: parâmetros clínicos e análises morfológica, imuno-histoquímica e por hibridização in situ. *J Bras Patol* 1997; 33(4):178-84.
- 38-Henle W, Henle G. Epstein-Barr virus-specific serology in immunologically compromised individuals. *Cancer Res* 1981; 41:4222-5.
- 39-Rooney CM, Loftin SK, Holladay MS, Brenner MK, Krance, RA, Heslop HE. Early identification of Epstein-Barr virus-associated post-transplantation lymphoproliferative disease. *Br J Haematol* 1995; 89:98-103.
- 40-Santos OLR, Rodrigues AG, França ER, Coelho APG, Carneiro SCS. Os herpesvírus humanos no curso da síndrome da imunodeficiência adquirida. *An Bras Dermatol* 1998; 73(supl 2):10-8.
- 41-Golden MP, Kim S, Hammer SM et al. Activation of human immunodeficiency virus by herpes simplex virus. *J Infect Dis* 1992; 166:494-9.
- 42-Cohen JL. Epstein-Barr virus lymphoproliferative disease associated with acquired immunodeficiency. *Medicine* 1991; 70:137-60.
- 43-Ballerini P, Gaidano G, Gong J et al. Molecular pathogenesis of HIV-associated lymphomas. *AIDS Res Hum Retroviruses* 1992; 8:731-5.
- 44-Bacchi CE, Bazan R, Padovani EG, Rabenhorst SH, Bacchi MM. Linfoma do sistema nervoso central: associação com o vírus de Epstein-Barr. *J Bras Patol* 1996; 32(3):103-9.
- 45-Hochberg FH, Miller G, Schooley RT, Hirsch MS, Feorino P, Henle W. Central nervous system lymphoma related to Epstein-Barr virus. *N Engl J Med* 1983; 309(13):745-8.
- 46-Reichart PA, Langford A, Gelderblom HR, Pohle HD, Becker, J, Wolf, H. Oral hairy leukoplakia: observations in 95 cases and review of the literature. *J Oral Pathol Med* 1989; 18:410-5.
- 47-Schmidt-Westhausen A, Gelderblom HR, Neuhaus P, Reichart PA. Epstein-Barr virus in lingual epithelium of liver transplant patients. *J Oral Pathol Med* 1993; 22:274-6.
- 48-Patton DF, Shirley P, Raab-Traub N, Resnick L, Sixbey JW. Defective viral DNA in Epstein-Barr virus-associated oral hairy leukoplakia. *J Virol* 1990; 64(1):397-400.
- 49-Walling DM, Edmiston SN, Sixbey JW, Abdel-Hamid M, Resnick L, Raab-Traub N. Coinfection with multiple strains of the Epstein-Barr virus in human immunodeficiency virus-associated hairy leukoplakia. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89:6560-4.
- 50-Walling DM, Raab-Traub N. Epstein-Barr virus intras-train recombination in oral hairy leukoplakia. *J Virol* 1994; 68(12):7909-17.
- 51-Walling DM, Perkins AG, Webster-Cyriaque J, Resnick L, Raab-Traub N. The Epstein-Barr virus EBNA-2 gene in oral hairy leukoplakia: strain variation, genetic recombination, and transcriptional expression. *J Virol* 1994; 68:7918-26.
- 52-Miller WE, Edwards RH, Walling DM, Raab-Traub N. Sequence variation in the Epstein-Barr virus latent membrane protein 1. *J Gen Virol* 1994; 75:2729-40.
- 53-Walling DM, Clark NM, Markovitz DM et al. Epstein-Barr virus coinfection and recombination in non-human immunodeficiency virus-associated oral hairy leukoplakia. *J Infect Dis* 1995; 171:1122-30.
- 54-Resnick L, Herbst JS, Ablashi DV et al. Regression of oral hairy leukoplakia after orally administered acyclovir therapy. *JAMA* 1988; 259(3):384-8.
- 55-Niedobitek G, Young LS, Lau R et al. Epstein-Barr virus infection in oral hairy leukoplakia: virus replication in the absence of a detectable latent fase. *J Gen Virol* 1991; 72:3035-46.
- 56-Papadopoulos EB, Ladanyi M, Emanuel D et al. Infusions of donor leukocytes to treat Epstein-Barr virus-associated lymphoproliferative disorders after allogeneic bone marrow transplantation. *N Engl J Med* 1994; 330:1185-91.

- 57-Morgan AJ, Allison AC, Finerty S, Scullion FT, Byars NE, Epstein MA. Validation of a first-generation Epstein-Barr virus vaccine preparation suitable for human use. *J Med Virol* 1989; 29:74-8.
- 58-Jones JF, Shurin S, Abramowsky C et al. T cell lymphomas containing Epstein-Barr viral DNA in patients with chronic Epstein-Barr virus infections. *N Engl J Med* 1988; 318(12):733-41.
- 59-Sullivan JL, Byron KS, Brewster FE, Sakamoto K, Shaw JE, Pagano JS. Treatment of life-threatening Epstein-Barr virus infections with acyclovir. *Am J Med* 1982; 73:262-6.
- 60-Sullivan JL, Baker SM, Byron KS, Brewster FE, Mulder C. Failure of acyclovir to inhibit polyclonal Epstein-Barr virus induced lymphoproliferation in the immunocompromised host. *Fed Proc* 1983; 42:458.
- 61-Greenspan D, De Souza YG, Conant MA et al. Efficacy of desciclovir in the treatment of Epstein-Barr virus infection in oral hairy leukoplakia. *J AIDS* 1990; 3(6):571-8.
- 62-Cohen JI. Epstein-Barr virus infections, including infectious mononucleosis. In: Braunwald E, Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL, eds. *Harrison's Principles of Internal Medicine*. 15th ed. (International Edition). New York: McGraw-Hill; 2001:1109-11.
- 63-Carvalho LHFR. Mononucleose infecciosa. In: Farhat CK, Carvalho, ES, Carvalho LHFR, Succi RCM, eds. *Infectologia Pediátrica*, 2ed., Rio de Janeiro: Atheneu; 1999:447-59.
- 64-Pearson GR, Neel HB, Weiland LH et al. Antibody-dependent cellular cytotoxicity and disease course in North American patients with nasopharyngeal carcinoma: a prospective study. *Int J Cancer* 1984; 33:777-82.