

LABORATÓRIO DE EDUCAÇÃO PROFISSIONAL EM TÉCNICAS LABORATORIAIS
EM SAÚDE (LATEC)

ESCOLA POLITÉCNICA DE SAÚDE JOAQUIM VENANCIO

FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ

José Fernando dos Anjos Rodrigues

A PATOGENIA DO VÍRUS EPSTEIN-BARR

Rio de Janeiro

2011

José Fernando dos Anjos Rodrigues

A PATOGENIA DO VÍRUS EPSTEIN-BARR

Trabalho de conclusão de curso apresentado à Escola Politécnica de Saúde Joaquim Venâncio como requisito parcial para aprovação no curso técnico de nível médio em saúde na habilitação em Análises Clínicas.

Orientador: Maria Beatriz Siqueira Campos de Oliveira

Co-orientador: Mônica Carvalho de Mesquita
Werner Wermelinger

Rio de Janeiro

2011

José Fernando dos Anjos Rodrigues

A PATOGENIA DO VÍRUS EPSTEIN-BARR

Trabalho de conclusão de curso apresentado à Escola Politécnica de Saúde Joaquim Venâncio como requisito parcial para aprovação no curso técnico de nível médio em saúde na habilitação em Análises Clínicas.

Aprovado em; __/__/__

BANCA EXAMINADORA

Dr. Maria Beatriz Siqueira Campos de Oliveira – IFF/Fiocruz

Dr. Monica Carvalho de Mesquita Werner Wermelinger – ENSP/Fiocruz

Dr. Flávia Coelho Ribeiro – EPSJV/Fiocruz

Dedico este Trabalho a
Michael Anthony Epstein, sir, biólogo britânico,
parabenizando-o pelos 90 anos de idade
completados neste ano (dia 18 de maio).

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente às minhas orientadoras, que me guiaram durante as buscas para este trabalho, e agradeço-as por suportarem minha presença a todo o momento para discutir esta monografia.

Agradeço também aos meus pais que tanto reclamaram pelas minhas noites mal dormidas de frente ao computador, digitando e pesquisando referências para terminar este trabalho o mais breve possível.

Sinceramente agradeço aos meus colegas que me ouviram pacientemente (ou não) falar e falar sobre o vírus abordado aqui, várias e várias vezes, me vendo falar de cada pequena informação encontrada como se fosse um achado no campo da fisiologia.

E, por fim, agradeço aos poucos que não somente ficaram felizes por ter concluído esta monografia com antecedência, mas também me parabenizavam com fervor cada capítulo que entregava para revisão.

"Não sei o que possa parecer aos olhos do mundo, mas aos meus pareço apenas ter sido como um menino brincando à beira-mar, divertindo-me com o fato de encontrar de vez em quando um seixo mais liso ou uma concha mais bonita que o normal, enquanto o grande oceano da verdade permanece completamente por descobrir à minha frente".

(Sir Isaac Newton)

RESUMO

Faz uma revisão bibliográfica acerca dos mecanismos de patogenia do vírus Epstein-Barr no organismo humano. Inicialmente, aborda a questão histórica envolvendo a descoberta do vírus, e a descoberta de doenças relacionadas a este agente etiológico. A seguir, define as características do vírus a nível morfológico e define também seu ciclo, inerente à sua transmissão. Em seguida, discorre-se sobre a interação do vírus nas células do corpo, especialmente as suas células-alvo, mostrando antígenos liberados, anticorpos produzidos para combater a infecção e os mecanismos de escape do vírus Epstein-Barr contra a resposta imune. Por fim, apresenta as principais doenças causadas ou relacionadas ao vírus, e também traz algumas características peculiares a este agente etiológico.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Casos de Linfoma de Burkitt	9
Figura 2 Imagem de microscópio eletrônico	12
Figura 3 Esquematização	17

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Mecanismos de Escape	18
-------------------------------------	----

LISTA DE SIGLAS

CMV	Citomegalovírus
CNF	Carcinoma Nasofaríngeal
EA	<i>Early Antigen</i> (Antígeno Precoce)
EA-D	<i>Early Antigen Difuse</i> (Antígeno Precoce Difuso)
EA-R	<i>Early Antigen Restrict</i> (Antígeno Precoce Restrito)
EBNA	<i>Epstein-Barr Nuclear Antigen</i> (Antígeno nuclear de Epstein-Barr)
EBV	<i>Epstein-Barr Virus</i> (Vírus Epstein-Barr)
HHV-4	<i>Human Herpesvirus type 4</i> (Herpesvírus Humano tipo quatro)
HHV-5	<i>Human Herpesvirus type 5</i> (Herpesvírus Humano tipo cinco)
IFN- α	Interferon alfa
IFN- γ	Interferon gama
IgM	Imunoglobulina M
IgG	Imunoglobulina G
IL-10	Interleucina 10
MI	Mononucleose Infecciosa
SciELO	<i>Scientific Eletronic Library Online</i> (Biblioteca Científica Eletrônica Online)
VCA	<i>Viral Capside Antigen</i> (Antígeno do Capsídeo Viral)

Sumário

1. INTRODUÇÃO	9
1.1. JUSTIFICATIVA E MOTIVAÇÃO	10
1.2. OBJETIVO	10
1.2.1. Objetivos específicos	10
1.2.2. Questões de estudo	11
1.2.3. Metodologia	11
2. HISTÓRICO	12
3. O EBV: MORFOLOGIA, CICLO E TRANSMISSÃO	16
4. INTERAÇÕES VÍRUS-ORGANISMO	18
4.1. BIOLOGIA MOLECULAR	18
4.1.1. Receptores, antígenos e anticorpos	18
4.1.2. Mecanismos de escape do EBV	20
4.2. PATOGENIA VIRAL	21
4.2.1. Mononucleose Infecciosa	22
4.2.2. Linfoma de Burkitt	23
4.2.3. Carcinoma Nasofaríngeal	24
4.2.4. Reativação do EBV	24
4.3. PECULIARIDADES DO EBV	25
4.3.1. Citomegalovírus	25
4.3.2. Administração de antibióticos	25
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	26
REFERÊNCIAS	28

1 INTRODUÇÃO

A partir da observação de casos de uma forma de câncer endêmica à região ao sul do Deserto do Saara - descrita pela primeira vez, em 1958 (BURKITT, 1958) - foi evidenciada, por técnicas de imagem microscópica, a relação direta entre esta doença e a presença de um vírus morfológicamente parecido com o vírus causador da herpes. Após vários testes, foi constatado que tal vírus era completamente novo, e recebeu a nomenclatura de *Human Herpesvirus type 4* (Herpesvírus Humano tipo quatro, HHV-4) que, por conveniência, foi também nomeado como Vírus de Epstein-Barr, ou simplesmente Vírus Epstein-Barr (EBV) (EPSTEIN *et al*, 1964).

Em 1966, Henle e colegas descobriram, por meio da técnica de imunofluorescência indireta, que existem anticorpos contra os antígenos expressados pelo EBV em pessoas de diferentes localidades no mundo, sendo demonstrada, por outros estudos, a presença desses anticorpos em locais de pouca interação com outras povoações (PANNUTI, 1981).

Durante a investigação subsequente aos fatos citados, foi descoberto (HENLE, 1967), depois confirmado por vários outros grupos (PANNUTI *et al*, 1981) que este vírus manifestava-se como agente etiológico da mononucleose infecciosa (MI), síndrome caracterizada pelo aumento exacerbado do número de linfócitos na corrente sanguínea. Existe uma variante para esta doença, associado ao Citomegalovírus (CMV), vírus pertencente à mesma família, porém com algumas diferenças entre as duas doenças a nível celular, apesar de terem sintomas muito semelhantes.

Os sintomas da MI são próximos aos de uma série de infecções bacterianas (em especial, a tonsilite), sendo facilmente confundida com elas. Por essa razão, é comum, médicos receitarem certos medicamentos antibióticos, como amoxicilina e ampicilina para o tratamento. Porém, com este tratamento, é desencadeada uma reação alérgica forte na pele, tanto que a reação a tais drogas é tida como indicador da presença do EBV no indivíduo (KAGAN, 1977).

Em meados dos anos 1970, nos Estados Unidos, houve uma grande e repentina disseminação de EBV e um rápido aumento nos casos de MI na população de uma universidade, pouco depois de um piquenique. Levando em consideração os aspectos sociais da população daquela faixa etária, daquele local e a época do ocorrido, a MI recebeu a alcunha de “doença do beijo”, pela sua forma de transmissão mais comum, isto é, através de troca de saliva contaminada.

O EBV é, além de causador da MI e fator de boa parte dos casos de Linfoma de Burkitt, cofator do Carcinoma Nasofaríngeal. Este tipo de câncer já foi relatado em várias partes do mundo, entretanto ele tem maior incidência em áreas do sudeste da Ásia e na África Central, sendo o próprio EBV participante na maior parte dos casos (PANNUTI, 1981).

A presente monografia abordará o EBV em sua estrutura, sua ação no organismo humano, suas particularidades enquanto no hospedeiro, e as doenças que sua proliferação causa.

1.1 JUSTIFICATIVA E MOTIVAÇÃO

O interesse pelo tema foi despertado após observação leiga de duas pessoas que tiveram contato primário com o EBV, desenvolveram a MI que, por conseguinte, levou à evolução do quadro clínico. Após avaliação médica profissional e decorrente tratamento, o fascínio pelo vírus levou à pesquisa sobre tal agente infeccioso e as enfermidades atribuídas a ele. Apesar de ter sido uma observação pouco fundamentada, inespecífica e superficial, serviu como base para uma nova busca de informações mais aprofundadas, culminando, então, neste trabalho.

O EBV, mesmo sendo amplamente conhecido na comunidade científica, é quase incógnito entre a maior parte da população. Isso porque a MI pode aparentar, a olhos leigos, uma gripe mais intensa, e é dificilmente lembrada pelos médicos que atendem seus pacientes e sugerem doenças comuns, sem fazer exames mais complexos. O estudo sobre esse tema pode servir à sociedade como um pequeno alerta de que há variadas enfermidades, como as causadas pelo EBV, que não devem ser tratadas como doenças simples, ainda que seus sintomas e sua manifestação clínica sejam semelhantes.

1.2 OBJETIVO

É esperado nesta monografia relatar os mecanismos de ação do HHV-4, entendendo seu comportamento nos diferentes tecidos em que ele atua.

1.2.1 Objetivos específicos

- Fazer levantamento histórico sobre o vírus;
- Descrever o EBV morfológicamente e seu ciclo;
- Apresentar a biologia molecular da interação vírus-organismo;
- Expor os mecanismos que desenvolvem a patogenia do EBV.

1.2.2 Questões de estudo

- “Que doenças são associadas ao vírus?”;
- “Por que é tão complicado conectar os sintomas da mononucleose com a presença do EBV?”;
- “Há tratamento contra a mononucleose?”;
- “O que acontece com o EBV quando há o desaparecimento dos sintomas da mononucleose do organismo?”.

1.3 METODOLOGIA

Essa pesquisa será feita através de revisão bibliográfica, buscando artigos relacionados ao tema tanto em bibliotecas especializadas quanto em bancos de dados na internet seguindo o modelo da Scientific Electronic Library Online (SciELO), além de procurar em outras bibliotecas online, tais como o PubMed, Wiley Library e outros. Também há expectativa em buscar livros sobre virologia, microbiologia e imunologia, além das referências destes, a fim de fazer uma pesquisa com boa elaboração e da forma mais completa e atualizada quanto for possível.

2 HISTÓRICO

Tem-se conhecimento dos efeitos do Vírus Epstein-Barr muito antes de saber a sua existência. No ano de 1920, foi descrita em seis pessoas uma síndrome que estabelecia a presença de febre, fadiga, linfocitose mononuclear (aumento no número de leucócitos mononucleados), linfadenopatia (inflamação de órgãos linfoides, principalmente o fígado, baço e tonsilas). A essa condição deu-se o nome de **Mononucleose Infecciosa (MI)** (SPRUNT & EVANS, *apud* WOLF, 2001).

Anos mais tarde, em 1932, descobriram que os pacientes que apresentavam os sintomas descritos anteriormente possuíam anticorpos heterofílicos, ou seja, anticorpos que se ligam a mais de um tipo de agente potencialmente patológico. Esses cientistas também descobriram que tais anticorpos aglutinavam eritrócitos de animais como carneiro, cavalo e boi, sendo os eritrócitos do último animal aglutinados com maior avidéz (PAUL & BUNNELL *apud* WOLF, 2001). O teste feito por Paul e Bunnell é utilizado até os dias atuais para diagnóstico diferencial da mononucleose, conhecido como Reação de Paul-Bunnell. Por não criar maiores eventos que gerassem novas pesquisas, pouco foi estudado sobre a MI nos anos seguintes.

Mais de vinte e cinco anos depois, em 1958, Denis Burkitt, cirurgião irlandês em missão na região de Uganda, notou que várias crianças apresentavam grande inchaço no rosto, na altura dos maxilares (Figura I, à esquerda), queda de dentes, dor branda comparada à esperada pela deformação e, em casos de maior gravidade, o inchaço interferia em outras partes da face, como o globo ocular (Figura I, à direita). Analisando essas crianças, Burkitt descobriu que o inchaço tratava-se de um tumor maligno de células do sistema imune de variação incomum e rápida proliferação. O tumor havia sido relatado em outras áreas do sul da África, porém sem grandes elucidações acerca do tecido a nível histológico. Por ser o primeiro a publicar um relato mais completo sobre o tumor, a neoplasia foi batizada como **Linfoma de Burkitt** (BURKITT, 1958).



Figura I: Duas crianças afetadas pelo Linfoma de Burkitt (BURKITT, 1958).

Burkitt constatou que esta forma neoplásica era endêmica à região estudada, e então supôs que tal doença poderia estar vinculada aos fatores climáticos, como a temperatura média e a umidade do ar características. Por essa razão, Burkitt considerou a hipótese de que o linfoma estivesse relacionado a algum vetor biológico, provavelmente um artrópode, e também presumiu que a doença talvez se relacionasse com algum agente etiológico viral (PANNUTI, 1981). Para investigar com maior profundidade, Burkitt precisaria utilizar equipamentos possivelmente indisponíveis em Uganda nessa época.

Na Inglaterra, Anthony Epstein, cientista biológico britânico, assumiu investigar as causas da ocorrência do linfoma. Para isso, Epstein e sua equipe analisaram duas amostras do tumor de Burkitt: uma cepa, chamada Epstein-Barr 1 (associando seu nome com o de uma de suas principais assistentes, Yvonne Barr) e abreviado para EB-1, vinda do maxilar de uma criança de nove anos de idade, e a outra cepa, denominada EB-2, que havia sido retirada do ovário de uma menina de sete anos de idade. Os linfoblastos presentes no tecido canceroso foram testados inicialmente *in vivo*, inoculando-os em camundongos recém-nascidos, ovos

embrionados e sistemas celulares. Nenhum dos métodos descritos resultou no produto desejado, ou seja, nenhum dos testes revelou algum tipo de agente infeccioso (EPSTEIN *apud* PANNUTI, 1981).

Entretanto, no ano de 1964, Epstein *14L 14L* apostaram na cultura das células do tumor *in vitro*, e mostraram, por imagens de microscópio eletrônico de transmissão, partículas virais em pequenas proporções. O sucesso da experiência neste método foi por si só, algo relativamente surpreendente, pois era de conhecimento da comunidade científica da época que células imunes não cresciam em meio de cultura artificial com boa eficácia, sendo uma característica das células infectadas (EPSTEIN *14L 14L*, 1964).

Ainda em 1964, a observação à microscopia eletrônica mostrou que tal vírus era morfológicamente semelhante ao vírus causador do herpes. Após exaustivos testes comparativos aos vírus conhecidos, foi constatado que estavam diante de um agente ainda não catalogado. Pela sua forma, o vírus foi classificado na família *Herpesviridae*, e foi cientificamente nomeado como **Herpesvírus Humano tipo quatro (HHV-4)**. Convenientemente, já que as linhagens celulares onde o HHV-4 teve sua existência evidenciada receberam o mesmo nome, o vírus recebeu também o nome de **Vírus Epstein-Barr (EBV)** (EPSTEIN *14L 14L*, 1964).

Uma das integrantes envolvidas na descoberta do EBV, a estadunidense Gertrude Henle, juntamente com seu marido, o virologista Werner Henle, desenvolveu uma técnica de imunofluorescência indireta inédita para a detecção de anticorpos anti-EBV. Com esta técnica, Henle e Henle (1966 *apud* PANNUTI, 1981) descobriram que existem títulos dos anticorpos contra o vírus nos grupos estudados, tanto na África quanto nos Estados Unidos da América. Foram descobertos, em outros estudos, anticorpos anti-EBV em vários locais do planeta, inclusive em lugares de difícil acesso, como tribos nas Ilhas Aleutas, situadas a oeste do Alaska, a tribo Tiriyo da Amazônia, e nativos da Nova-Guiné, na Oceania (PANNUTI, 1981).

A pesquisa de Henle e Henle também revelou que o contato inicial com o vírus variava dentre grupos etários ao passo dos padrões de higiene e níveis socioeconômicos da região (HENLE *apud* PANNUTI, 1981). Nos países de alto padrão econômico, social, e higiênico, o contato primário com o vírus é, em média, no início da puberdade, enquanto que em países em desenvolvimento, a maioria quase unânime das pessoas tem títulos de anti-EBV já na infância, por volta dos cinco anos de idade.

Com base nesses resultados, Henle e Henle (1967; PANNUTI, 1981) deduziram que, pela sua disseminação, o vírus poderia estar vinculado a alguma doença comum e,

provavelmente, mais branda. Os primeiros testes em crianças, nos quais procuravam manifestações clínicas, não foram conclusivos. A chave para o mistério foi encontrada em 1967. Na ocasião, uma técnica do laboratório dos Henle – identificada pelas iniciais E.H. – contraiu mononucleose infecciosa (MI). A amostra de sangue retirada da paciente continha altos níveis de anticorpos anti-EBV, sendo que, em amostras anteriores ao adoecimento, retiradas por outros motivos, não havia nenhum indício de anticorpos anti-EBV (HENLE, 1967). Tal informação foi corroborada por outros laboratórios (PANNUTI, 1981) e, finalmente, foi estabelecida concretamente a relação entre o EBV, o Linfoma de Burkitt e a Mononucleose Infecciosa.

3. MORFOLOGIA, CICLO E TRANSMISSÃO

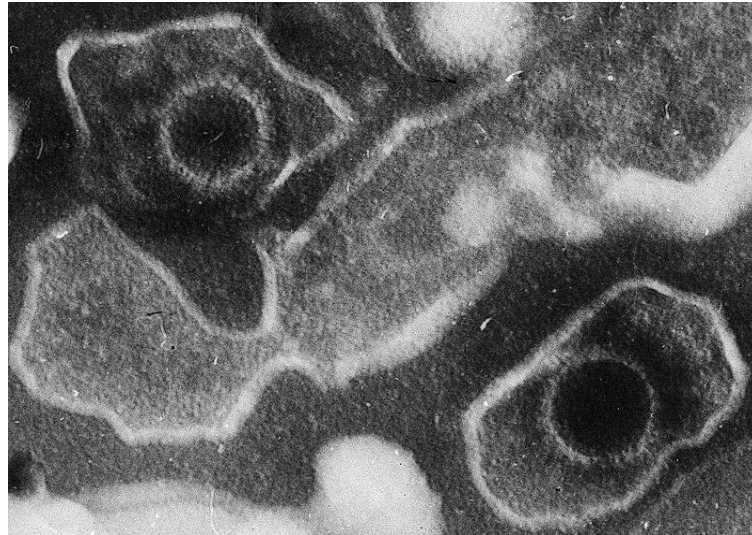


Figura II: Imagem de dois vírions de EBV, obtidas por microscopia eletrônica de transmissão. Ampliação desconhecida (<http://cienciadiaria.com.br/wp-content/uploads/2010/03/epstein.jpg>, acesso em 10/07/11, 23:15).

O EBV está inserido na família *Herpesviridae*, subfamília *Gammaherpesvirinae* - terminologia derivada do grego *herpein*, que significa “rastejar” (STEPHENS, 2009) – e gênero *Lymphocryptovirus*, do qual também participa o Herpesvírus Humano tipo oito (HHV-8) ou KSHV (*Kaposi's Sarcoma-associated Herpesvirus*, vírus causador do Sarcoma de Kaposi). O nome da família faz referência ao fato de as infecções serem de progressão lenta; na maioria dos casos são tratáveis, e o agente mantém-se no organismo-hospedeiro, mesmo após o desaparecimento dos sintomas.

O vírus Epstein-Barr possui material genético de DNA de fita dupla, protegido por capsídeo icosaédrico, com envelope lipídico, semelhante aos outros herpesvírus. Por isso, é impossível identificar o vírus e especificá-lo apenas por técnicas de imagem. O EBV possui cerca de 172 kbp (172 mil pares de bases nitrogenadas), sendo 59% composto pelo par Guanina-Citosina (G+C), e codifica aproximadamente 100 genes diferentes (BROOKS *et al*, 2009).

O vírus é considerado “frágil” por sua curta vida no meio externo, pois o envelope lipídico rompe-se rapidamente em ambiente externo e, sem este, o vírus morre em curto

período de tempo. Esta é a razão pela qual a transmissão é feita normalmente pelo contato direto de secreções de locais de onde o vírus se situa, tendo ênfase especial na saliva.

A saliva é a principal via de infecção do vírus para infectar um novo indivíduo, pois o EBV replica-se com facilidade nas células do tecido nasofaríngeo e, dali, permanece em suspensão na mesma. O contato da secreção infectada com a mucosa bucal de outrem proporciona a entrada do EBV no organismo, retomando o ciclo viral. Por razão de seu modo de contágio, o EBV é um dos vírus mais disseminados no planeta, afetando de 80 a 95% da população adulta atualmente.

O ciclo do vírus começa na sua entrada no corpo humano, quase que exclusivamente por via oral, onde ele se liga às células epiteliais do tecido da nasofaringe através de receptores específicos, entrando através da fusão de membranas. Lá, o vírus se replica intensamente, e sai da célula por brotamento, como faz a maior parte dos integrantes da família dos herpesvírus, adquirindo assim o envelope fosfolipídico. Este processo dura entre 4 e seis semanas – período condizente à incubação do EBV. A partir daí, a maior parte dos vírions do HHV-4 caem na corrente sanguínea em busca de sua célula alvo: o **Linfócito B**, ou encontram-nos nas tonsilas, linfonodos localizados na garganta, próximo ao tecido infectado. Outra parte dos espécimes do EBV mantem-se na nasofaringe, onde ficam em suspensão na saliva, produzida pela glândula localizada próxima ao tecido. A saliva contaminada vai para a cavidade bucal e, quando entra em contato com a mucosa bucal de outro indivíduo, entra no novo organismo e reinicia seu ciclo.

Dentro de suas principais características, o EBV é denominado um oncovírus – vírus capaz de alterar o DNA de sua célula-alvo, induzindo a replicação descontrolada da mesma. Tal replicação pode gerar tumores – tecidos que não obedecem à ordem fisiológica do corpo, ainda que consumindo suas reservas de energia, e replicam-se indefinidamente.

A forma de contágio do EBV e as características sociais recentes – desde a época em que foi descoberto, em meados dos anos 1960, até os dias atuais - contribuíram para que a MI recebesse a alcunha de “doença do beijo”. Esse apelido foi popularizado por volta dos anos 1970, quando um grande grupo de estudantes apresentou MI logo depois de um piquenique. Quando os estudantes descreveram ações precedentes ao surto, a notícia da disseminação e os relatos serviram para levar à população o apelido já conhecido pelos especialistas do ramo da ciência médica.

4 INTERAÇÕES VÍRUS-ORGANISMO

4.1 BIOLOGIA MOLECULAR

4.1.1 Receptores, antígenos e anticorpos.

Depois de muitas pesquisas já se conseguiu elucidar alguns pontos do ciclo replicativo do EBV a nível molecular. Dentre estas experiências duas se destacaram. Em 1984, através de testes com células de linhagens específicas e anticorpos especiais contra proteínas expressadas pelo Linfócito B, foi constatado que o EBV liga-se ao linfócito através de um receptor de um entre vários produtos da clivagem dos componentes do complemento – especificamente o produto c3d. O receptor era o CR-2, característico desta célula. A exclusividade da posse deste receptor explica a afinidade do vírus por esta célula (FINGEROTH *et al*, 1984). Depois de descoberto o receptor celular para o EBV, faltava descobrir qual o componente viral que se ligava ao linfócito. Em 1985, novamente em testes com anticorpos específicos (desta vez para cada componente da estrutura viral), foi mostrado que a glicoproteína 140 (gp140) era a responsável pela ligação com o receptor CR-2 (FRADE *et al*, 1985).

Em outros estudos, foi demonstrado que outras duas glicoproteínas participam da interação entre o Linfócito B e o EBV. Foi visto que a glicoproteína 350 (gp350) liga-se também com este receptor durante a adsorção do vírus na célula. Após a adsorção ser completada, o vírus sofre endocitose, isto é, a célula forma uma vesícula para encapsular o corpo estranho. Logo depois, uma nova glicoproteína, a gp85 participa da fusão do vírus com a membrana da vesícula endocítica, levando à saída do vírus da vesícula para o citoplasma do linfócito. Porém, não há maiores esclarecimentos acerca do desnudamento e dos processos envolvidos na saída da partícula viral para o citosol (SANTOS, 2002).

Indivíduos infectados com o EBV revelam em exames de ensaio imunoenzimático (ELISA) a expressão de antígenos e anticorpos específicos para cada estágio da infecção pelo EBV. Nas primeiras 24 horas de infecção já é possível detectar a presença de antígenos nucleares de Epstein-Barr (*Epstein-Barr Nuclear Antigen*, EBNA), sendo que esses antígenos são os responsáveis pela transformação das células afetadas pelo vírus (WOLF, 2001).

O vírus, ao penetrar em sua célula alvo, pode entrar em estado latente - o caso mais comum, em que se incorpora ao DNA da célula, e promove sua transformação - ou replica-se para infectar novas células. Nessa replicação pode haver a liberação de mais dois antígenos, chamados antígenos precoces (*Early Antigen*, EA) que é subdividido em antígeno difuso (*Early Antigen Difuse*, EA-D) e antígeno restrito (*Early Antigen Restrict*, EA-R). Os dois antígenos são encontrados em formas de infecção mais graves do EBV. O EA-D é encontrado

em pacientes que tenham adoecido pelo Linfoma de Burkitt, enquanto que o EA-R é detectado quando há a presença do Carcinoma Nasofaríngeo. (WOLF, 2001).

Os Linfócitos B, quando transformados, produzem anticorpos policlonais¹ anti-EBV, que também se ligam a eritrócitos de carneiro, sendo considerados, portanto, anticorpos heterofílicos, isto é, anticorpos capazes de ligar-se a mais de um antígeno (WOLF, 2001).

A resposta imune do hospedeiro é estimulada pelo antígeno do capsídeo viral (VCA), validada pela presença de dois anticorpos: a Imunoglobulina A (IgA) anti-EBV e a Imunoglobulina G (IgG) anti-EBV. A primeira classe de globulina é utilizada para detectar infecção corrente ou recente, já que ela se degrada apenas alguns meses após o desaparecimento dos sintomas de mononucleose.

A IgG indica apenas a existência do vírus no corpo, pois ela é presente por toda a vida do paciente, atuando como uma "patrulha", controlando o vírus e evitando que haja novas infecções. Exatamente esta classe de anticorpos foi usada na pesquisa acerca da faixa etária de infecções de acordo com as regiões e classes sociais.

Em tal pesquisa, diferentes grupos realizaram exames específicos de anticorpos anti-EBV, e neles foram constatados que em países e regiões de alto padrão higiênico e econômico, há o primeiro contato com o EBV geralmente na pré-adolescência, enquanto que locais cujos padrões são mais baixos, é quase certo o contato com o vírus ser ainda na infância, por volta dos cinco anos. Acerca desta pesquisa, foi argumentado que é provável que o alto índice de infecção na em tal faixa etária tivesse como causa o fato de não haver sintoma específico para a presença do EBV (PANNUTI,1981). Assim, também é possível afirmar que é grande a população que tem anticorpos anti-EBV sem saber que já teve contágio com o agente.

4.1.2 Mecanismos de escape do EBV

É presumível que o EBV, por se proliferar com tamanha eficiência entre a população humana, seja munido de estratégias para evitar o ataque do sistema imunológico, que possui uma potente resposta contra este tipo de agente etiológico.

Dentre os genes que o DNA do EBV codifica, um deles produz uma proteína que possui homologia com o peptídeo que compõe a Interleucina 10 (IL-10). Esta proteína é reconhecida pelo organismo como sendo a citocina propriamente dita, e executa a ação da mesma, debelando a resposta imune Th2, inibindo a síntese de Interferon- γ (IFN- γ) de células

¹ Anticorpos que se ligam a mais de um epítopo do mesmo antígeno

mononucleadas, especialmente macrófagos, responsáveis pela resposta Th1 (ROMANOS, 2002).

Outras proteínas produzidas a partir de outros genes do EBV são as proteínas BARF1. Este grupo de proteínas funciona como receptor solúvel para Interferon- α (IFN- α) e IFN- γ , duas citocinas que podem inibir o crescimento de células infectadas com o EBV. As proteínas BARF1 funcionam como chamariz para as citocinas, evitando que atuem na célula infectada e evitando a resposta imune do organismo hospedeiro (ROMANOS, 2002).

Mais duas proteínas são responsáveis pela evasão do EBV do sistema imune. Desta vez, o mecanismo de escape é a inibição da apoptose. Quando uma célula sofre alteração em seu código genético, substâncias são expressas, induzindo células de defesa a destruí-la, para que a mutação não se espalhe pelo tecido, gerando um tumor. Para sobreviver dentro da célula transformada, o EBV faz com que a célula produza a proteína viral BHFR1, proteína homóloga à proteína humana bcl-2, que bloqueia a apoptose. Ao mesmo tempo, outra proteína viral é produzida: a LMP1, que coordena a expressão de outras proteínas celulares responsáveis por inibir a apoptose, dentre tais proteínas está a própria bcl-2 (ROMANOS, 2002).

Para que haja a apresentação dos antígenos de um corpo invasor pelos macrófagos e outras células apresentadoras, é necessária a clivagem das proteínas em peptídeos menores, função exercida por organelas denominadas proteossomas. Um antígeno do ácido nucleico chamado EBNA-1 (*Epstein-Barr Nuclear Antigen 1*) tem a capacidade de bloquear a ação das proteossomas e, conseqüentemente, sua própria degradação. Desta maneira, o antígeno nuclear não é apresentado para as células do sistema imune adquirido, prolongando a presença do EBV no corpo (ROMANOS, 2002).

Por fim, o EBV, ao lançar-se no código genético da célula, evita que esta envie proteínas importantes para a efetuação da resposta citotóxica. Assim, os linfócitos T CD8, responsáveis pela resposta contra este tipo de antígeno, não executam sua função e o EBV pode evitar sua destruição pela resposta imunológica do hospedeiro (ROMANOS, 2002).

Mecanismo	Ação	Efeito
Proteína homóloga a IL-10	Inibição de IFN- γ	Inverter a resposta imune de Th1 para Th2
Proteína BARTF1	Receptor solúvel de IFN- γ e IFN- α	Evitar a ação destas citocinas
Proteína BHFR1	Homologia à proteína bcl-2	Impedir a apoptose
Proteína LMP1	Coordenar proteínas anti-apoptóticas	Impedir a apoptose
Antígeno EBNA1	Bloqueia ação de proteossomas	Evadir a apresentação do antígeno
Inibição de secreção de proteínas	Impedir a secreção de proteínas sinalizadoras	Evitar a sinalização para os linfócitos

Tabela I: Principais mecanismos de escape do EBV. (Fonte: o autor)

4.2 PATOGENIA VIRAL

Já houve casos em que o EBV foi noticiado como agente etiológico de diversas doenças (PANNUTI, 1981). Dentre elas, destacam-se três principais enfermidades: Mononucleose Infecciosa, Linfoma de Burkitt e Carcinoma Nasofaríngeal. Mais do que isso, o EBV apresenta características únicas no sentido de seu comportamento no corpo humano.

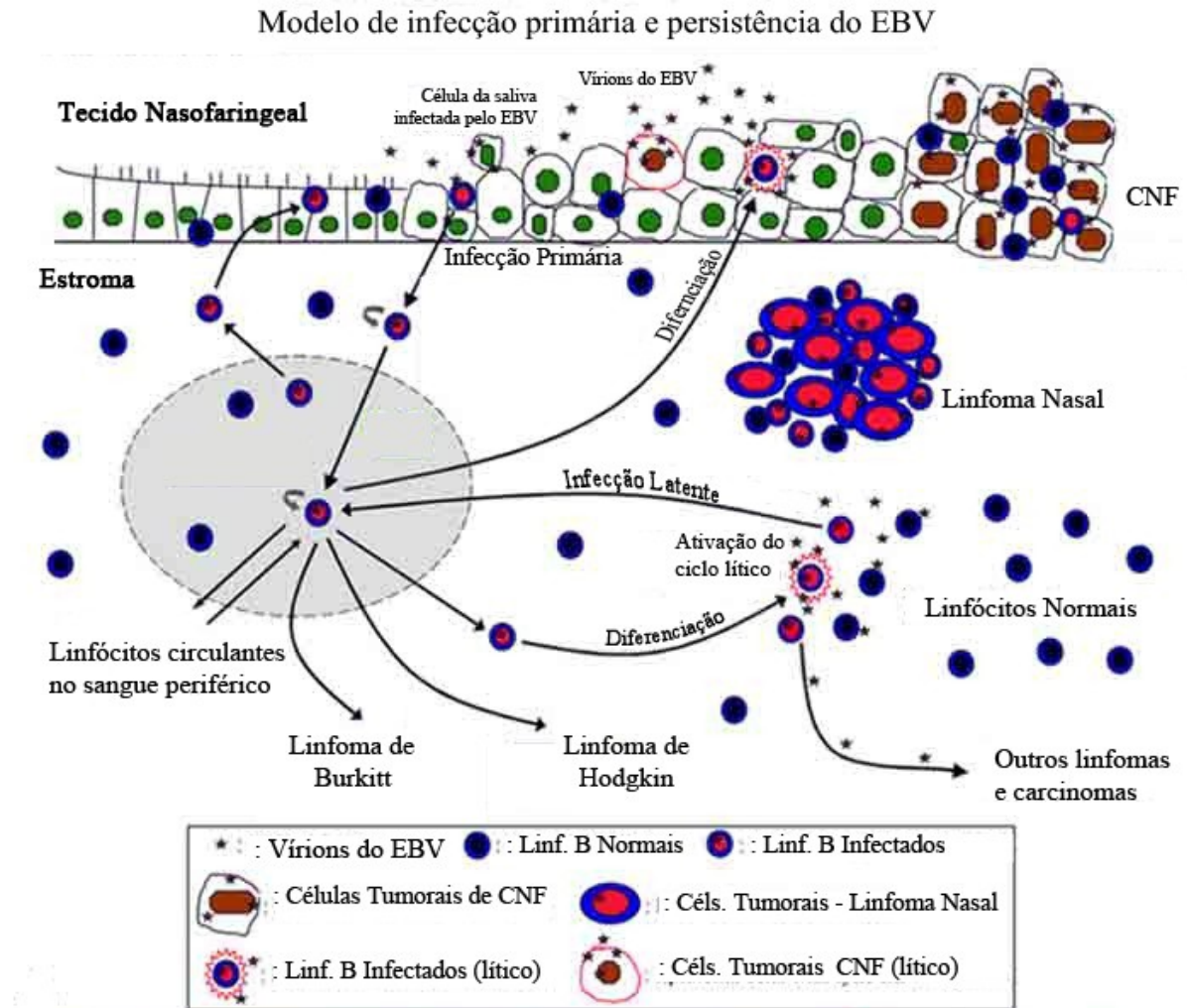


Figura III: Esquema de infecção do tecido nasofaríngeo, porta de entrada para o EBV no organismo humano, seguido da infecção dos linfócitos B

(<http://www.bioscience.org/2006/v11/af/2000/fig2.jpg>, acesso a 05/06/11, 01h47min, adaptado).

4.2.1 Mononucleose Infecciosa

O EBV, após ligação com os receptores já citados, penetra no Linfócito B por meio de endocitose. Posteriormente ao desnudamento do vírion, etapa onde é feita a separação do ácido nucleico viral das demais estruturas, pode entrar em dois ciclos: ciclo replicativo lítico e ciclo lisogênico.

No primeiro ciclo, a célula é “escravizada” pelo EBV, que passa a fabricar novas estruturas virais, como o capsídeo e novas fitas de DNA. As novas partículas saem da célula infectada por meio de brotamento. Ao brotar da célula, o vírus leva consigo uma parte da membrana plasmática celular, formando o envelope lipídico. Esta formação do envelope repete-se entre os outros víriões e conseqüentemente, a célula é destruída, no processo chamado lise celular.

Já no ciclo lisogênico, o EBV incorpora seu próprio DNA no material genético do linfócito. Ao alterar o código genético da célula, o EBV imortaliza a célula, alterando sua função e programando-a para duplicar-se sem parar, perpetuando o material do vírus.

Com a duplicação indefinida, cria-se um estado de linfocitose mononuclear, onde há um aumento de leucócitos mononucleados². O aumento de linfócitos leva também a uma forma de “superlotação” dos linfonodos e outros órgãos linfoides³, condição esta chamada de linfadenopatia, causando inchaço de tais órgãos. Para combater a infecção, o organismo acelera a produção de células imunes – especialmente Linfócitos T CD8, que tem a propriedade citotóxica, ou seja, é capaz de destruir a célula infectada, destruindo também o agente infeccioso. Para que haja essa aceleração, é elevada a temperatura do corpo, causando febre. O aumento de linfócitos, a linfadenopatia e a febre formam a tríade sintomática clássica que caracteriza a síndrome de mononucleose infecciosa, principal doença que este vírus causa.

Além destes sintomas, em casos esporádicos há o aparecimento de outros sintomas para a mononucleose infecciosa, entre elas esplenomegalia (50% dos casos), hepatomegalia (10% dos casos), erupções cutâneas (5% dos casos, aumentando caso haja uso de ampicilina ou amoxicilina pelo paciente), trombocitopenia discreta (50% dos casos) e ruptura esplênica (0,2%, podendo aumentar este percentual caso o paciente faça esforço excessivo durante o período agudo da doença, como esportes) (WOLF, 2001).

4.2.2 Linfoma de Burkitt

São poucos os casos deste tipo de câncer pelo mundo. Entre esses casos, a região onde há maior incidência desta doença é na África subsaariana. E dentro desta estatística, o linfoma é causado em sua maioria pelo EBV. Nesta doença, o vírus ataca o indivíduo de forma mais intensa e causa sintomas mais profundos que da MI comum. Embora apareça também os sintomas da MI, como a linfocitose mononuclear e a hepatoesplenomegalia, o principal sintoma consiste em uma grande massa formada na faixa frontal do crânio, geralmente nos maxilares superiores. A dor sentida pelo paciente é muito menor que o esperado para o tamanho da deformação criada pelo tumor.

Após a formação desta massa, inicia-se o processo de síndrome paraneoplásica, onde há uma disseminação das células cancerosas através das vias circulatórias – tanto as vias

² Classe de células em que o Linfócito B está contido.

³ Órgãos que participam da produção, amadurecimento e armazenamento deste tipo de célula.

linfáticas quanto as vias sanguíneas – e formação de novos tumores. Essa disseminação é geralmente acelerada, fazendo com que o paciente tenha pouco tempo de vida após o aparecimento dos primeiros sintomas da doença, se não receber tratamento adequado. A acelerada evolução da doença também é motivo de este ser um linfoma de alta letalidade.

Um fator provável para a alta incidência do linfoma na região subsaariana da África é o fato de esta ser área endêmica de malária. Há a hipótese de que o *Plasmodium falciparum*, ao livrar-se da resposta imune, inverte a resposta de Th1 para Th2, reduzindo a capacidade do corpo de combater infecções intracelulares, facilitando a progressão do EBV dentro do organismo (ROMANOS, 2002).

4.2.3 Carcinoma Nasofaríngeo

Esta é a forma cancerígena mais comum no continente asiático. O Carcinoma Nasofaríngeo (CNF) ataca principalmente pessoas do sexo masculino na faixa etária de 20 a 50 anos de idade. O tumor formado no tecido nasofaríngeo é letal, pois a malignidade é inacessível por via cirúrgica e intratável por quimioterapia.

Em quase todos os casos de CNF relatados, foi determinada a presença do DNA viral do EBV. Existem duas principais hipóteses para a incidência de CNF na Ásia: existe uma predisposição genética da população asiática; ou a alimentação influencia na incidência da doença.

4.2.4 Reativação do EBV

O EBV tem manifestação clínica de duração de aproximadamente duas semanas. Após este tempo, o vírus se mantém nas células infectadas, sob a forma de infecção latente, persistindo no organismo hospedeiro.

Entretanto, em indivíduos que sejam infectados pelo EBV tendo alguma forma de imunocomprometimento (como infecção pelo HIV, ou imunossuprimidos por uso de medicamentos), pode haver reativação do EBV no corpo, com manifestação mais grave que a infecção aguda primária, podendo, se não for tratada com eficiência, levar o paciente à morte.

4.3 PECULIARIDADES DO EBV

4.3.1 Citomegalovírus

Embora o vírus Epstein-Barr seja o principal agente etiológico associado à mononucleose infecciosa, outro agente também provoca síndrome também denominada mononucleose infecciosa. É o caso do *Human Herpesvirus type 5* (Herpesvírus Humano tipo cinco, HHV-5), mais conhecido como Citomegalovírus (CMV). Este vírus também pertence à família *Herpesviridae*, porém, diferente do EBV, o CMV pertence à subfamília dos *Alphaherpesvirinae*.

Semelhante em muitos aspectos clínicos ao EBV, o CMV apresenta outros sintomas que são importantes para a diferenciação do agente infeccioso. Primeiramente, ao contrário do EBV, que apresenta como forma de infecção a transmissão de secreção contaminada e, em raros casos, por transfusão sanguínea, o CMV também entra no organismo por via respiratória e via sexual, além de também ser transmitida por via vertical, isto é, também causa infecções congênicas ao paciente (OLIVEIRA, 1994).

Uma forma de detectar o CMV, indisponível para o EBV, é o exame de sedimentos provindos da urina, pois este vírus também é excretado pela urina do paciente (OLIVEIRA, 1994). Fora o tecido nasofaríngeo e as células linfóides, alvo em comum com o EBV, o CMV também ataca rins, glândulas salivares, fígado (se o paciente for uma criança) e os pulmões (caso seja um paciente imunossuprimido) (OLIVEIRA, 1994).

Os pacientes que são infectados pelo CMV por via materna apresentam sintomas como petéquias (desaparecendo até antes dos três meses de vida), icterícia (antes dos seis meses), hepatoesplenomegalia (antes de completar um ano). Também apresentam lesões no sistema nervoso central (SNC) que se estendem pela vida (OLIVEIRA, 1994).

4.3.2 Administração de antibióticos

A mononucleose infecciosa possui sintomas comuns a uma série de doenças tratáveis a base de antibióticos, como a tonsilite, cujo tratamento é feito com a administração de amoxicilina ou ampicilina. Porém, se o diagnóstico for incorreto, e o paciente estiver acometido por mononucleose e for feita a medicação para tratamento de tonsilite, é gerada uma reação alérgica, caracterizada por lesão dérmica maculo-papular eritematosa. Por isso é importante que sejam feitos os exames corretos para a detecção do vírus, evitando assim o aparecimento da lesão. Ademais, a ampicilina já foi usada como indicador da presença do EBV em alguns grupos de pesquisa (KAGAN, 1977).

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O vírus Epstein-Barr promove a mononucleose infecciosa como principal doença e, em casos graves, desenvolve doenças potencialmente letais, como o Linfoma de Burkitt e o Carcinoma Nasofaríngeal. Embora quase nunca seja relacionada a outras doenças, já foi reportada a ação do EBV em várias doenças, incluindo “sarcoidose, lúpus eritematoso disseminado, doenças renais crônicas, ataxia-telangectasia, doença de Hodgkin e outros linfomas malignos, leucemia linfóide crônica e outras leucemias, vários tipos de carcinomas, sarcoma de Kaposi e, provavelmente, outras condições”. (PANNUTI, 1981, p.97).

A presença do EBV, embora possua características distintivas a nível celular, manifesta sintomas que confundem profissionais da saúde que presumem estar diante de pacientes acometidos por doenças mais recorrentes e podem indicar a medicação errada para o paciente. Por essa razão, é necessária imaginação por parte do médico para sugerir uma infecção pelo vírus Epstein-Barr.

Não existe nenhum tipo de medicação direta contra o EBV. Para o tratamento de mononucleose infecciosa, combate-se apenas os sintomas da doença, com o uso de antipirogênicos para redução da febre e alguns antibióticos (exceto amoxicilina e ampicilina, por conta da reação alérgica) para reduzir a linfadenopatia. A infecção é controlada pelo próprio organismo humano que gera resposta eficiente contra o agente viral.

Uma vez infectado, o indivíduo jamais deixará de ter partículas de EBV pelo corpo. Quando não há o vírion livre no organismo, ainda vê-se a presença do vírus em forma de DNA ligado ao material genético das suas células alvo, e tal como todo exemplar da família *Herpesviridae*, o vírus Epstein-Barr permanece por toda a vida, apenas sendo secretado pelo indivíduo contaminado e, já que grande parte da população humana está infectada pelo EBV, novos indivíduos poderão ser infectados por ele e, ainda que sem apresentar sintomas específicos, perpetuarão a espécie viral do vírus Epstein-Barr.

REFERÊNCIAS

- BROOKS, Geo. F. *et al.* **Microbiologia Médica**, McGraw Hill, 2009, 24^a edição;
- BURKITT, D. **A sarcoma involving the jaws in African children.** *Brit. med. J.*, 2:1019-23, 1958;
- EPSTEIN, M. A. *et al.* **Morphological and biological studies on a virus in cultured lymphoblasts from Burkitt's lymphoma.** *J. exp. Med.*, 121:761-70, 1965;
- FINGEROTH, J. D. *et al.* **Epstein-Barr virus receptor of human B lymphocytes is the C3d receptor CR2.** *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 81:4510-14, 1984;
- FRADE, R. *et al.* **gp140, the C3d receptor of B lymphocytes, is also the Epstein-Barr virus receptor.** *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 82:1490-93, 1985;
- HENLE, G.; HENLE, W.; DIEHL, V. **Relation of Burkitt's Lymphoma tumour-associated herpes-type virus to infectious mononucleosis.** *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 59:94-101, 1967;
- KAGAN, B. M.: **Ampicillin rash.** *West J. Med* 126:333-35, Abr 1977;
- OLIVEIRA, Ledy do Horto dos Santos; OLIVEIRA, Solange Aritmos de. Herpeviridae. In: OLIVEIRA, Ledy do Horto dos Santos. **Virologia Humana**. Rio de Janeiro: Cultura Médica, 1994;
- PANNUTI, CS: **Soro-epidemiologia do vírus de Epstein-Barr (VEB).** *Rev. Saúde públ.*, S. Paulo, 15:93-100. 1981;
- ROMANOS, Maria Teresa Villela; SANTOS, Norma Suely de Oliveira; MIRANDA, Monica Maria Fonseca Souza de. **Viroses Oncogênicas.** In: SANTOS, Norma Suely de Oliveira; ROMANOS, Maria Teresa Villela; WIGG, Marcia Dutra. **Introdução à Virologia Humana**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. p 211-19;

STEPHENS, Paulo Roberto Soares *et al.* Virologia. In: MOLINARO, Etelcia Moraes; CAPUTO, Luzia Fátima Gonçalves; AMENDOEIRA, Maria Regina. **Conceitos e métodos para a formação de profissionais em laboratórios em saúde.** Rio de Janeiro: EPSJV; IOC, 2009, 496 p. V.4;

WOLF, Marcos Antônio. Mononucleose Infeciosa. In: ÁVILA, Sandra L.M. e FERREIRA, A. Walter. **Diagnóstico Laboratorial das Principais Doenças Infeciosas e Auto-ímmunes.** Rio de Janeiro: Editora Guanabara-Koogan, 2001, 2ª Edição.