

# **RELAÇÃO ENTRE O VÍRUS EPSTEIN-BARR E O CARCINOMA ESPINOCELULAR DE LARINGE: UMA REVISÃO INTEGRATIVA**

## **INTRODUÇÃO:**

O vírus Epstein-Barr (EBV), também chamado de Herpesvírus Humano 4, é um membro da família herpesvírus encontrado em todas as regiões do mundo. Infecta cerca de 95% da população adulta, sendo o primeiro vírus humano a demonstrar implicação diretamente no desenvolvimento de neoplasia maligna: linfoma de Burkitt (ROTA *et al.* 2010).

O envolvimento do EBV com os carcinomas indiferenciados de nasofaringe é amplamente conhecido (DE OLIVEIRA *et al.* 2006). Contudo, dados de vários estudos sugerem que o vírus também esteja envolvido no desenvolvimento e/ou progressão do carcinoma espinocelular (CEC) da cavidade oral, da laringe e do esôfago, bem como no adenocarcinoma gástrico e no linfoma de Hodgkin (MUDERRIS *et al.* 2013).

O câncer de laringe é a segunda neoplasia maligna mais comum de cabeça e pescoço e o carcinoma de células escamosas é o tipo histológico mais frequente, com 90-95% dos casos (VAZQUEZ-GUILLEN *et al.* 2018). Esta neoplasia representa 1,5% de todos os novos casos de câncer diagnosticados anualmente, enquanto representa 30% e 12% de todos os novos casos de tumores de cabeça e pescoço em homens e mulheres, respectivamente; sendo responsável por altas taxas de mortalidade (1,4% de todas as mortes por câncer a cada ano) e alta morbidade (DE OLIVEIRA *et al.* 2006).

Um estudo de caso controle realizado por Kiaris *et al.* (1995) apontou uma prevalência relativamente alta de EBV no tecido tumoral (33%) de pacientes com câncer de laringe, em comparação com a baixa taxa (15%) do genoma do vírus detectado no tecido normal adjacente dos pacientes, indicando um provável papel do EBV no desenvolvimento da doença.

## **OBJETIVOS:**

O presente estudo visa investigar uma possível relação entre o EBV e a carcinogênese espinocelular de laringe através de uma revisão integrativa de manuscritos divulgados em plataformas de dados virtuais. A avaliação de fatores epidemiológicos que pudessem estar relacionados à carcinogênese também foi realizada.

## **METODOLOGIA:**

O presente manuscrito foi realizado por meio de uma revisão integrativa de artigos contidos na base de dados PubMed, sendo usados nesta pesquisa os seguintes descritores: “EBV” e “carcinoma de laringe”. Para obtenção de artigos científicos que traziam em seu embasamento científico apontamentos importantes sobre a patologia em si, todos os descritores foram previamente pesquisados e confirmados na plataforma descritores em ciência da saúde (DeCS). Os critérios de inclusão estabelecidos compreendem: artigos no idioma inglês, que trouxessem em seu conteúdo abordagens sobre o tema proposto com descrições atuais comprovando a sua especificidade em EBV, evidenciando a relação deste vírus com o carcinoma de laringe, sem quaisquer restrições relacionadas à data de publicação.

## **RESULTADOS:**

Os artigos foram analisados do período de 1973 até o ano de 2020. Ao todo foram selecionados 100 artigos. Destes 33 correspondiam ao tema proposto e, após aplicação dos critérios de inclusão e exclusão, foram selecionados 27, sendo que os 17 que se encontram abaixo foram os de maior relevância para o estudo.

Quadro 1 – descrição da identificação do artigo e ano de publicação, do tipo de estudo, do número amostral e dos principais resultados acerca da existência de uma relação entre o EBV e o carcinoma espinocelular de laringe.

<b>Autor e Ano</b>	<b>Tipo de estudo</b>	<b>Amostra</b>	<b>Principais Resultados</b>
Yang, 2001	Caso controle.	93	Nenhum dos casos de carcinoma laríngeo exibiram positividade para EBV.
Macmillan, 1996	Estudo transversal.	8	Todos os tumores exibiram alterações na expressão de p53, mas nenhum foi positivo para EBV.

Callaghan, 1983	Caso controle.	11	Não há explicações óbvias para a alta incidência de títulos de IgA anti-VCA em alguns dos grupos com carcinoma orofaríngeo, particularmente o grupo com câncer de laringe.
Kiaris, 1995	Caso controle.	27	O EBV desempenha um papel no desenvolvimento da doença.
Klatka, 2019	Caso controle.	33	A disfunção da resposta imune em pacientes com câncer de laringe pode estar associada à infecção por EBV.
Choe, 2012	Estudo transversal.	29	O EBV não foi identificado em nenhuma das amostras de tumor de laringe.
Brichácek, 1983	Estudo transversal.	5	Os achados sugerem uma associação entre o vírus EB e o carcinoma supraglótico da laringe.
Vlachtsis, 2005	Estudo transversal.	100	A combinação da expressão de EGFR e VEGF tem significado prognóstico, já a expressão de wt-p53 e bcl-2 não demonstraram valor prognóstico, bem como a presença de EBV e de HPV, mesmo que em coinfeção.
Abdulmir, 2008	Caso controle.	222	O carcinoma laríngeo tem como fatores de risco o tabagismo, o aumento da idade, o sexo masculino; apesar de não haver distinção de idade para cada carcinoma de cabeça e pescoço, a idade acima de 50 anos pode ser considerada fator de risco; com exceção do histórico familiar para os carcinomas laríngeos e carcinoma nasofaríngeo, os outros fatores investigados não tiveram significância.
McLemore,	Caso	40	A laringe foi o sítio mais acometido, e, apesar

2010	controle.		de o EBV ter sido encontrado em dois tumores, no geral, apenas alguns sítios foram focalmente positivos para HSV-1 ou HSV-2; todos sem significância prognóstica.
Moyano, 2009	Estudo retrospectivo.	4.987	A pesquisa de HPV, EBV e HHV-8 foi negativa, mas a coloração para p53 mostrou-se positiva em metade dos casos, contudo, foi atribuída ao tabagismo crônico a significância ao carcinoma espinocelular laríngeo.
Liu, 2015	Estudo de coorte.	9.157	Apesar de parentes de primeiro grau terem maior risco de adquirir câncer de laringe diferenciado comparado à população geral, este risco é baixo; sendo atribuída maior significância à fatores de risco como tabaco e álcool.
Lewensohn-Fuchs, 1994	Estudo de coorte.	41	Nenhuma alteração significativa foi encontrada entre a presença de HPV e EBV e p53 mutado ou elevado na lesão e prognóstico do paciente.
Chow, 2007	Estudo retrospectivo.	34	Mesmo presente em três carcinomas espinocelular laríngeo (SSC), o EBV não apresentou significância prognóstica e o crescimento do número de SSC nos últimos 15 anos esteve associado ao aumento da sobrevida de pacientes com câncer, à irradiação terapêutica, à imunossupressão e, possivelmente, ao aumento da prevalência de HPV.
Rota, 2010	Caso controle	10	Nossos resultados sugerem que as citocinas interleucina 10 e o fator de crescimento transformador beta1 podem atuar como fatores

			de crescimento no carcinoma de laringe relacionado ao EBV.
Muderris, 2013	Caso controle	27	Nossos resultados sugerem que, embora o EBV esteja presente em alguns dos carcinomas espinocelulares de laringe, sua presença não afeta a patogênese dos carcinomas de laringe.
De Oliveira, 2006	Transversal	110	Os resultados demonstram associação do HPV com mais de um terço dos carcinomas de laringe estudados, principalmente tumores glóticos.

### CONSIDERAÇÕES FINAIS:

A avaliação de fatores epidemiológicos que apresentem relação com a carcinogênese e a atuação viral é amplamente investigada. Apesar de um estudo transversal realizado com 100 pacientes portadores de carcinoma espinocelular de laringe não ter apontado idade, sexo, história familiar e raça como fatores indicativos de mau prognóstico; bem como relatar que tabagismo e consumo de álcool não apresentaram nenhum significado prognóstico pós-operatório comprovado (VLASCHTSIS *et al.* 2005), um estudo de caso controle realizado com 222 pacientes, dos quais 66 possuíam carcinoma laríngeo, apontou a idade acima de 50 anos como sendo um fator de risco para o desenvolvimento da doença. Demonstrou, também, que os cânceres de cabeça e pescoço são mais frequentes em homens 2,6:1 e, diferentemente do estudo transversal anterior, identificou relevância estatística ( $p < 0,01$ ) para a associação do tabagismo com esta carcinogênese; a história familiar também foi significativa ( $p < 0,05$ ) em 50% dos pacientes com câncer de laringe (ABDULAMIR *et al.* 2008).

Contudo, um estudo de coorte desenvolvido com 9.157 indivíduos, sugeriu que, apesar de parentes de primeiro grau terem maior risco de adquirir câncer de laringe diferenciado comparado à população geral, este risco é baixo, sendo atribuída maior significância a fatores de risco relacionados ao estilo de vida como tabagismo e etilismo; a identificação do EBV nestes carcinomas também não foi evidenciada (LIU *et al.* 2015).

O estudo de Kiaris *et al.* (1995) detectou a presença do EBV com mais frequência no tecido tumoral de pacientes com câncer de laringe que no tecido normal correspondente. De

acordo com os autores, ou o EBV infecta o tumor precocemente (ou mesmo o epitélio normal) e promove a progressão do tumor ou a infecção pelo EBV ocorre em um estágio posterior da doença, como resultado do ambiente tumorigênico da célula maligna que favoreça a sua proliferação. Contudo, não foram capazes de determinar com segurança uma associação potencial.

Em 2001, um estudo de caso controle com 93 amostras tumorais de laringe, dentre as quais 13 (14,0%) carcinomas não queratinizantes e 80 (86,0%) carcinomas espinocelulares, mostrou, por meio de hibridização *in situ*, a ausência do EBV em todos os carcinomas laríngeos (YANG *et al.* 2001); resultado compatível com um estudo transversal mais antigo, o qual, também não identificou a presença viral neste tipo de tumor (MACMILLAN *et al.* 1996). Entretanto, a imunohistoquímica revelou uma superexpressão de p53 em 43 (53,8%) amostras dos 80 CEC. Esses resultados sugerem que, tanto os carcinomas não queratinizantes quanto os de células escamosas na orofaringe, hipofaringe e laringe têm pouca, ou nenhuma, relação com o EBV (YANG *et al.* 2001).

De modo semelhante, um estudo transversal realizado em 2006 verificou a ausência de infecção por EBV em todos os casos de carcinomas de laringe investigados. Entretanto, evidenciou que o acúmulo de proteína p53 foi frequente, mostrando associação com as células malignas de proliferação e como o maior grau histológico dos carcinomas infectados por HPV, fato sugestivo da existência de uma relação desse vírus com a patogênese de um subconjunto de carcinomas de laringe (DE OLIVEIRA *et al.* 2006). A superexpressão da proteína p53 também foi evidenciada por outros estudos (LEWENSOHN-FUCHS *et al.* 1994; MACMILLAN *et al.* 1996; YANG *et al.* 2001; MOYANO *et al.* 2009).

Rota *et al.* (2010) observaram que a infecção por EBV tem um efeito definitivo na secreção de citocinas imunossupressoras, como IL-10, uma citocina de atividade imunossupressora produzida em maior quantidade pelos linfócitos T-helper do tipo 2, e o fator de crescimento transformador  $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1), outra citocina imunossupressora que induz a troca da imunoglobulina A (IgA), ricamente presente em mucosas respiratórias e gastrointestinais, bem como a replicação do EBV em células infectadas. Isso sugere que as citocinas, bem como a estimulação de autoanticorpos anti-IgA, podem desempenhar um papel patogênico no carcinoma de laringe associado ao EBV, suprimindo as respostas antitumorais e promovendo o crescimento do carcinoma; já que podem antagonizar os mecanismos apoptóticos e reduzir a resposta imune antitumoral em casos de malignidade.

Outros dois estudos de caso controle, um mais recente com 33 pacientes com carcinoma espinocelular laríngeo sem tratamento prévio (KLATAK *et al.* 2019) e outro com

amostras sorológicas de 11 pacientes diagnosticados com carcinoma espinocelular laríngeo apresentaram títulos elevados de anticorpos anti-IgA, este último, com proporção >1:10 em mais de 50% das amostras sorológicas (CALLAGHAN *et al.* 1983). Além disso, o estudo mais recente sugeriu que a infecção por EBV pode ser um fator de risco para a carcinogênese dos tumores escamosos de laringe.

O DNA do EBV em espécimes de tumores laríngeos foi encontrado em uma prevalência relativamente baixa: 54 dos 195 (27,7%) carcinomas avaliados (VAZQUEZ-GUILLEN *et al.* 2018). Ademais, Muderris *et al.* (2013) não conseguiram encontrar nenhuma relação significativa entre o EBV e o desenvolvimento do tumor no estudo que realizaram em trezentos pacientes com câncer de cabeça e pescoço, incluindo laringe, hipofaringe, orofaringe e tumores da cavidade oral.

Por fim, a presença do EBV nos carcinomas espinocelulares de laringe não apresentou associação importante e/ou não foi identificada em sete (07) estudos (BRICHÁSECK *et al.* 1983; LEWENSOHN-FUCHS *et al.* 1994; GOLDENBERG *et al.* 2004; MOYANO *et al.* 2009; MCLEMORE *et al.* 2010; CHOE *et al.* 2012 e LIU *et al.* 2015).

Diante disso, percebe-se a inexistência de um consenso acerca da associação do EBV com a carcinogênese espinocelular laríngea, prevalecendo, em meio aos estudos apontados, uma tendência à negativa de tal relação. Sendo necessárias mais investigações acerca do tema para a formação de um entendimento concreto. Contudo, o potencial viral promotor de citocinas imunossupressoras como IL-10 e TGF- $\beta$ 1, bem como a estimulação de anticorpos anti-IgA, apesar de não terem sido relacionadas com a carcinogênese de modo direto, podem favorecê-la indiretamente. Dados epidemiológicos como idade acima de 50 anos, sexo masculino, tabagismo e consumo de álcool foram apontados como fatores de risco para o desenvolvimento dessa carcinogênese.

## **REFERÊNCIAS:**

ROTA, S; FIDAN, I; MUDERRIS, T; YESILYURT, E; LALE, Z. Cytokine levels in patients with Epstein–Barr virus associated laryngeal carcinoma. **The Journal Of Laryngology & Otology**, [S.L.], v. 124, n. 9, p. 990-994, 8 jun. 2010. Cambridge University Press (CUP). <http://dx.doi.org/10.1017/s0022215110001416>.

VAZQUEZ-GUILLEN, Jose Manuel; PALACIOS-SAUCEDO, Gerardo C.; RIVERA-MORALES, Lydia Guadalupe; ALONZO-MORADO, Monica Valeria; BURCIAGA-BERNAL, Saira Berenice; MONTUFAR-MARTINEZ, Maribel; ORTIZ-LOPEZ, Rocio;

GONZALEZ-VILLASANA, Vianey; MARTINEZ-TORRES, Ana Carolina; SERNA-HERNANDEZ, Julio Cesar. Infection and coinfection by human papillomavirus, Epstein-Barr virus and Merkel cell polyomavirus in patients with squamous cell carcinoma of the larynx: a retrospective study. **PeerJ**, [S.L.], v. 6, p. 285-295, 24 out. 2018. PeerJ. <http://dx.doi.org/10.7717/peerj.5834>.

MUDERRIS, Tuba; ROTA, Seyyal; MUDERRIS, Togay; İNAL, Erdogan; FIDAN, Isıl. Does Epstein-Barr virus infection have an influence on the development of laryngeal carcinoma? Detection of EBV by Real-Time Polymerase Chain Reaction in tumour tissues of patients with laryngeal carcinoma. **Brazilian Journal Of Otorhinolaryngology**, [S.L.], v. 79, n. 4, p. 418-423, maio 2013. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.5935/1808-8694.20130075>.

BRICHÁSECK, B.; HIRSCH, I.; HÍBL, O.; VILIKUSOVA, E.; VONKA, V.. Association of some supraglottic laryngeal carcinomas with EB virus. **International Journal Of Cancer**, [S.L.], v. 32, n. 2, p. 193-197, 15 ago. 1983. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/ijc.2910320209>.

LEWENSOHN-FUCHS I, MUNCK-WIKLAND E, BERKE Z, MAGNUSSON KP, PALLESEN G, AUER G, LINDHOLM J, LINDE A, ABERG B, RUBIO C, KUYLENSTIERNA R, WIMAN KG, DALIANIS T, et al. Involvement of aberrant p53 expression and human papillomavirus in carcinoma of the head, neck and esophagus. *Anticancer Res.* 1994 May-Jun;14(3B):1281-5. PMID: 8067697

GOLDENBERG, David; BENOIT, Nicole E.; BEGUM, Shahnaz; WESTRA, William H.; COHEN, Yoram; KOCH, Wayne M.; SIDRANSKY, David; CALIFANO, Joseph A.. Epstein-Barr Virus in Head and Neck Cancer Assessed by Quantitative Polymerase Chain Reaction. **The Laryngoscope**, [S.L.], v. 114, n. 6, p. 1027-1031, jun. 2004. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1097/00005537-200406000-00013>.

MOYANO, S; ORDI, J; CABALLERO, M; GARCIA, F; A DIAZ,; SANJOSE, S de; A CARDESA,; ALOS, L. Laryngeal squamous cell carcinoma in HIV-positive patients: lack of association with human papillomavirus infection. **Hiv Medicine**, [S.L.], v. 10, n. 10, p. 634-639, nov. 2009. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1468-1293.2009.00737.x>.

MCLEMORE, Michael S.; HAIGENTZ, Missak; SMITH, Richard V.; NUOVO, Gerard J.; ALOS, Lluçia; CARDESA, Antonio; BRANDWEIN-GENSLER, Margaret. Head and Neck Squamous Cell Carcinomas in HIV-Positive Patients: a preliminary investigation of viral associations. **Head And Neck Pathology**, [S.L.], v. 4, n. 2, p. 97-105, 24 mar. 2010. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s12105-010-0171-9>.

CHOE, Ji-Young; YUN, Ji Yun; NAM, Soo-Jeong; KIM, Ji Eun. Expression of c-Met Is Different along the Location and Associated with Lymph Node Metastasis of Head and Neck

Carcinoma. **Korean Journal Of Pathology**, [S.L.], v. 46, n. 6, p. 515-525, 2012. The Korean Society of Pathologists and The Korean Society for Cytopathology. <http://dx.doi.org/10.4132/koreanjpathol.2012.46.6.515>.

LIU, Z; FANG, F; CHANG, E T; YE, W. Cancer risk in the relatives of patients with nasopharyngeal carcinoma—a register-based cohort study in Sweden. **British Journal Of Cancer**, [S.L.], v. 112, n. 11, p. 1827-1831, 30 abr. 2015. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/bjc.2015.140>.

CALLAGHAN, D. J.; CONNER, B. R.; STRAUSS, M.. Epstein-Barr Virus Antibody Titers in Cancer of the Head and Neck. **Archives Of Otolaryngology - Head And Neck Surgery**, [S.L.], v. 109, n. 12, p. 781-784, 1 dez. 1983. American Medical Association (AMA). <http://dx.doi.org/10.1001/archotol.1983.00800260003001>.

KLATKA, Janusz; HYMOS, Anna; SZKATUŁA-ŁUPINA, Anna; GRYWALSKA, Ewelina; KLATKA, Barbara; TERPIŃOWSKI, Michał; STEPULAK, Andrzej. T-Lymphocyte Activation Is Correlated With the Presence of Anti-EBV in Patients With Laryngeal Squamous Cell Carcinoma. **In Vivo**, [S.L.], v. 33, n. 6, p. 2007-2012, 2019. Anticancer Research USA Inc.. <http://dx.doi.org/10.21873/invivo.11697>.

MACMILLAN, Christina; KAPADIA, Silloo B; FINKELSTEIN, Sydney D; A NALESNIK, Michael; BARNES, Leon. Lymphoepithelial carcinoma of the larynx and hypopharynx: study of eight cases with relationship to epstein-barr virus and p53 gene alterations, and review of the literature. **Human Pathology**, [S.L.], v. 27, n. 11, p. 1172-1179, nov. 1996. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0046-8177\(96\)90311-1](http://dx.doi.org/10.1016/s0046-8177(96)90311-1).

YANG, Hui Jun; CHO, Young Jun; KIM, Hee Sung; CHANG, Mee Soo; SUNG, Myung-Whun; KIM, Woo Ho. Association of p53 and BCL-2 expression with Epstein-Barr virus infection in the cancers of head and neck. **Head & Neck**, [S.L.], v. 23, n. 8, p. 629-636, 2001. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/hed.1089>.

ABDULAMIR, As; HAFIDH, Rr; ABDULMUHAIMEN, N; ABUBAKAR, F; ABBAS, Ka. The distinctive profile of risk factors of nasopharyngeal carcinoma in comparison with other head and neck cancer types. **Bmc Public Health**, [S.L.], v. 8, n. 1, p. 327-345, dez. 2008. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2458-8-400>.

KIARIS H, ERGAZAKI M, SEGAS J, SPANDIDOS DA. Detection of Epstein-Barr virus genome in squamous cell carcinomas of the larynx. **Int J Biol Markers**. 1995 Oct-Dec;10(4):211-5. PMID: 8750647. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8750647/>

VLACHTSIS, Konstantinos; NIKOLAOU, Angelos; MARKOU, Konstantinos; FOUNTZILAS, George; DANIILIDIS, Ioannis. Clinical and molecular prognostic factors in

operable laryngeal cancer. **European Archives Of Oto-Rhino-Laryngology**, [S.L.], v. 262, n. 11, p. 890-898, 1 mar. 2005. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s00405-005-0916-3>.