



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Débora Filipa Araújo Figueira

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “O Vírus Epstein-Barr e as doenças linfoproliferativas associadas” referentes à Unidade Curricular “Estágio”, sob a orientação, da Dra. Ana Baptista, do Dr. Nuno Silvério e da Professora Doutora Paula Cristina Santos Luxo Maia apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coímbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Setembro de 2019

Débora Filipa Araújo Figueira

**Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “O
Vírus Epstein-Barr e as doenças linfoproliferativas
associadas” referentes à Unidade Curricular
“Estágio”**

Sob a orientação da Professora Doutora Paula Cristina Santos Luxo Maia, da Dra. Ana Baptista e do Dr. Nuno Silvério apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Setembro de 2019

Declaração de Honra

Eu, Débora Filipa Araújo Figueira, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o n.º 2014217163, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo do Documento Relatório de Estágio e Monografia intitulada “O Vírus Epstein-Barr e as doenças linfoproliferativas associadas” apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade de Estágio Curricular.

Mais declaro que este Documento é um trabalho original e que toda e qualquer afirmação ou expressão, por mim utilizada, está referenciada na Bibliografia, segundo os critérios bibliográficos legalmente estabelecidos, salvaguardando sempre os Direitos de Autor, à exceção das minhas opiniões pessoais.

Coimbra, 2 de setembro de 2019.

Débora Figueira

(Débora Figueira)

Agradecimentos

A toda a minha família.

Aos meus pais, por me apoiarem incondicionalmente, pelo esforço para me proporcionarem uma melhor formação académica e por todo o amor e carinho.

Ao meu irmão, por toda a motivação e disponibilidade interminável.

Às minhas amigas de sempre, que me apoiaram em todos os momentos por maior que fosse a distância.

Às amigas que esta faculdade me deu, que me acompanharam desde o primeiro dia e com quem levo as melhores recordações.

Às minhas colegas de casa, que tão bem cuidaram de mim e foram uma verdadeira família.

À minha família de praxe, que me ensinou a tradição coimbrã, a qual espero ter transmitido com sucesso.

À equipa da Farmácia Santa Isabel, por toda a aprendizagem e disponibilidade.

À equipa da Merck. S.A., pela atenção, conhecimento e valores transmitidos.

À Professora Doutora Paula Maia, pelo apoio, disponibilidade e orientação.

A Coimbra, que tão bem me recebeu e da qual levo as melhores memórias, a saudade e a esperança de um dia cá voltar e sentir o que vivi nos mais belos anos da minha vida. O meu profundo e mais sincero obrigada.

Índice

Parte I – Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária

Abreviaturas	7
Introdução	8
Análise SWOT	9
Pontos Fortes	9
Pontos Fracos	12
Oportunidades	13
Ameaças	14
Conclusão	16
Referências Bibliográficas	17

Parte II – Relatório de Estágio em Indústria Farmacêutica

Abreviaturas	19
Introdução	20
Merck Group	21
Enquadramento da área de Market Access	21
Pontos Fortes	24
Pontos Fracos	25
Oportunidades	25
Ameaças	27
Conclusão	28
Referências Bibliográficas	29

Parte III – O Vírus Epstein-Barr e as doenças linfoproliferativas associadas

Abreviaturas.....	31
1. Introdução	33
2. Vírus Epstein-Barr	34
3. Diagnóstico	35
4. Oncogénese	37
5. Linfoma de Burkitt	38
6. Linfoma Clássico de Hodgkin	40
7. Linfoma difuso de grandes células B	42
8. Doenças linfoproliferativas e imunossupressão	43
8.1. Doenças linfoproliferativas pós transplante	43
8.2. Co-infecção com HIV	45
9. Infecção crónica ativa por EBV e linfomas das células T e NK.....	45
10. Imunodeficiência primária e cancro	46
11. Linfoma plasmablastico.....	47
12. Conclusão.....	49
13. Referências Bibliográficas	50

Parte I

Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária

Abreviaturas

ANF – Associação Nacional das Farmácias

ARS – Associação Regional de Saúde

DCI – Designação Comum Internacional

FSI – Farmácia Santa Isabel

LEF – Laboratório de Estudos Farmacêuticos

MNSRM – Medicamento não sujeito a receita médica

MSRM – Medicamento sujeito a receita médica

SNS – Serviço Nacional de Saúde

SWOT – *Strengths, Weaknesses, Opportunities and Threats*

Introdução

O presente relatório foi elaborado no âmbito do estágio curricular em farmácia comunitária, componente de avaliação obrigatória pertencente ao plano de estudos do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra.

O estágio em farmácia comunitária é um dos momentos mais importantes da formação enquanto futuros farmacêuticos, pois possibilita a consolidação do conhecimento adquirido ao longo do ciclo de estudos. O contacto direto com os utentes e com os seus problemas de saúde é um desafio constante e permite a revisão diária de diferentes tópicos. O aconselhamento farmacêutico é bastante valorizado pela comunidade, sendo fundamental uma correta comunicação da parte do farmacêutico e compreensão pelo utente.

No período compreendido entre janeiro e maio de 2019 realizei estágio na Farmácia Santa Isabel localizada na Avenida Sá da Bandeira na cidade de Coimbra, sob a orientação da Dra. Ana Baptista. Ao longo do tempo foi-me permitido desenvolver diferentes tarefas como, receção de encomendas, armazenamento e gestão de *stocks*, avaliação da tensão arterial e de parâmetros bioquímicos, atendimento e dispensa de MSRM e MNSRM, além de medicamentos de uso veterinário, sendo estes uma classe de elevada importância devido à afluência de utentes na sua procura. O apoio de toda a equipa técnica foi fundamental para desenvolver competências de comunicação e venda no decorrer do estágio.

A análise apresentada reflete a minha experiência na Farmácia Santa Isabel, tendo em conta uma avaliação dos pontos fortes a melhorar e dos pontos fracos a eliminar, assim como das oportunidades e ameaças ao bom funcionamento da atividade farmacêutica.

Análise SWOT

A análise SWOT é um método que permite uma apreciação da estrutura empresarial a nível externo e interno. As oportunidades e ameaças integram o nível externo, definindo pontos a melhorar ou que estejam a dificultar o bom funcionamento da farmácia. Estes fatores são independentes da empresa. Os pontos fortes e os pontos fracos, integrantes do nível interno, podem-se refletir em vantagens ou desvantagens face aos concorrentes. [1] Deste modo, a análise aqui apresentada é baseada na minha experiência e opinião enquanto estagiária na Farmácia Santa Isabel.

Pontos Fortes

1. Diversidade de medicamentos de uso veterinário

A FSI é das mais requisitadas, no concelho de Coimbra, a nível de medicamentos e preparações de uso veterinário. Diariamente, surgem utentes a solicitar os mais variados medicamentos para animais de companhia, animais de grande porte, como vacas e cavalos, assim como, para todo o tipo de aves. Os medicamentos mais solicitados são os desparasitantes internos e externos para cão e gato. Devido a esta necessidade, a farmácia apresenta um sortido de produtos de considerável largura e profundidade. Esta característica reflete-se numa oportunidade de fidelização de clientes, pois o utente quando se dirige à farmácia pretende adquirir o produto no momento. Além disso, a larga experiência na dispensa de medicamentos desta classe, permite à equipa técnica aconselhar os utentes com segurança e eficácia.

2. Preparação de medicamentos manipulados

No piso superior da farmácia, encontra-se o laboratório de preparação de medicamentos manipulados. Atualmente, a prescrição médica deste tipo de medicamentos é reduzida devido à ampla oferta de formulações que a indústria farmacêutica dispõe no mercado. Ainda assim, é preparado em média 1 medicamento manipulado por semana na Farmácia Santa Isabel.

A prescrição e a preparação de medicamentos manipulados são reguladas pelo Decreto-Lei n.º 95/2004, de 22 de abril. [2] Habitualmente, o médico prescreve uma fórmula magistral que se destina a um doente específico, e cabe ao farmacêutico prepará-la segundo a receita médica. A qualidade da preparação é da responsabilidade do farmacêutico, portanto, é fundamental cumprir as boas práticas de preparação de manipulados que constam na Portaria n.º 594/2004, de 2 de junho. [3]

O laboratório da Farmácia Santa Isabel está devidamente equipado com material essencial para a preparação de medicamentos manipulados. A zona de armazenamento das matérias-primas reúne as condições de conservação, de temperatura e humidade, necessárias para garantir a qualidade dos materiais. A zona de manipulação apresenta uma superfície lisa, de fácil limpeza, boa iluminação e ventilação, portanto, o risco de contaminação da preparação é reduzido. As fichas de preparação dos manipulados encontram-se arquivadas num *dossier* na farmácia, assim como, o registo das matérias-primas e material de acondicionamento utilizados. O protocolo de preparação dos medicamentos manipulados está descrito no Formulário Galénico Português. Ocasionalmente, o protocolo necessário não está presente neste documento, então recorre-se ao Laboratório de Estudos Farmacêuticos, que prontamente, o disponibiliza. Além de fornecer os protocolos, o LEF esclarece todas as dúvidas que o farmacêutico possa ter acerca da preparação e indicação de medicamentos manipulados.

A Portaria n.º 769/2004 de 1 de julho, estabelece a fórmula de cálculo do preço de venda de medicamentos manipulados, tendo em conta, o valor dos honorários de preparação e o custo de aquisição das matérias-primas e do material de acondicionamento. A soma resultante é multiplicada por 1,3 e acrescido o valor do IVA, neste caso a 6%. [4]

Ao longo do estágio curricular, tive oportunidade de preparar diversos medicamentos, dos quais destaco a manipulação de pomadas de vaselina salicilada. Esta experiência permitiu-me lembrar e consolidar os conhecimentos adquiridos na unidade curricular de Farmácia Galénica, que devido ao facto de ser lecionada no 2º ano do mestrado integrado, senti necessidade de recordar os seus conteúdos programáticos.

3. Serviços farmacêuticos

A determinação de parâmetros bioquímicos é um serviço de elevada importância que a farmácia presta à sua comunidade. A quantidade de utentes que tomam medicamentos antidiabéticos, antihipertensores e hipocolesterolemiantes é relativamente elevada, por conseguinte, é essencial efetuar um controlo frequente dos valores de glicémia, colesterolémia e tensão arterial, de modo, a averiguar a eficácia do tratamento, e se necessário, encaminhar o utente a uma consulta médica. Para além disso, a Farmácia Santa Isabel é uma unidade de apoio ao hipertenso, projeto que pretende avaliar a tensão arterial dos utentes em contexto não hospitalar, de forma a retirar a influência da consulta e do ambiente no valor registado.

4. Organização do espaço

O Decreto-Lei n.º 307/2007, de 31 de agosto estabelece o regime jurídico das farmácias de oficina. [5] As divisões de existência obrigatória numa farmácia estão descritas neste documento, sendo as quais, a sala de atendimento ao público, o armazém, o laboratório, as instalações sanitárias e o gabinete de atendimento personalizado. A organização e disposição do mobiliário tem por base os artigos constantes no mesmo decreto.

A sala de atendimento é um espaço amplo que dispõe de 3 balcões. Por trás destes, estão situados os lineares, nos quais a disposição dos medicamentos, é feita de acordo com o grupo farmacoterapêutico a que pertencem. A organização deste espaço depende ainda da sazonalidade de certos produtos, como, por exemplo, os protetores solares, que se localizam numa zona de maior destaque na época de verão. As vendas cruzadas são potenciadas, colocando produtos que podem ser associados em local próximo. Na área de atendimento encontra-se também uma zona de descanso de grande utilidade, devido ao facto de alguns utentes possuírem problemas de mobilidade, e assim, podem aguardar sentados pela sua vez. Para distrair os mais novos, a farmácia tem uma zona de entretenimento infantil, com alguns brinquedos e desenhos para colorir, permitindo aos pais trazer os seus filhos e ter um diálogo tranquilo enquanto são atendidos.

Todos os medicamentos que não são de venda livre, encontram-se arrumados em gavetas, fora do alcance e da visibilidade dos utentes. As gavetas estão organizadas por formas farmacêuticas, e dentro de cada forma, por ordem alfabética de acordo com a DCI e a marca.

5. Dispensa de medicamentos a instituição de cariz social

A Casa de Formação Cristã Rainha Santa é uma casa de acolhimento de crianças e jovens do sexo feminino, que tem como objetivo proteger as jovens que se encontram em risco de exclusão social, que sofreram maus tratos físicos ou psicológicos, dando-lhes acesso a formação académica e condições de habitação. A Farmácia Santa Isabel faz o acompanhamento da medicação das residentes, e como tal, a dispensa dos medicamentos para esta Casa foi uma das primeiras atividades que realizei. Considero que esta tarefa foi uma mais-valia pois permitiu-me explorar os atalhos e ferramentas do Sifarma 2000[®], antes de iniciar o atendimento ao público propriamente dito.

Pontos Fracos

1. Carga horária excessiva

O plano curricular do MICF estabelece 670 horas obrigatórias de estágio em farmácia comunitária para quem realiza 2 estágios diferentes, e já efetuou, previamente, um estágio de verão. No entanto, o período de tempo estipulado pela faculdade para cumprir estas horas não é suficiente, de modo que, os estudantes têm de realizar horas extra, inclusive ao sábado. Em consequência disso, o tempo despendido a redigir a monografia e os relatórios de estágio é significativamente reduzido, o que pode colocar em causa a qualidade do trabalho.

2. Dificuldade no atendimento ao público

O atendimento ao público, inicialmente, foi uma tarefa complicada, pelo facto de ser estagiária, pois alguns utentes mais reticentes preferiam aguardar e ser atendidos por um colega farmacêutico. Além disso, a falta de confiança e conhecimento em técnicas de comunicação e de venda também dificultaram esta tarefa. Todavia, com o decorrer do período de estágio considero que melhorei as minhas capacidades comunicativas.

3. Receituário

Hoje em dia, a prescrição médica mais comum é a receita eletrónica sem papel. Neste documento pode ler-se, explicitamente, a indicação do medicamento por DCI com descrição do tamanho da embalagem. Eventualmente, encontra-se especificado o medicamento de marca, sendo que, neste caso, é possível trocar pelo medicamento genérico desde que este seja mais barato ou não esteja assinalada alguma das exceções constantes no ponto 3 do artigo 6º da Portaria n.º 137-A/2012, na qual estão definidas as condições de dispensa de medicamentos. [6] Contudo, as receitas manuais continuam a ser prescritas com relativa frequência, sendo vários os critérios que este tipo de receita tem de cumprir de modo a ser aceite como válida. De entre os vários destaque, a presença da vinheta do prescritor, a indicação do regime de comparticipação, o preenchimento do número de beneficiário do utente e a demarcação da exceção. No final de cada mês, as receitas manuais são agrupadas em lotes de 30 unidades, de acordo com o organismo ou subsistema de comparticipação. Os respetivos verbetes e resumos de lotes são anexados e enviados para a ARS, caso a entidade de comparticipação seja o SNS. As receitas referentes aos restantes organismos de comparticipação são enviadas para a ANF. Após verificação pelas entidades do cumprimento de todos os critérios de prescrição e dispensa do receituário, o valor da comparticipação é creditado à farmácia. Toda esta conjuntura implica que o farmacêutico despenda parte do seu dia a verificar que todos os parâmetros são cumpridos, em detrimento de outras atividades

de considerável importância. Por oposição, nas receitas eletrónicas sem papel, os dados são enviados automaticamente pelo sistema informático, o que simplifica significativamente esta tarefa.

Oportunidades

1. Formações complementares

Durante o período de estágio tive oportunidade de participar em várias formações prestadas na farmácia por Delegados de Informação Médica e em horário pós-laboral promovidas por distintas indústrias farmacêuticas. As formações em contexto laboral têm como objetivo promover junto da equipa técnica os novos produtos da marca representada, estimular a sua venda e explicitar o modo de ação, a posologia ou as contra-indicações do medicamento. Por sua vez, as formações em horário pós-laboral apresentam um carácter mais informativo e complexo, com resolução de casos práticos. Ao longo dos 4 meses de estágio participei em diversas formações, das quais destaco como mais importante, devido ao facto da FSI ser uma referência no que concerne a saúde animal, uma formação levada a cabo pela Global Vet, empresa distribuidora de medicamentos de uso veterinário, na qual estavam presentes equipas de diversas farmácias do concelho de Coimbra. O formador propôs aos vários grupos a resolução de casos práticos acerca de desparasitação de porcos-da-índia, suplementação de pombos-correio de competição, tratamento de coriza em gatos, entre outros. Assim sendo, considero que as ações de formação são essenciais para o farmacêutico renovar e manter atualizado o seu conhecimento técnico-científico.

2. Dispensa individualizada de medicação

O envelhecimento populacional em Portugal tem vindo a acentuar-se nos últimos anos. A comunidade de utentes da FSI tem na sua maioria uma idade superior a 65 anos. O envelhecimento progressivo está associado a um maior risco de desenvolvimento de doenças crónicas, e consequentemente, surge a necessidade de tratamento destas complicações. A polimedicação consiste no uso simultâneo de diferentes medicamentos pelo mesmo indivíduo num período de tempo superior a 3 meses. Os autores divergem de opinião quanto ao número de fármacos tomados simultaneamente por um indivíduo para classificar a polimedicação. Um deles considera duas categorias, a polimedicação minor que consiste no tratamento com 2 a 4 fármacos em simultâneo e a polimedicação major quando o tratamento envolve a toma concomitante de 5 ou mais fármacos. [7] Um único doente pode tomar cerca de 7 ou 8 comprimidos diferentes por dia, sendo que cada um deles, tem uma hora específica de toma, o que dificulta ainda mais esta tarefa. Para além disso, muitos utentes vivem sozinhos e sem o

apoio de um familiar que possa garantir a correta utilização dos medicamentos. Posto isto, a preparação individualizada da medicação surge como uma oportunidade de crescimento para a FSI. No mercado estão disponíveis diversos sistemas que permitem o acondicionamento dos comprimidos e cápsulas. Todos eles têm a indicação dos dias da semana e do horário ou da refeição a que devem ser tomados. O farmacêutico é responsável pela preparação deste dispositivo, colocando em cada compartimento os fármacos, de acordo com a prescrição médica. A aplicação deste serviço apresenta como vantagens para a farmácia, uma nova fonte de rendimento pela prestação de um serviço cobrado, a fidelização de utentes e a possibilidade de cooperação com lares de idosos, uma vez que nestes estabelecimentos são os cuidadores que fornecem a medicação aos utentes, e assim, garante-se a dispensa dos medicamentos à pessoa certa. Quanto aos utentes, este dispositivo possibilita a toma do medicamento correto à hora certa, promovendo o uso racional do medicamento, além de diminuir o risco de esquecimento da toma de medicamentos e o equívoco entre fármacos de apresentação semelhante.

Ameaças

I. Medicamentos esgotados e rateados

No decorrer do meu estágio pude constatar que a falta de medicamentos nas farmácias é constante, o que é deveras preocupante. Na tentativa de obter alguma resposta por parte dos laboratórios, contactei diretamente as indústrias farmacêuticas responsáveis pela produção dos medicamentos em causa, no entanto, não me apresentavam respostas claras, sendo que, nem sempre foi possível esclarecer os utentes e encontrar uma alternativa. Com o intuito de combater a rutura de *stocks* de medicamentos foi criada a encomenda instantânea por “Via Verde”. Este sistema consiste na garantia do fornecimento de medicamentos quando apresentada a receita médica do utente. Todavia, este meio apenas permite a encomenda de duas unidades de cada produto, ou seja, o medicamento está rateado. O rateio tem como finalidade garantir o acesso aos medicamentos a todas as farmácias, definindo um número máximo de unidades possíveis de encomendar. No entanto, este sistema de encomenda direta apenas está disponível para alguns medicamentos, permanecendo a maioria sem alternativa em caso de rutura de *stocks*. Na impossibilidade de solucionar a situação, o utente pode colocar em risco a sua saúde e bem-estar. No ano de celebração do 40º aniversário do SNS, a ANF promoveu uma petição pública junto da Assembleia Portuguesa com o intuito de melhorar o acesso aos medicamentos a toda a população e alertar para o risco de encerramento de cerca de 25% da rede de farmácias. Além destes pontos, a petição contempla um conjunto de propostas para garantir a sobrevivência das farmácias e combater as falhas de medicamentos.

No ano de 2018 faltaram aproximadamente 64 milhões de embalagens de medicamentos, o que representa um impacto considerável na saúde dos portugueses. É urgente combater esta situação, portanto, congratulo a ANF pela iniciativa para realizar uma petição que defenda os nossos bens mais básicos, como é o acesso à saúde.

2. Recolha voluntária de medicamentos

O INFARMED, autoridade nacional do medicamento em Portugal, publica, regularmente, circulares informativas nas quais determina a suspensão da comercialização de lotes de medicamentos que não cumprem as conformidades. Aquando da receção deste alerta, as farmácias devem proceder à devolução do medicamento referido, ao armazenista ao qual foi adquirido. A partir do momento em que este documento é publicado, a dispensa do medicamento citado está proibida. Os doentes que estejam a tomar o medicamento em causa, devem ser informados acerca da circular e proceder à substituição da embalagem por uma de diferente lote ou laboratório. Embora, aparentemente, seja uma situação de fácil resolução, nem sempre estão disponíveis alternativas para o medicamento em causa. Em julho de 2018 foi publicada uma circular que solicitou a recolha de todos os medicamentos contendo a substância ativa, valsartan, fabricada numa empresa de origem chinesa. Consultando a informação disponível em anexo na Circular Informativa Aditamento à Circular n.º 097/CD/550.20.001 [8], verifica-se que praticamente todos os medicamentos genéricos comercializados no nosso país foram recolhidos, sendo a única alternativa disponível o medicamento de marca. O acesso ao medicamento dos utentes que tomavam esta substância ativa, e suas associações, ficou extremamente condicionado, não só devido ao *stock* existente do medicamento original não ser suficiente para cobrir as necessidades a nível nacional, mas também, devido ao custo acrescido associado. Toda esta situação condiciona a saúde do utente e acarreta gastos adicionais ao SNS, pois os médicos são obrigados a alterar a prescrição dos doentes, o que implica um maior número de consultas nos centros de saúde. Decorrido quase 1 ano desde a data de publicação da circular, ainda se verifica alguma dificuldade em adquirir medicamentos genéricos que contenham na sua composição este agente anti-hipertensor.

Conclusão

Antes de iniciar o meu estágio na FSI, tinha a percepção de que o farmacêutico já não ocupava um lugar tão importante como outrora, mas rapidamente descobri o valor da nossa palavra. A procura pelo aconselhamento é contínua e bastante valorizada pelos utentes, por isso, é fundamental a permanente atualização técnica e científica, de modo a acompanhar e poder solucionar as necessidades de cada um.

O estágio curricular integrado numa equipa técnica multidisciplinar permite aos alunos colocar em prática os conhecimentos adquiridos ao longo do seu percurso académico. Este é o primeiro contacto com a profissão para grande parte deles. Contudo, um pouco tardio, pois defendo a realização de estágios extracurriculares ao longo do ciclo de estudos. O contacto com o mercado de trabalho prepara-nos para as adversidades que iremos encontrar, portanto, creio que quanto mais frequente for essa experiência, mais versáteis nós seremos. O acompanhamento diário prestado pelos colaboradores da FSI foi essencial para o sucesso do meu estágio. Agradeço todo o apoio e disponibilidade para o esclarecimento de dúvidas e partilha de conhecimento que para sempre farão parte da minha vida profissional.

As farmácias portuguesas atravessam um período negro na sua história. Uma em cada quatro farmácias está em risco de encerramento. Cada um de nós tem um papel fundamental na luta pela qualidade do sistema nacional de saúde, sendo que o farmacêutico ocupa um lugar de destaque. Somos agentes de saúde pública e devemos encarar as ameaças à nossa profissão, como oportunidades de crescimento e melhoria.

Finalizo o presente relatório enaltecendo os pontos positivos do meu percurso na Farmácia Santa Isabel. A experiência vivida enriqueceu-me tanto a nível profissional como pessoal. Graças aos valores que me foram incutidos serei uma melhor profissional, ou pelo menos tentarei, porque aprendi que a persistência e dedicação levam a bons resultados e com determinação tudo podemos alcançar.

Referências Bibliográficas

1. Value Based Management. SWOT Analysis. 2014 [Consultado a: 14-01-2019] Disponível em: http://www.valuebasedmanagement.net/methods_swot_analysis.html
2. Decreto-Lei n.º 95/2004 de 22 de abril. *Diário da República n.º 95/2004, Série I-A de 2004-04-22*
3. Portaria n.º 594/2004 de 2 de junho. *Diário da República n.º 129/2004, Série I-B de 2004-06-02*
4. Portaria n.º 769/2004 de 1 de julho. *Diário da República n.º 153/2004, Série I-B de 2004-07-01*
5. Decreto-Lei n.º 307/2007 de 31 de agosto. *Diário da República n.º 168/2007, Série I de 2007-08-31*
6. Portaria n.º 137-A/2012, de 11 de maio. *Diário da República n.º 92/2012, 1º Suplemento, Série I de 2012-05-11*
7. SILVA, P., LUÍS, S., BISCAIA, A. Polimedicação: um estudo de prevalência nos Centros de Saúde do Lumiar e de Queluz. *Rev Port Clin Geral* **20**, 323-36 (2004).
8. INFARMED. Circular informativa - Aditamento à Circular n.º 097/CD/550.20.001, de 12 de Julho. 2018 Disponível em:
<http://www.infarmed.pt/documents/15786/2409555/Aditamento+%C3%A0s+circulares+informativas+096+e+097++Recolha+de+lotes+de+medicamentos+contendo+Valsartan/f65abb3f-d95e-44f7-bf54-cbb0ea88642d>

Parte II

Relatório de Estágio em Indústria Farmacêutica

Abreviaturas

AIM – Autorização de Introdução no Mercado

CATS – Comissão de Avaliação de Tecnologias de Saúde

CFT – Comissão de Farmácia e Terapêutica

DIM – Delegado de Informação Médica

INFARMED – Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde I.P.

IVA – Imposto sobre o Valor Acrescentado

PVA – Preço de Venda ao Armazenista

PVP – Preço de Venda ao Público

RAM – Reação Adversa Medicamentosa

SIATS – Sistema de Informação para Avaliação das Tecnologias em Saúde

SiNATS – Sistema Nacional de Avaliação de Tecnologias em Saúde

SWOT – *Strengths, Weaknesses, Opportunities and Threats*

VTA – Valor Terapêutico Acrescentado

Introdução

O presente relatório foi elaborado no âmbito do estágio curricular em indústria farmacêutica, componente de avaliação pertencente ao plano de estudos do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra.

O estágio curricular em indústria farmacêutica é uma excelente oportunidade para adquirir novos conhecimentos, uma vez que permite o contacto com um setor profissional de elevada complexidade e abrangência.

No período compreendido entre maio e agosto do corrente ano, realizei estágio no departamento de Market Access and Governmental Affairs da Merck S.A., empresa sediada na Alameda Fernão Lopes em Miraflores – Algés, sob a orientação do Dr. Nuno Silvério e da Dra. Andreia Mouro Fonseca.

O relatório elaborado no formato de análise SWOT, reflete a minha experiência enquanto estagiária na Merck. O modo como se elabora uma análise SWOT está descrito na Parte I – Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária, pelo que serão seguidas as mesmas normas para a redação do presente documento.

Merck Group

A Merck é a empresa farmacêutica e química mais antiga do mundo, tendo celebrado o seu 350º aniversário no passado ano de 2018. Tudo começou em 1668, quando Friedrich Merck recebeu do tribunal uma licença para gerir uma farmácia, a Farmácia do Anjo. A produção de matérias-primas para medicamentos iniciar-se-ia apenas em 1827 pelas mãos de Heinrich Emanuel Merck. No início do século XX a empresa já se tinha expandido até aos Estados Unidos da América e um pouco por toda a Europa, produzindo mais de 10 000 compostos químicos e medicamentos. Em 1934 estabeleu-se em Portugal. Atualmente na 13ª geração, a família Merck continua a ser a detentora maioritária da empresa. A Merck Group atua em 3 áreas distintas: *Healthcare*, *Life Science* e *Performance Materials*. No campo dos cuidados de saúde está presente nas áreas de Cardiologia, Endocrinologia, Fertilidade, Imunologia, Neurologia e Oncologia. [1]

Em Portugal, a Merck S.A. é o representante local do grupo, sendo o Titular de Autorização de Introdução no Mercado de uma grande parte dos medicamentos do grupo comercializados no nosso país. Na Europa, os fabricantes localizam-se em Aubonne (Suíça), Barcelona (Espanha), Bari (Itália), Semoy (França) e Darmstadt (Alemanha) que é onde está localizada a sede do grupo Merck.

Enquadramento da área de Market Access

O Market Access é um setor relativamente recente na indústria farmacêutica, surge da necessidade da avaliação farmaco-económica em saúde associada ao acesso dos doentes aos medicamentos. A sua fase de atuação inicia-se, geralmente, quando um medicamento atinge a fase III de desenvolvimento clínico. Os ensaios pré-clínicos e clínicos permitem a investigação e a avaliação de novas moléculas que vão conduzir à aprovação de medicamentos de qualidade, seguros e eficazes. Alcançada a terceira fase do processo, para além dos ensaios clínicos realizados em doentes que permitem a comparação com os tratamentos padrão utilizados para a patologia em estudo, inicia-se o processo de avaliação da tecnologia em causa que decorre, normalmente, após a aprovação da AIM do medicamento.

A 1 de junho de 2015, entrou em vigor o Decreto-Lei n.º 97/2015 [2] que procedeu à criação do SiNATS (Sistema Nacional de Avaliação de Tecnologias em Saúde). A avaliação efetuada por este sistema engloba todo o tipo de tecnologias em saúde, desde dispositivos médicos a medicamentos, compreendendo a avaliação técnica, a avaliação de diagnóstico e/ou terapêutica e a avaliação económica. De entre os vários objetivos do SiNATS destaca-se a potenciação da qualidade de vida dos cidadãos, a redução do desperdício e da ineficiência e o

igual acesso às tecnologias. O INFARMED dispõe de uma plataforma eletrónica denominada SIATS (Sistema de Informação para Avaliação das Tecnologias em Saúde) que permite a submissão e a consulta de toda a informação necessária para a avaliação das tecnologias. Os pedidos de Comparticipação e Avaliação Prévia Hospitalar são processos cujo objetivo é a obtenção de financiamento por parte do Estado. A comparticipação corresponde ao apoio prestado pelo Estado na aquisição de medicamentos em farmácia comunitária. Enquanto que, a avaliação prévia hospitalar determina as condições de utilização dos medicamentos, permitindo o apoio e a disponibilização dos mesmos em hospitais do Serviço Nacional de Saúde. [2] Em caso de avaliação favorável, celebra-se um contrato entre o Titular de AIM ou o seu representante legal e o INFARMED no qual estão contempladas as condições de financiamento do medicamento. Findado este processo, segue-se a decisão de adoção a nível hospitalar que é tomada pelas Comissões de Farmácia e Terapêutica (CFT) dos hospitais. A CFT é responsável por propor orientações terapêuticas respeitantes ao uso dos medicamentos, suportadas por evidência científica respeitante ao valor terapêutico e económico dos medicamentos. A Comissão tem poder de decisão independente, podendo não recomendar a aquisição dos medicamentos deferidos pela Autoridade Nacional. A avaliação económica pode realizar-se posteriormente à comercialização do medicamento, aquando da reavaliação do contrato estabelecido entre o INFARMED e o detentor de AIM após deferimento da avaliação prévia. O valor dos medicamentos é determinado por estudos de avaliação económica que permitem gerir eficientemente o financiamento dos medicamentos num ambiente de escassez e baixa disponibilidade de recursos. [3] Outra das áreas de intervenção do Market Access é a aprovação dos preços dos medicamentos.

No Capítulo II do referido Decreto-Lei estão contemplados os critérios de determinação do preço de venda ao público dos medicamentos de uso humano. O PVP (preço de venda ao público) dos medicamentos é constituído pelo PVA (preço de venda ao armazenista), margem de comercialização do armazém de distribuição, margem de comercialização da farmácia, taxa sobre a comercialização de medicamentos e IVA (imposto sobre o valor acrescentado). O regime de formação de preços tem por base um sistema de referenciação internacional. A determinação do preço é efetuada através de uma comparação com os preços dos medicamentos nos países de referência em vigor em Portugal na altura da aprovação de preço. É da responsabilidade do Governo definir anualmente quais os países de referência para a determinação do PVP e tornar essa informação pública até ao dia 15 de novembro. O medicamento comparado deve ser o mesmo, ou caso não exista, deve ser o mais semelhante possível. No *website* do INFARMED estão disponíveis os formulários de

cálculo em *template* Excel® nos quais é possível inserir os valores dos PVA praticados nos países de referência, obtendo-se o valor do PVA e o correspondente PVP a praticar no nosso país. Aquando da submissão do pedido de preço, o valor estabelecido refere-se ao preço máximo fixado, sendo que o Titular de AIM pode efetuar baixas voluntárias de preço subsequentes, que por sua vez podem ser revertidas, contudo não pode ser solicitado um aumento de preço para um valor superior ao preço máximo estabelecido. Os preços máximos fixados para os medicamentos não genéricos são alvo de revisão anual, com exceção daqueles cujo PVP seja igual ou inferior a 5 euros.

O Capítulo III do Decreto-Lei discute a comparticipação das tecnologias de saúde, como se estabelece a comparticipação no preço dos medicamentos, quais as condições para a comparticipação e critérios de exclusão. Refere ainda quais são as obrigações dos Titulares de AIM para com a Autoridade do medicamento, relativamente ao início, suspensão e cessação de comercialização de um medicamento comparticipado. [2]

A Deliberação n.º 662/2016, de 13 de abril, [4] estabelece o regulamento da CATS (Comissão de Avaliação de Tecnologias de Saúde), órgão consultivo do INFARMED responsável pela elaboração de pareceres e recomendações relativos ao valor terapêutico acrescentado (VTA) e aos estudos de avaliação económica referentes à tecnologia em estudo.

O departamento de Market Access é ainda responsável pela previsão da influência de uma baixa de preço face ao surgimento quer de medicamentos concorrentes, quer de medicamentos genéricos ou de biológicos similares quando se dá a perda de patente do medicamento. A Diretiva (UE) 2015/2436 [5] do Parlamento Europeu e do Conselho de 16 de dezembro de 2015 estabelece o regime jurídico de registo num Estado-Membro de uma marca, a qual se aplica também ao mercado farmacêutico. Na União Europeia, o período de vigência de um regime de proteção de identidade é de 20 anos a contar da data de pedido do registo. As etapas de desenvolvimento pré-clínico e clínico de um medicamento duram habitualmente entre 10 e 12 anos, portanto, metade do período de vigência da patente está esgotado antes do medicamento estar disponível no mercado. Assim sendo, o Titular de AIM tem exclusividade de mercado durante cerca de 10 anos, podendo acrescentar 1 ano caso obtenha aprovação para uma nova indicação e ainda mais 6 meses se submeter estudos de utilização do medicamento em populações pediátricas. Decorridos 8 anos após a concessão de AIM, o Titular perde a exclusividade de dados, podendo ser submetidos *dossiers* de medicamentos genéricos nesta fase. Todavia, o medicamento genérico apenas pode ser comercializado passados 10 anos da introdução do medicamento de referência.

Pontos Fortes

1. Estágio em Market Access

No decorrer do período de estágio foi-me proposto desenvolver as mais variadas atividades desde o cálculo do preço de medicamentos com base no sistema de referência internacional, pesquisa bibliográfica sobre a possibilidade de tratamento de doentes com esclerose múltipla durante a gravidez com interferão beta 1a, pesquisa bibliográfica incidente nos efeitos adversos desencadeados por cetuximab com o objetivo de calcular o impacto económico associado ao tratamento destes eventos em doentes com cancro colorretal metastático, projeção económica do surgimento de biossimilares de cetuximab tendo por base o sucedido aquando da comercialização dos biossimilares de um medicamento da área de oncologia, o trastuzumab, colaboração na elaboração das estimativas de preço para 2020 de todo o portefólio, acompanhamento do processo de pedido de preço ao INFARMED de uma solução injetável de somatropina e revisão de documentos bibliográficos relativos a comprimidos de cladribina para apresentação nas farmácias hospitalares. Todas estas tarefas foram realizadas sob a alçada da Dra. Andreia Mouro Fonseca, que me orientou na obtenção dos melhores resultados, partilhando o seu conhecimento e me instituiu as competências necessárias para desenvolver com sucesso as atividades propostas.

2. Acompanhamento inter-departamental

Apesar do estágio estar inserido na área de Market Access, a minha experiência não se cingiu simplesmente a esse setor. Desde o primeiro dia que integrei a empresa, que os responsáveis dos vários departamentos demonstraram interesse em partilhar a sua atividade diária. Para além das formações de carácter obrigatório para todos os colaboradores, como as formações de Farmacovigilância e Notificação de RAM's, Segurança da Informação, Sistemas de Qualidade e Reclamações Técnicas, recebi formação sobre a área regulamentar e materias promocionais, tendo oportunidade de participar no processo de revisão dos folhetos informativos das várias dosagens dos medicamentos Eutirox[®] e Concor[®].

3. Lançamento de um medicamento no mercado ambulatorio

Na ocasião do meu estágio decorreu a preparação do processo de lançamento do medicamento Saizen[®] (somatropina, também conhecida por hormona do crescimento) no mercado ambulatorio. Até ao presente este medicamento apenas se encontrava disponível no mercado hospitalar, o que dificultava o acesso aos doentes estrangeiros e àqueles que por algum motivo seriam obrigados a interromper a terapêutica. Ao longo do encadeamento pude acompanhar de perto a submissão de pedido de preço ao INFARMED para comercialização

nas farmácias e observar as atividades abrangidas pelo lançamento de um medicamento num novo canal.

Pontos Fracos

1. Duração do estágio

Considero que 3 meses de estágio é um período escasso para permitir uma experiência completa, contudo alargar esse prazo não é aconselhável pois atrasaria todo o processo de elaboração da monografia e da sua apresentação. A área do Market Access é recente e o meu contacto prévio com este setor era nulo. Apesar do bom aproveitamento do período de estágio, não foi possível aprofundar muitos conceitos e funções desempenhadas por este departamento.

2. Plano curricular do MICF

Em todo o ciclo de estudos do Mestrado Integrado em Ciência Farmacêuticas, apenas a unidade curricular de Comunicação e Marketing aborda muito superficialmente a área do Market Access. Sendo um setor em evidente expansão e de grande interesse para a sociedade em geral e os farmacêuticos em particular, seria de interesse aprofundar esta temática, preparando os alunos para as mais diversas oportunidades profissionais.

Oportunidades

1. Contacto com o setor empresarial

A possibilidade de efetuar um estágio em indústria farmacêutica é uma oportunidade que se reflete numa vantagem competitiva frente aos futuros colegas das restantes faculdades do país. A Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra é a única instituição em Portugal que permite aos alunos do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas realizar estágio curricular neste setor do mercado farmacêutico. O contacto com a indústria farmacêutica capacita os alunos com competências que não são possíveis de adquirir no ciclo de estudos, colmatando esta falha de forma bastante eficaz em contexto prático.

2. Visitas de campo com delegados de informação médica

Durante 2 dias tive a possibilidade de acompanhar delegados de informação médica (DIM) do departamento de *Cardiovascular and Metabolic Care*. Esta experiência permitiu-me contactar com uma realidade presente no dia-a-dia de um farmacêutico de farmácia de oficina numa outra perspetiva. No primeiro dia acompanhei a visita a 3 farmácias distintas, tendo o DIM estabelecido o contacto com o diretor técnico da farmácia ou com o responsável

comercial. A encomenda direta de medicamentos de uma farmácia à indústria é efetuada através de um *software* específico, sendo um processo relativamente simples. Para além disso, tive a oportunidade de me deslocar à Unidade de Saúde Familiar de Odivelas e ao Instituto Português de Oncologia de Lisboa para a visita de médicos especialistas em Medicina Geral e Familiar e Endocrinologia, respetivamente. No segundo dia, acompanhei a visita de médicos do Serviço de Cardiologia do Hospital de Santa Marta e a visita ao Diretor Clínico do Hospital das Forças Armadas do Polo de Lisboa. O objetivo destas visitas é a passagem rápida e concreta de informação científica acerca dos diferentes medicamentos que a Merck detém nas várias áreas terapêuticas, destacando a sua eficácia, qualidade e segurança, bem como o esclarecimento de eventuais questões apresentadas pelo clínico.

3. Formações extra-empresa

A Merck S.A. e a AESE Business School têm uma parceria, sendo permitido aos colaboradores da empresa assistir a formações desta escola. Entre maio e agosto, participei no Merck Patient Day, atividade de caráter social, que teve como objetivo formar elementos de organizações de cariz social sobre uma gestão eficaz da sua associação. Tive ainda oportunidade de participar numa formação sobre Contratualização Hospitalar, de caráter económico, direcionada a antigos estudantes do programa PADIS (Programa de Alta Direção de Instituições de Saúde). Nesta formação esteve presente o ex-administrador do Centro Hospitalar Universitário Lisboa Norte (CHULN), Dr. Carlos Neves Martins, que partilhou um pouco da sua experiência enquanto CEO desta entidade entre 2013 e 2019.

4. Ações de cariz social

No dia 30 de maio assinala-se o Dia Mundial da Esclerose Múltipla. A Merck conta com 2 medicamentos para o tratamento desta patologia, um interferão beta 1a de administração sub-cutânea e comprimidos de cladribina. Como tal, durante este dia desenvolveram-se diversas atividades com o objetivo de chamar a atenção dos cidadãos portugueses para os sintomas invisíveis da doença. Foi lançada a campanha “Alerta Laranja” cujo objetivo final era a angariação de fundos para as associações de doentes. Ao partilhar uma fotografia com uma peça de roupa desta cor e com um dos *hashtags* da campanha, cada pessoa estava a contribuir para esta causa. Considero que esta atividade me enriqueceu a nível pessoal e me despertou para a importância das associações de doentes e do apoio que elas prestam a todos os envolvidos.

Ameaças

I. Dificuldade em ingressar numa carreira profissional neste setor

A crescente procura por uma oportunidade para desenvolver atividade profissional na indústria farmacêutica, torna este setor cada vez mais competitivo. Atualmente, grande parte dos jovens farmacêuticos pretende exercer atividade noutra área que não a farmácia de oficina. As condições de trabalho são cada vez mais precárias no setor da farmácia comunitária, com horários de funcionamento alargados inclusivé aos fins de semana e feriados, e preferência por técnicos auxiliares de farmácia e técnicos de farmácia em vez de farmacêuticos devido aos baixos salários associados. Por este motivo, há cada vez mais estágios profissionais na indústria farmacêutica que dão oportunidade aos recém-graduados de ter uma experiência neste setor. Contudo, a procura é imensa e são poucos aqueles que conseguem permanecer numa empresa findado o período de estágio.

Conclusão

O meu primeiro contacto com a indústria farmacêutica ocorreu no presente estágio curricular. Este setor ocupa um lugar de destaque no ciclo de vida do medicamento, sendo o ponto de partida do desenvolvimento de todas as tecnologias de saúde. Por este motivo, considero que o estágio curricular em indústria farmacêutica deveria ser de carácter obrigatório pelo lugar de destaque que este ramo ocupa atualmente, não só para os profissionais de saúde, mas também para toda a sociedade em geral. O estágio curricular permite-nos colocar em prática os conhecimentos teóricos adquiridos ao longo do ciclo de estudos e proporciona aos alunos uma perspetiva interna do que é a realidade profissional da indústria farmacêutica.

O Relatório de Primavera de 2019 [6], elaborado pelo Observatório Português dos Sistemas de Saúde subordinado ao tema Saúde Um Direito Humano, enumera os indicadores de saúde do nosso país, dos quais eu destaco o tempo de espera por acesso a inovação terapêutica. Em Portugal, os doentes esperam aproximadamente 1 ano e 9 meses para ter acesso a um medicamento inovador, enquanto que em Espanha os doentes esperam pouco mais de um ano pelo mesmo medicamento. Apesar do SNS assegurar a comparticipação de mais medicamentos do que nos anos anteriores, apenas cerca de 40% dos medicamentos autorizados estão de facto disponíveis para os doentes. É imperativo mudar esta realidade, o acesso é fundamental para garantir o bem-estar e a qualidade de vida dos doentes. Destaco a importância de antecipar possíveis mudanças no ambiente externo de modo a assegurar um contínuo acesso aos medicamentos, garantindo simultaneamente o investimento em novas terapêuticas que promovam uma melhoria da qualidade de vida e dos cuidados de saúde dos doentes. Como agentes de saúde pública está nas nossas mãos defender os interesses daqueles que mais necessitam destes tratamentos e colaborar em equipa para a obtenção dos melhores resultados.

Findo o presente relatório destacando os aspetos positivos da minha experiência na Merck S.A. Ao longo do período de estágio adquiri competências que me enriqueceram tanto a nível profissional como pessoal. Agradeço todo o apoio, disponibilidade e valores que me foram inculcados pelos vários colaboradores da empresa, todos eles, fatores fundamentais para o sucesso do meu estágio. Aqui compreendi que o esforço e a dedicação comandam a vida, sendo que a comunicação inter-pessoal é fundamental para traçar as nossas rotas e chegarmos a bom porto em sintonia. Graças a tudo isto, serei uma melhor profissional pois aprendi que, mantendo o foco e a persistência, o reconhecimento do nosso valor e empenho a seu tempo chegará.

Referências Bibliográficas

1. OLIVEIRA, J.P. *350 anos: Breves História de 350 anos de Sucesso*. Lisboa (2019).
2. Decreto-Lei n.º 97/2015 de 1 de junho. *Diário Da República n.º 105/2015, Série I de 2015-06-01*
3. ALVES, C., MENDES, D. e MARQUES, F. B. O papel da avaliação económica na seleção dos medicamentos. *Boletim do Centro de Informação do Medicamento*. Boletim Janeiro-Março. 2019.
4. Deliberação n.º 662/2016, de 13 de abril. *Diário da República n.º 72/2016, Série II de 2016-04-13*
5. Diretiva (UE) 2015/2436 do Parlamento Europeu e do Conselho de 16 de dezembro de 2015.
6. Observatório Português dos Sistemas de Saúde. *Saúde um direito humano*. Relatório de Primavera 2019.

Parte III

○ Vírus Epstein-Barr e as doenças
linfoproliferativas associadas

Abreviaturas

CAEBV – Chronic Active Epstein-Barr Virus Infection

DLPT – Doenças Linfoproliferativas Pós Transplante

DNA – Ácido Desoxirribonucleico

EA – Early Antigen

EBER – Encoded small RNAs

EBNA – Epstein-Barr Nuclear Antigen

EBV – Vírus Epstein-Barr

ELISA – Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

HIV – Vírus da Imunodeficiência Humana

HRS – Hodgkin and Reed-Sternberg

LCH – Linfoma Clássico de Hodgkin

LDGCB – Linfoma Difuso de Grandes Células B

LDH – Lactato Desidrogenase

LMP – Late Membrane Protein

LPB – Linfoma Plasmablástico

NCI – National Cancer Institute

NK – Natural Killer

NKT – Natural Killer T

OMS – Organização Mundial de Saúde

PCR – Polymerase Chain Reaction

PD-I – Programmed cell death protein I

SAP – SLAM associated protein

SIDA – Síndrome da Imunodeficiência Adquirida

SLAM – Signaling Lymphocytic Activation Molecules

VCA – Viral Capside Antigen

XIAP – X-linked Inhibitor of Apoptosis Protein

XLP – X-linked Lymphoproliferative

Resumo

O vírus Epstein-Barr foi o primeiro vírus humano a ser associado ao desenvolvimento de eventos oncológicos. Globalmente, cerca de 1,8% das mortes de origem neoplásica são devidas a complicações decorrentes da infecção por este herpes vírus. Uma das principais características dos vírus desta família é a capacidade de estabelecerem latência nas células que infetam, podendo por esse motivo ocorrer uma reativação anos após a infecção primária. O sistema imune competente tem a capacidade de combater a infecção, todavia caso se verifique alguma falha num dos mecanismos de regulação, pode-se iniciar a proliferação celular e formação tumoral. O local de origem da neoplasia depende da célula primariamente infetada. As manifestações clínicas são consequentes dos órgãos e tecidos afetados. A nível terapêutico, estão disponíveis diversas opções que variam de acordo com o tipo de linfoma e o seu estadio. Neste trabalho é feito um levantamento dos vários tipos de linfoma e doenças linfoproliferativas associados à infecção pelo vírus Epstein-Barr.

Palavras-chave: Vírus Epstein-Barr; Latência; Proliferação Celular; Linfoma; Tratamento.

Abstract

Epstein-Barr virus was the first human virus associated with the development of oncologic events. Globally, about 1,8% of malignancies deaths are due to complications arising from this herpes virus infection. The main characteristic of this family is the ability to establish latency in the cells, for that reason, it may occur a reactivation years after the primary infection. A competent immune system can combat the infection, although if it verifies a failure in regulatory pathways it may initiate cell proliferation and tumor development. The origin site of the malignancy depends on the cell type primarily infected. Clinical manifestations are consequent of the organs and tissues affected. At a therapeutical level, there are available several options that vary according to the stage and type of lymphoma. This paper is a revision of the several types of lymphoma and linfoproliferative disorders associated with Epstein-Barr virus infection.

Keywords: Epstein-Barr Virus; Latency; Cellular proliferation; Lymphoma; Treatment.

I. Introdução

Na atualidade observa-se um elevado número de casos de cancro em Portugal. A previsão aponta para um aumento da incidência de doenças oncológicas nos próximos 10 anos. [1] A sua etiologia é muito variada, podendo ser associada a fatores de risco, como o estilo de vida e a dieta, hereditariedade, exposição ocupacional a agentes cancerígenos, e ainda, infecções de origem bacteriana ou viral. Globalmente, surgem cerca de 2 milhões de novos casos, por ano, devido a agentes infecciosos. [2]

O vírus Epstein-Barr (EBV) pertence à família herpes vírus e, como tal, é capaz de estabelecer uma infeção assintomática latente no seu portador. [3] Este foi o primeiro oncovírus humano a ser descoberto e descrito. Em 1964, Epstein, Barr e Achong publicaram um artigo, no qual relataram a descoberta de partículas virais em linfoblastos isolados de um doente com linfoma de Burkitt. Anos mais tarde, Werner e Gertrude Henl, conseguiram isolar DNA de EBV em células de uma biópsia de Linfoma de Burkitt e, conseqüentemente, comprovar o potencial oncogénico deste vírus. [4]

Atualmente, estima-se que 1,8% das mortes de origem cancerígena sejam devidas a neoplasias provocadas pelo EBV. A prevalência mundial da infeção, devida a este vírus, ronda os 95%. Apesar de na maioria dos casos ser assintomática, a infeção pode ser reativada a qualquer momento devido a um comprometimento da imunidade do hospedeiro, e, portanto, desencadear um processo tumoral. [2]

Por conseguinte, considero bastante importante realizar uma análise da incidência das doenças linfoproliferativas desencadeadas pela infeção por EBV, pela atualidade do tema e impacto na saúde mundial desta infeção viral.

2. Vírus Epstein-Barr

O vírus Epstein-Barr é um tipo de herpes vírus humano classificado pela International Agency for Research on Cancer como agente carcinogénico do grupo I, ou seja, carcinogénico para os humanos. [5] O seu genoma é constituído por uma cadeia dupla linear de DNA, de 170 kb de comprimento, que codifica mais de 80 genes. [6] A transmissão do vírus ocorre pela saliva, infetando linfócitos B e células epiteliais na cavidade oral. [7]

De seguida, inicia-se o ciclo de vida viral que pode alternar entre a fase lítica e a fase latente. Durante o estado de latência, o genoma do vírus está presente no núcleo das células hospedeiras na forma de epissoma. O plasmídeo de DNA é incorporado nas histonas e expressa proteínas de latência, as únicas traduzidas nesta fase. [6] As proteínas expressas mudam de acordo com o estado em que se encontra o vírus. No estado de latência III, também conhecido por programa de crescimento são expressos antígenos nucleares do EBV (EBNAs), proteínas latentes da membrana (LMPs) e RNA não codificante (EBERs e microRNAs). O estado de latência II é o programa padrão e expressa as mesmas proteínas que o anterior, excetuando os microRNAs. No estado de latência I a expressão de antígenos restringe-se a EBNAs. [7] Por oposição, no ciclo lítico, todos os genes codificados são expressos, de modo a permitir a replicação do genoma viral e a produção de descendência. [8] Apesar de, na maioria dos casos, o EBV se encontrar na fase de latência nas células cancerígenas, o ciclo lítico desempenha uma função essencial no desenvolvimento tumoral, uma vez que a replicação viral potencia a secreção de citocinas e fatores de crescimento, contribuindo para a inflamação e angiogénese local. [6,8]

Nos países em vias de desenvolvimento, a infeção primária por EBV ocorre tipicamente na infância, provocando uma infeção assintomática ou ligeira. Relativamente aos países desenvolvidos, a infeção estabelece-se, frequentemente, na adolescência, sendo que, cerca de 95% dos adultos com 30 anos são seropositivos. [9] Neste caso, aproximadamente, 50% das infeções primárias podem-se manifestar como mononucleose infecciosa. Esta doença caracteriza-se por provocar dor de garganta, febre, fadiga e linfadenopatias. O quadro clínico permanece durante cerca de 2 a 6 semanas. [10] O nome de mononucleose é devido à presença de linfócitos periféricos atípicos, de tamanho superior ao normal. [11]

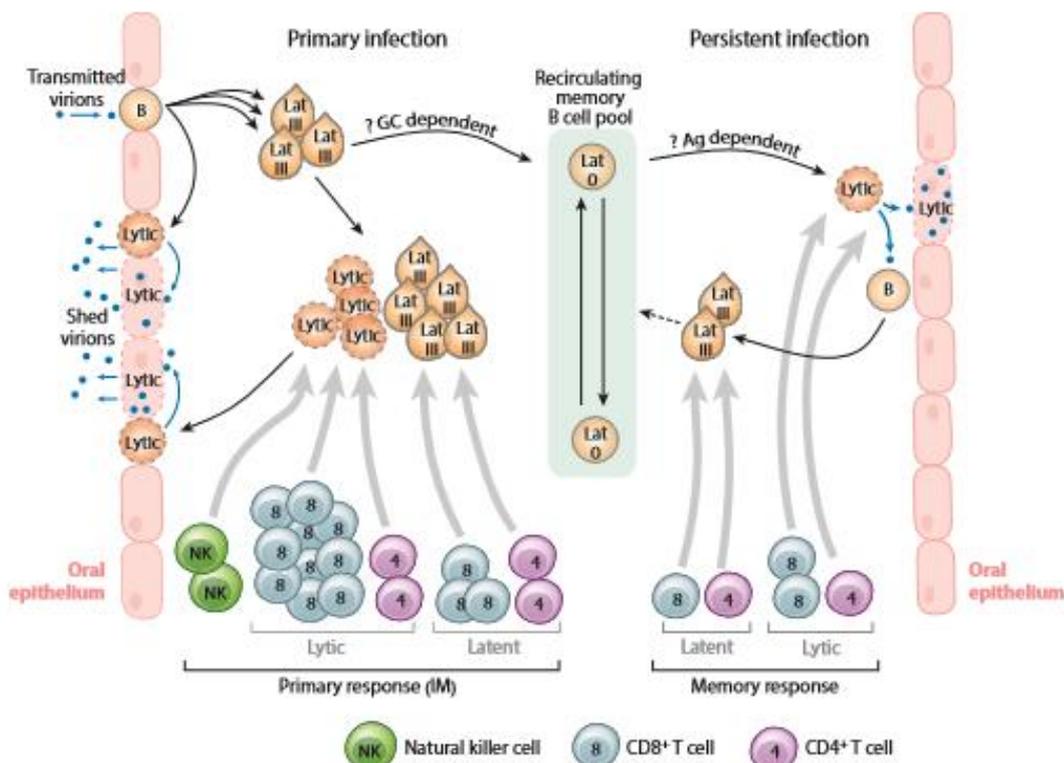


Figura I – Representação do ciclo de vida do vírus Epstein-Barr. (Adaptado de TAYLOR, G. S. et al. [10])

Em geral, as doenças associadas ao EBV originam uma infecção latente, ou seja, o vírus está presente nas células hospedeiras, no entanto, não há produção de partículas virais, logo, o portador não apresenta sintomatologia, e, pode desconhecer a sua condição clínica. [12] Por conseguinte, é fundamental recorrer a meios de diagnóstico que permitam detetar, direta ou indiretamente, a presença do vírus após uma infecção primária.

3. Diagnóstico

A fim de confirmar o diagnóstico clínico de mononucleose infecciosa podem-se efetuar determinações serológicas como ensaios de imunofluorescência, ELISA ou *Western Blot*. No entanto, na suspeita de presença de doença auto-imune ou maligna, além da serologia, é necessário detetar e quantificar o DNA viral. O quadro clínico despoletado pela infecção primária é comum a outras infeções virais como o vírus da imunodeficiência humana (HIV), hepatite B, hepatite C e rubéola. Consequentemente, é fundamental determinar os marcadores serológicos do EBV para um correto diagnóstico. [13]

A infecção por EBV induz a expressão de diversas proteínas de defesa quantificáveis por métodos de imunofluorescência: anticorpos IgG e IgM contra o VCA (antigénio viral da cápside), anticorpos IgG contra o EBNA-I (antigénio nuclear) e anticorpos IgG contra o EA (antigénio precoce). Para além das proteínas referidas, é produzido um anticorpo heterófilo

do tipo IgM não específico. [14] Os antígenos precoces são responsáveis pela síntese de proteínas estruturais, como o VCA e o MA (antígeno da membrana), portanto a concentração de EA na amostra será inferior à concentração de VCA e MA. [13,15] A determinação do anticorpo IgG-EA por imunofluorescência indireta é um teste que necessita de títulos elevados de anticorpo na amostra para revelar um resultado positivo. A produção elevada de anticorpos é característica de casos de infecção aguda, portanto, a detecção do anticorpo IgG-EA por imunofluorescência indireta é um marcador de infecção recente. [15]

Recorrendo à mesma técnica de detecção de anticorpos IgG e IgM, é possível concluir que a presença de anti-VCA IgG e IgM confirmam uma infecção aguda por EBV. Por sua vez, um resultado positivo para anti-VCA IgG e negativo para anti-VCA IgM, indicam uma infecção resolvida ou latente. Todavia, esta determinação apresenta um elevado grau de insegurança associado à detecção das IgM por imunofluorescência. Neste método ambos os anticorpos competem pelos mesmos antígenos, ocorrendo supressão das IgM. Consequentemente, seria necessário remover as IgG da amostra, de modo a avaliar a presença de IgM o mais eficientemente possível. O anti-EBNA-I é um marcador detetável apenas 4 semanas após o aparecimento dos primeiros sintomas. Por essa razão, a sua presença confirma uma infecção primária resolvida. No entanto, nem todos os indivíduos são capazes de formar o anticorpo, e aqueles que o são, podem sofrer perda secundária. [13]

O anticorpo heterófilo é do tipo IgM e caracteriza-se por ter a capacidade de aglutinar eritrócitos, consistindo o teste na observação da referida reação. A efetividade deste método é de aproximadamente 87% em amostras de adolescentes e adultos, contudo, não ultrapassa os 50% caso o teste seja realizado em crianças, sendo por isso, preterido relativamente aos métodos serológicos para pesquisa de anticorpos específicos do EBV. [15]

Apesar da determinação serológica anti-EBV por imunofluorescência ser realizada em condições ótimas, há limitações que não são ultrapassáveis. O desenvolvimento de técnicas de *immunoblot*, nomeadamente *Western blot*, recorrendo a antígenos recombinantes representa um grande avanço tecnológico no diagnóstico de infecções virais. Relativamente à técnica de imunofluorescência indireta, este método revela um resultado mais preciso devido ao facto de utilizar antígenos recombinantes numa concentração elevada, dependendo o resultado do teste unicamente da presença de anticorpos na amostra. [13]

A determinação da carga viral associada à infecção por EBV, é uma avaliação de elevada importância, em doentes transplantados e em imunodeprimidos, pois permite a previsão do

risco de desenvolvimento de neoplasias, a detecção de recidivas e a monitorização da terapêutica de tumores devidos a este agente patogénico. A avaliação é realizada por uma técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR) que possibilita a quantificação do genoma viral presente numa amostra do indivíduo. A amostra a utilizar pode ser qualquer uma das seguintes: soro, plasma, sangue periférico das células mononucleares ou tecido de uma biópsia. [13,15]

4. Oncogénese

A proliferação celular descontrolada é a base de formação de células neoplásicas. A ocorrência de malformações durante o ciclo celular, leva a que as células adquiram características de crescimento descontrolado, ocorrendo hiperproliferação primária e diminuição da taxa de apoptose, o que resulta no processo de oncogénese. [16]

As primeiras células a serem infetadas pelo EBV são as células epiteliais da cavidade oral e as células B *naive*. A infeção resultante provoca a expressão de todas as proteínas do estado de latência tipo III nos linfócitos B. Seguidamente, uma porção destes linfócitos diferencia-se para o estado de latência tipo II nos centros germinativos da orofaringe. A diferenciação celular subsequente é seguida da libertação para a corrente sanguínea de linfócitos B de memória. Aquando da sua passagem pela orofaringe, as células de memória podem ser novamente reativadas, iniciando-se um novo ciclo lítico. [9]

O desenvolvimento tumoral é observado tanto em indivíduos imunocompetentes como em imunodeprimidos, verificando-se a transformação dos vários tipos de linfócitos em células malignas. [6] Os processos patogénicos que desencadeiam esta mutação são os seguintes: a perda de capacidade de vigilância pelo sistema imune, a produção de citocinas e fatores de crescimento induzidos pela infeção por EBV, a expressão de oncogenes, particularmente, de LMP1 e LMP2A, e ainda, a presença de alterações genéticas do portador. A importância de cada um destes mecanismos varia de acordo com o tipo de tumor. [9,10]

O EBV tem sido associado a uma diversidade de neoplasias, linfoma de Burkitt, linfoma de Hodgkin, doenças linfoproliferativas pós transplante (DLPT), linfoma difuso das células B, entre outros. [17] Seguidamente será explorado cada um deles em pormenor.

5. Linfoma de Burkitt

O linfoma de Burkitt é um linfoma das células B raro e muito agressivo. Denis Burkitt descreveu-o pela primeira vez no final dos anos 50 quando observou um grupo de crianças no Uganda que apresentava em comum um tumor na mandíbula. Após vários estudos, o cirurgião britânico verificou que a doença era endêmica na zona da África equatorial e na Papua-Nova Guiné. [18] Desde a descoberta do EBV em 1964, que todos os tumores endêmicos têm sido associados a este vírus. [19] Contudo, nem todos os casos de linfoma de Burkitt são devidos à infecção por EBV. Globalmente, apenas 25% dos indivíduos que desenvolvem a doença estão infetados com o vírus. Por sua vez, cerca de 25-40% da população infetada com HIV pode sofrer este evento oncológico. [18]

Esta neoplasia caracteriza-se pela desregulação do gene *MYC* devido à translocação da região 24 do braço longo do cromossoma 8. [19,20] Em 80% dos eventos, a translocação ocorre para o braço longo do cromossoma 14. Nos restantes casos, verifica-se o envolvimento das cadeias leves dos cromossomas 2 e 22. [19] O gene *MYC* pertence a uma família de oncogenes responsável pela transcrição de fatores essenciais para o cancro. Maioritariamente, ocorre sobreexpressão ou desregulação das proteínas *MYC*, induzindo a formação de tumores por mecanismos que promovem a proliferação celular, o metabolismo e a instabilidade genómica. [21] A translocação do gene *MYC* facilita o diagnóstico da doença. É possível detetar as mutações através de uma técnica de fluorescência de hibridização *in situ*. Este método de diagnóstico utiliza uma sonda que hibridiza a montante e a jusante do gene translocado. Quando ocorre ligação a estas regiões, a sonda separa-se e há emissão de fluorescência. [22]

Clinicamente, as manifestações provocadas pelo linfoma de Burkitt estão dependentes da origem epidemiológica. Nas regiões endêmicas, os doentes para além de desenvolverem tumores na região facial, frequentemente no queixo, podem apresentar envolvimento do íleo, cego, gónadas, rins e mama. O envolvimento facial é raro nos casos esporádicos, sendo a área ileo-cecal a mais afetada. Nos doentes portadores do HIV verifica-se regularmente o comprometimento do íleo, cego, nódulos linfáticos e medula óssea. [18]

Apesar da severidade da doença provocada, o linfoma de Burkitt apresenta uma elevada sensibilidade aos agentes químicos. [22] O tratamento atualmente utilizado foi desenvolvido pelo National Cancer Institute (NCI). O CODOX-M/IVAC é um regime terapêutico constituído por ciclofosfamida, doxorrubicina, vincristina, metotrexato/isofosfamida,

citarabina e etoposido. No ensaio clínico realizado, os doentes foram estratificados de acordo com as características clínicas da sua doença. O grupo de baixo risco era constituído pelos indivíduos portadores de um tumor de dimensão inferior a 10 cm ou que tinham sido submetidos a uma extração completa de um tumor abdominal e apresentavam níveis normais de LDH (lactato desidrogenase). Os restantes pertenciam ao grupo de elevado risco. Ao primeiro grupo foram administrados 3 ciclos de CODOX-M e ao último administraram-se 4 ciclos alternados de CODOX-M e IVAC. Ao final de 2 anos verificou-se que a taxa de sobrevivência sem ocorrência de evento foi de 92% no conjunto dos 2 grupos. [23] O hiper-CVAD é um regime baseado na terapêutica desenvolvida pelo NCI. Este tratamento consiste na administração de ciclofosfamida hiperfracionada, vincristina, doxorrubina e dexametasona alternadamente com metotrexato e citarabina durante 8 ciclos. Neste caso, a taxa de sobrevivência ao final de 3 anos foi de 49%. [18] A adição do anticorpo monoclonal rituximab, a um dos regimes referidos anteriormente, aumenta a eficácia da terapêutica em adultos e crianças, sendo o tratamento padrão. Nos ensaios clínicos referidos por Dunleavy [23] é possível verificar que a taxa de sobrevivência sem ocorrência de evento foi significativamente superior nos grupos submetidos a terapêutica complementada com este agente.

A toxicidade dos tratamentos padrão é consideravelmente elevada em doentes de idade avançada e imunodeprimidos, verificando-se uma taxa de mortalidade superior associada aos tratamentos. [18] Desse modo, é fundamental o desenvolvimento de novas estratégias que apresentem um índice terapêutico e eficácia superiores. O EPOCH-R é um regime de dose ajustada constituído por etoposido, prednisona, vincristina, ciclofosfamida, doxorubicina e rituximab. [23] O tratamento consiste na infusão contínua de 3 medicamentos durante 96 horas. Este esquema posológico resulta da demonstração, por ensaios *in vitro*, de que a exposição prolongada a uma concentração baixa de fármaco potencia a morte de células tumorais. Comparativamente ao regime clássico, esta adaptação levou a uma diminuição dos níveis de toxicidade nos grupos de maior risco. [18] Cerca de 20% dos doentes infetados com HIV desenvolvem linfoma de Burkitt. Os tratamentos padrão apresentam uma elevada toxicidade em indivíduos imunodeprimidos, por conseguinte, a terapêutica instituída neste grupo tem sido o regime adaptado com CODOX-M/IVAC-rituximab ou EPOCH-R. [23]

O tratamento do linfoma de Burkitt em jovens adultos tem mostrado resultados positivos, contudo, a toxicidade associada permanece um desafio, especialmente, nos doentes de idade avançada. É fundamental o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas que mantenham taxas de cura elevadas e apresentem uma redução significativa na toxicidade. [18]

6. Linfoma Clássico de Hodgkin

O linfoma de Hodgkin apresenta uma incidência anual de 3 novos casos em cada 100 000 habitantes, sendo um dos linfomas mais comuns na região ocidental. O linfoma clássico de Hodgkin (LCH) caracteriza-se pela presença de células malignas de Hodgkin e Reed-Sternberg (HRS), originadas de linfócitos B maduros do centro germinativo. [24] As células HRS representam apenas 1-2% da massa tumoral. O restante infiltrado é constituído por linfócitos B, linfócitos T, macrófagos, eosinófilos e fibroblastos. A proporção de casos de linfoma varia de acordo com a idade, o género, a etnia, o país de residência e o subtipo histológico. O LCH pode ser subdividido em 4 subtipos histológicos: esclerose nodular, celularidade mista, depleção de linfócitos e rico em linfócitos, representando os dois primeiros 90% da totalidade de eventos de LCH. [3] A esclerose nodular manifesta-se maioritariamente em adolescentes e jovens adultos. Este subtipo localiza-se com relativa frequência no mediastino e nos nódulos linfáticos supraclaviculares e cervicais. Por sua vez, o linfoma de celularidade mista apresenta maior prevalência em crianças e em idosos. Quando presente num quadro de doença avançada, por vezes, verifica-se um prognóstico desfavorável. [25]

Nos países desenvolvidos, a taxa de associação entre LCH e infeção por EBV ronda os 30-50%, enquanto que nos países em desenvolvimento verificam-se taxas bastante mais elevadas. Os casos EBV positivos apresentam uma maior prevalência em crianças com idade inferior a 10 anos e em adultos com mais de 80 anos, desenvolvendo, portanto, um linfoma de subtipo celularidade mista. Considerando a associação entre o LCH e a mononucleose infecciosa, o crescimento tumoral devido à infeção primária por EBV é um evento raro em crianças, uma vez que estas, normalmente, desenvolvem uma infeção assintomática e a mononucleose afeta principalmente jovens adultos. O pico de incidência na idade adulta pode ser atribuído à senescência da imunidade ao EBV e/ou devido a um aumento da carga viral. [3]

Sabe-se que a presença do genoma de EBV em células do LCH está relacionado com a progressão deste, todavia, o mecanismo pelo qual o vírus contribui para a patogénese da doença ainda não é claro. [3] A deteção do genoma viral em amostras de tecido de linfoma sugere que a infeção por EBV é anterior à expansão clonal das células HRS, ou seja, as células B pré-apoptóticas do centro germinativo estavam infetadas previamente à diferenciação celular. [24] Relativamente à patogénese, pensa-se que os níveis elevados de LMP-I observados em células HRS sejam essenciais para a patogénese do linfoma, uma vez que esta proteína membrana activa as vias de sinalização celular e induz alterações transcripcionais nas células B do centro germinativo. Para além disso, a LMP-I é responsável pela supressão do

ciclo lítico do vírus que poderia levar à morte celular. A infecção por EBV tem demonstrado induzir alterações transcricionais e epigenéticas nas células B do centro germinativo que são relevantes para o linfoma de Hodgkin. Assim sendo, o papel etiológico do vírus é proporcionar os sinais necessários para o crescimento e sobrevivência tumoral, compensando a falta de mutações críticas nas células progenitoras das HRS. [3]

A nível terapêutico, os fatores que determinam qual a melhor opção de tratamento para cada doente são o subtipo histológico, o estadió da doença, a presença de fatores clínicos que sugiram um mau prognóstico, a presença de sintomas sistémicos e a presença de uma massa tumoral de tamanho superior a 10 cm. [25]

Atualmente, para doentes de estadió inicial favorável, o tratamento padrão consiste na combinação de 2 ciclos de adriamicina, bleomicina, vimblastina e dacarbazina (ABVD) com radioterapia. A taxa de sobrevivência resultante é superior a 97%. A utilização de quimioterapia isolada tem gerado opiniões divergentes, uma vez que há resultados que sustentam o benefício da combinação com radioterapia neste grupo. No entanto, considerando a toxicidade provocada por este regime, há doentes que podem beneficiar da terapêutica com ABVD, nomeadamente, os que estão em risco de desenvolver uma neoplasia secundária. Os doentes de estadió inicial desfavorável são sujeitos ao regime terapêutico padrão com a administração de 4 ciclos de ABVD e uma dose superior de radioterapia. Por último, no estadió avançado a terapêutica instituída consiste em 6 a 8 ciclos de ABVD, o que resulta numa taxa de sobrevivência livre de progressão de 70% e uma taxa de sobrevivência global entre os 82% e os 90%. O recurso a radioterapia nos estádios avançados pode ser considerado após o tratamento inicial, todavia, o seu papel continua incerto. [26]

O tratamento de linfomas de Hodgkin refratários ou recidivados alterou-se substancialmente desde a descoberta de inibidores dos *checkpoints* imunitários. [27] O pembrolizumab é um anticorpo monoclonal humanizado que se liga aos recetores de morte celular programada-1 (PD-1), potenciando a resposta dos linfócitos T através do bloqueio da ligação do recetor PD-1 aos ligandos PD-L1 e PD-L2. Os ligandos referidos são expressos em células apresentadoras de antigénios e em células tumorais. [28] A eficácia do pembrolizumab em LCH refratário ou recidivante foi demonstrada num ensaio de fase II denominado KEYNOTE-087, tendo sido a taxa de resposta de 69% e a taxa de resposta completa de aproximadamente 22%. Nos doentes não respondedores a terapias prévias foi verificada uma taxa de resposta de 56,5% com pembrolizumab. [27]

Os dados recolhidos levam a crer que a descoberta de novos medicamentos para o linfoma de Hodgkin possibilitam uma abordagem personalizada da terapêutica para cada doente, levando a melhores resultados de eficácia e segurança.

7. Linfoma difuso de grandes células B

O linfoma difuso de grandes células B (LDGCB) é o tipo de linfoma não-Hodgkin agressivo mais comum em todo o mundo, apresentando uma maior prevalência nos indivíduos de idade avançada, devido à senescência das células T. [29] A Organização Mundial de Saúde (OMS) classifica 2 subtipos moleculares de linfoma, de acordo com o perfil genético: células tipo B do centro germinativo e células tipo B ativadas. Dentro dos casos de LDGCB, apenas 10% são EBV-positivos, sendo tipicamente células tipo B ativadas. É de notar que este subtipo apresenta um prognóstico desfavorável que é agravado pela infeção viral. [3] Clinicamente, manifesta-se por um rápido crescimento de uma massa tumoral em torno de um ou mais nódulos linfáticos e regiões extra nódulos. A sua progressão pode dar-se em qualquer tecido, ocorrendo preferencialmente no trato gastrointestinal. Tal como o próprio nome indica, o LDGCB caracteriza-se por apresentar linfócitos B de tamanho superior ao normal dispostos em padrão difuso. [29] Devido às suas semelhanças com outros tipos de linfoma, o diagnóstico diferencial de LDGCB EBV-positivo depende de informação clínica, morfológica e molecular. Os limites ainda não estão acordados, contudo, é de consenso comum, a deteção do vírus na maioria das células neoplásicas, de modo a conduzir a um diagnóstico de LDGCB EBV-positivo. [30]

O tratamento padronizado para o LDGCB é composto por rituximab, ciclofosfamida, doxorrubicina, vincristina e prednisona (R-CHOP). A taxa de sobrevivência para este tratamento é de aproximadamente 65%, contudo, cerca de 30-40% dos doentes sofrem uma recaída e, ainda, há um pequeno grupo que não responde a esta terapêutica. O transplante autólogo de células estaminais é recomendado em jovens, no entanto, esta abordagem não surte efeito em todos os doentes, resultando num prognóstico desfavorável. A prática clínica atual apresenta duas abordagens. No grupo de doentes respondedores ao tratamento com R-CHOP, é feita a avaliação da utilização de agentes menos tóxicos ou de uma redução de dose, que resulte na prevenção da ocorrência de reações adversas. Para os doentes refratários, é feita uma estratificação de risco do linfoma, de modo a prever quais são os que podem beneficiar da terapêutica com agentes mais potentes, como por exemplo, o regime EPOCH-R. [29]

Com base nas baixas taxas de sobrevivência e no prognóstico desfavorável para doentes com idade avançada, é fundamental o desenvolvimento de novos regimes terapêuticos para o LDGCB. Neste caso em particular, um potencial agente de tratamento pode ter como alvo o EBV. O uso de anticorpos monoclonais contra o CD30+ representa uma abordagem promissora, uma vez que as células tumorais expressam este recetor. Contudo, o número de ensaios clínicos que aborda novas terapêuticas é reduzido devido à baixa incidência deste tipo de linfoma. [30]

8. Doenças linfoproliferativas e imunossupressão

A importância dos linfócitos T na prevenção de doenças associadas ao EBV torna-se evidente em duas situações, nos doentes que recebem terapia imunossupressora após um transplante, de modo a evitar a rejeição do órgão e nos indivíduos HIV positivos que evoluem para linfopenia acentuada e Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (SIDA). [10]

8.1 Doenças linfoproliferativas pós transplante

As doenças linfoproliferativas pós transplante (DLPT) definem-se como uma proliferação descontrolada de células linfocitárias, em consequência de imunossupressão extrínseca após transplantação de um órgão ou de células estaminais hematopoiéticas. A OMS classifica as DLPT em grupos baseados nas características histológicas, atribuindo um dos seguintes diagnósticos: lesões precoces, DLPT monomórfica, DLPT polimórfica e DLPT tipo linfoma clássico de Hodgkin. Todos os linfomas presentes em doentes que tenham recebido regimes imunossupressores devido a um transplante são considerados DLPT. [31]

A terapia imunossupressora provoca o aumento da carga viral no sangue de indivíduos infetados por EBV devido à destruição dos linfócitos T. Embora não haja um limite estabelecido acima do qual ocorra doença, o aumento do número de vírus pode identificar doentes em risco de desenvolver DLPT. [10] A sintomatologia provocada pode ser do tipo não específico, como febre, perda de peso e suores noturnos, ou relacionada com complicações devidas à localização do linfoma, por exemplo, aumento do tamanho do nódulo linfático ou sintomas no trato gastrointestinal, pulmões, cérebro, fígado e rins. [31]

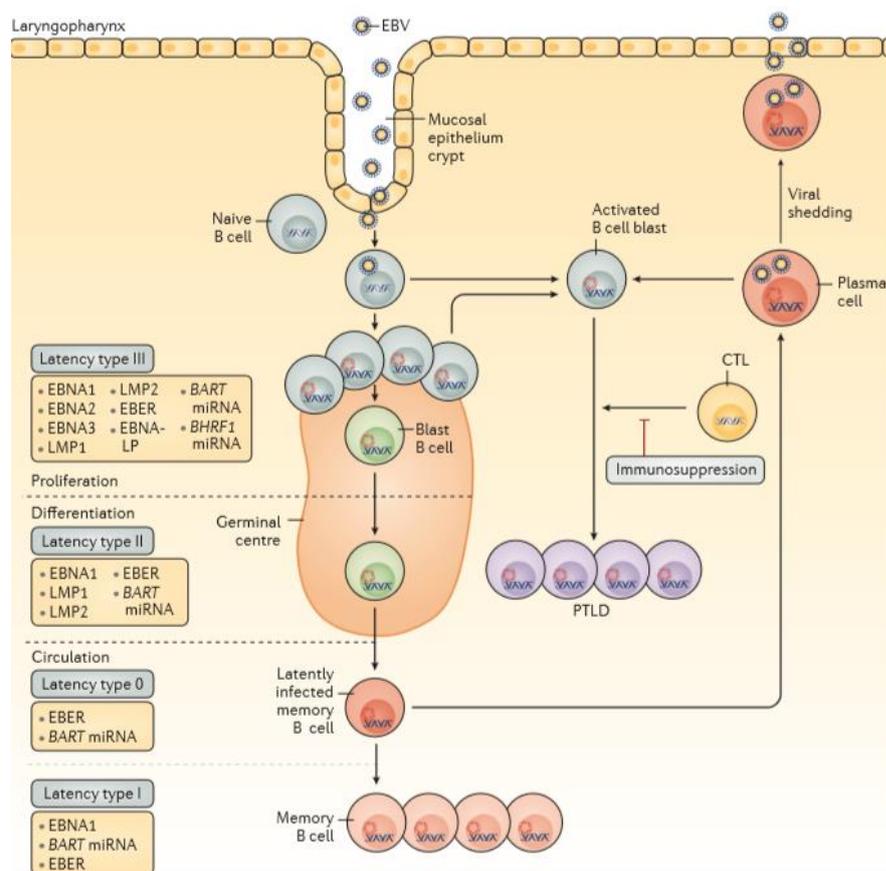


Figura 2 – Do ciclo de vida do EBV ao desenvolvimento de DLPT (Adaptado de Dharnidharka, V. R. et al. [31])

O transplante de células estaminais hematopoiéticas está associado a uma deficiência severa de todo o sistema imune. A incidência de DLPT é inferior a 2% e varia de acordo com o grau de imunossupressão. Os linfócitos T *naive* do doente recetor desenvolvem-se 6 meses após o transplante, sendo que a recuperação total do sistema imunitário pode demorar entre 1 a 2 anos. Dessa forma, a maior taxa de ocorrência de DLPT coincide com o período de depleção linfocitária. [31,32]

Os doentes submetidos a um transplante de órgão sólido, apresentam uma elevada incidência de DLPT no primeiro ano após a cirurgia, devido à terapêutica imunossupressora de elevada intensidade preventiva da rejeição do órgão. Neste caso, a taxa de incidência varia entre 1 e 20%, consoante o tipo de transplante e o regime adotado. O risco de progressão para DLPT é superior nas crianças, uma vez que a maioria são EBV-negativas e podem adquirir o vírus aquando do procedimento cirúrgico. [10,31]

Em ambos os casos, a medida preventiva adotada para reduzir o risco de DLPT é a redução da terapia imunossupressora. Esta estratégia permite a reconstituição ou o desenvolvimento de uma resposta imune direcionada ao EBV. Contudo, não se sabe ao certo

qual o nível de redução da terapêutica de modo a maximizar a resposta antiviral, evitando que ocorra rejeição do órgão transplantado. Os doentes recetores de células estaminais hematopoiéticas apresentam um elevado risco de ocorrência de doença devido ao procedimento, portanto, uma medida preventiva de maior eficácia para este grupo é o tratamento com rituximab. Caso este falhe, a abordagem mais comum passa pelo transplante autólogo de linfócitos T citotóxicos. [31]

8.2. Co-infecção com HIV

A infecção por HIV aumenta o risco de desenvolvimento de diversos linfomas das células B. Os linfomas de Burkitt, Hodgkin e difuso de grandes células B, surgem tendencialmente numa fase inicial da infecção por HIV, enquanto o doente ainda é imunocompetente. De facto, a taxa de incidência deste tipo de tumores permanece elevada, apesar da terapia antirretroviral de alta eficácia evitar uma depleção completa dos linfócitos T CD4+. Nos doentes de estadió avançado de SIDA, a doença linfoproliferativa desenvolvida é equivalente ao linfoma pós transplante. Os linfomas, frequentemente presentes no sistema nervoso central, são células em crescimento transformadas pelo EBV sem controlo pelas células T. [10]

9. Infecção crónica ativa por EBV e linfomas das células T e Natural Killer (NK)

O EBV é um vírus com preferência pelos linfócitos B, não infetando as células T nem as células NK no decorrer normal do seu ciclo de vida. Todavia, ocorrem infeções ectópicas das células T e NK, embora com baixa frequência, que levam à linfoproliferação. As manifestações clínicas são a infecção crónica ativa por Epstein-Barr (ICAEBV) ou neoplasias monoclonais muito agressivas, como o linfoma extra nodular das células T/NK. Cerca de 25% dos casos de ICAEBV progridem para neoplasias. [3]

A ICAEBV é uma doença crónica que persiste pelo menos 3 meses, verificando-se cargas virais elevadas, contudo sem evidência de imunodeficiência. As manifestações clínicas incluem um quadro febril, linfadenopatia e hepatite viral, seguidas de períodos assintomáticos mantendo-se a carga viral elevada. A prevalência da ICAEBV é superior nos asiáticos e nos sul e centro americanos, infetando preferencialmente os linfócitos T e NK. Na restante população, o vírus costuma estar presente nas células B ou T. Na ausência de tratamento, os doentes podem desenvolver imunodeficiências celulares e humorais, infeções oportunistas ou linfomas EBV-positivos das células B, T ou NK. A infecção é refratária ao interferão e à quimioterapia convencional, verificando-se um prognóstico desfavorável. Têm sido utilizados outros regimes de tratamento, inclusivé com rituximab nos casos de ICAEBV das células B,

no entanto, apesar da melhoria dos sintomas, a doença retorna e a única alternativa é o transplante de células estaminais hematopoiéticas. [33]

O linfoma extra nodular das células T e NK é um tipo de linfoma não-Hodgkin raro e muito agressivo. Caracteriza-se por uma extensa necrose, presente em locais extra nódulos, especialmente no trato respiratório superior. A prevalência geográfica é semelhante à da ICAEBV, com predominância no sexo masculino. Este tipo de linfoma representa 7-10% de todos os linfomas não-Hodgkin e 20-30% dos linfomas das células T periféricos. O quadro clínico evolui agressivamente, com um prognóstico extremamente desfavorável, devendo-se em parte, à presença de um gene de multirresistência aos fármacos. A sobrevivência global ao final de 5 anos para um indivíduo com doença avançada varia entre os 6-25%. [3] Atualmente, a terapia preconizada em doentes de estadios I e II consiste em radioterapia associada a dexametasona, etoposido, isofosfamida e carboplatina (RT-DeVIC) durante 2 a 3 ciclos. Em caso de resposta refratária, recorre-se ao regime SMILE constituído por dexametasona, metotrexato, isofosfamida, L-aspartato e etoposido. O tratamento mais agressivo corresponde a quimioterapia de elevada intensidade associada ao transplante autólogo de células estaminais hematopoiéticas. A descoberta de novas terapias para o tratamento do linfoma extra nodular das células T e NK é fundamental, visto que, atualmente, cerca de 20% dos doentes morre no primeiro ano de tratamento ou tem uma recaída. [34]

10. Imunodeficiência primária e cancro

As infeções por herpes vírus são particularmente problemáticas em indivíduos com genes do sistema imune defetivos. A severidade e a persistência de uma infeção por EBV são indicativos de imunodeficiência primária inata. Esta condição inclui um conjunto de defeitos imunes funcionais que incluem, citotoxicidade, sinalização do recetor das células T, produção efetiva de anticorpos, migração celular e regulação da apoptose. [9] As patologias genéticas mais graves associadas ao EBV são as síndromes XLP (síndrome linfoproliferativa ligada ao X) e XIAP (síndrome de deficiência na proteína inibidora da apoptose ligada ao X), sendo esses os tópicos abordados em pormenor. [10]

A síndrome XLP-I é uma imunodeficiência primária resultante de uma mutação no gene *SH2D1A* que codifica a respetiva proteína também conhecida por proteína associada à SLAM (molécula de sinalização da ativação de linfócitos). A SAP (proteína associada à SLAM) é um adaptador intracelular expresso nas células T, NK e Natural Killer T (NKT) fundamental na regulação da função imune. As malformações imunes presentes nestes doentes incluem redução ou ausência de células NKT, citotoxicidade anormal das células NK e T CD8+ e

comprometimento da capacidade de indução de morte celular. Os eventos referidos explicam a resposta ineficaz por parte do sistema imune no combate à infecção viral. Apesar deste síndrome estar associado a uma maior suscetibilidade para uma infecção grave por EBV, cerca de 35% dos doentes são EBV-negativos, sendo que não há uma diferença significativa na mortalidade entre os grupos. [9] As manifestações clínicas desencadeadas são diversas: linfocitose hemofagocítica, necrose hepática e falha na medula óssea. [10] O tratamento consiste numa terapia de substituição de imunoglobulinas. O rituximab é frequentemente utilizado de modo a reduzir as cargas virais. Os indivíduos submetidos a um transplante de células estaminais hematopoiéticas apresentam uma taxa de sobrevivência de 81%, contudo a taxa de mortalidade dos doentes com linfocitose é de 50%. Caso não lhe seja instituída a terapêutica com rituximab a taxa de sobrevivência é de 63% e apenas 19% para o último grupo. [9]

A síndrome XIAP ocorre devido a mutações no gene *XIAP*. A proteína por ele expressa desempenha diversas funções nas células imunes, nomeadamente, deteção de infeções bacterianas e ação anti-apoptótica. Os portadores da mutação apresentam uma reduzida quantidade de células NKT e um aumento da indução da morte celular. As principais manifestações clínicas são a linfocitose hemofagocítica, esplenomegalia, colite e períodos febris. Não têm sido verificados casos de linfoma neste grupo de doentes. O prognóstico após transplantação de células estaminais hematopoiéticas é bastante desfavorável, verificando-se uma taxa de sobrevivência de 14%. A mortalidade deve-se na maioria dos casos a toxicidade devida ao transplante, destacando-se a sensibilidade dos doentes para os efeitos adversos provocados pelos fármacos. O regime de tratamento de intensidade reduzida tem apresentado resultados favoráveis com uma taxa de sobrevivência de 55%. [9]

11. Linfoma plasmoblástico

O linfoma plasmoblástico (LPB) é uma forma agressiva de linfoma das grandes células B, que se manifesta normalmente em indivíduos infetados com HIV ou com alguma imunodeficiência associada. Apesar da recente evolução terapêutica, esta neoplasia apresenta um prognóstico desfavorável. [33] O LPB caracteriza-se por uma proliferação difusa de células neoplásicas semelhantes a imunoblastos, cujas células tumorais têm um imunofenótipo de plasmócito e perderam os antígenos de célula B. Esta neoplasia é a causa de cerca de 3% dos linfomas associados ao HIV. O vírus Epstein-Barr é expresso em aproximadamente 70-80% dos casos, encontrando-se no estado de latência I. [36]

Clinicamente, o linfoma pode ocorrer em todas as idades, contudo, quando associado ao HIV, os doentes tendem a ser substancialmente mais jovens do que nos casos associados a outro tipo de imunossupressão. O LPB apresenta-se como uma massa tumoral que se desenvolve em locais extra nodulares da cabeça ou pescoço. Cerca de metade dos casos de linfoma em portadores de HIV ocorrem na cavidade oral. [35,36] A nível morfológico são conhecidos 2 tipos: o monomórfico e as células com diferenciação plasmocítica. O LPB monomórfico define-se como uma proliferação coesa e difusa de células grandes uniformes de morfologia imunoblástica. O LPB com diferenciação plasmocítica é constituído por células redondas a ovais, de núcleo excêntrico e citoplasma anfófilo abundante. As células neoplásicas não expressam os marcadores típicos de células B como os recetores CD19+ e CD20+, apresentando por sua vez marcadores de plasmócitos como o recetor CD38+. [36]

No âmbito da terapêutica, não existe consenso sobre o tratamento padrão a utilizar. Devido à baixa incidência deste tipo de linfoma, os únicos estudos realizados que analisam a eficácia dos tratamentos são retrospectivos. Caso um doente não seja submetido a terapêutica, a sua esperança de vida é de apenas 3-4 meses. Devido à agressividade desta neoplasia, a prática habitual consiste num regime de poliquimioterapia. Apesar da taxa de resposta ser relativamente alta, a sobrevida deste grupo continua a ser curta, cerca de 14 meses. O regime mais amplamente utilizado tem sido a combinação de ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina e prednisona (CHOP), contudo os resultados obtidos não são os mais desejáveis. Por esse motivo, recentemente têm sido utilizados regimes mais agressivos como a associação de etoposido ao CHOP e o regime CODOX-M/IVAC. Mesmo os tratamentos mais agressivos não apresentam evidência significativa de melhoria na sobrevida, mantendo-se esta por volta dos 13 meses. Todavia um estudo retrospectivo demonstrou um aumento na sobrevida para 17 meses quando administrado o regime EPOCH, comparando com o tradicional CHOP no qual o tempo de sobrevida não ultrapassou os 7 meses. [37] Devido às semelhanças fenotípicas com o mieloma múltiplo, tem sido utilizado o bortezomib, inibidor do proteossoma com atividade no mieloma, no tratamento do LPB. A combinação deste inibidor com os regimes clássicos tem levado a respostas rápidas, remissões duradoras e tempos de sobrevida superiores. [38]

O LPB, apesar da baixa incidência, é das formas mais agressivas de linfoma das células B. Devido aos poucos estudos realizados nesta população as opções terapêuticas são as padronizadas para a maioria das neoplasias, contudo os resultados ficam aquém da expectativa. O estudo da doença e o desenvolvimento de novas terapêuticas é essencial de modo a prolongar a sobrevida dos doentes.

12. Conclusão

Tendo em conta que o vírus Epstein-Barr está associado a uma tão vasta variedade de linfomas e doenças linfoproliferativas, a infecção por este vírus deve merecer uma atenção especial por parte das autoridades de saúde. As complicações primárias associadas a esta infecção são de fácil resolução, contudo são diversos os fatores que podem levar ao surgimento de doenças linfoproliferativas e linfomas. Por esse motivo, considero de elevada importância o desenvolvimento de mecanismos preventivos da infecção por este herpes vírus. Melhor do que tratar é prevenir e no caso de doenças tão agressivas como as aqui discutidas, para as quais nem sempre estão disponíveis opções terapêuticas esta afirmação assume uma relevância ainda maior.

Para além da severidade e intensidade das reações adversas provocadas pelos regimes de quimioterapia, os custos associados são demasiado elevados, não estando por esse motivo ao alcance de todos aqueles que necessitam deste tratamento, especialmente nos países em desenvolvimento. Como referido anteriormente, o vírus Epstein-Barr afeta principalmente as crianças nos países em desenvolvimento, e é nestas que se desenvolvem as formas mais agressivas de neoplasias. Também é nestes locais que os recursos são mais escassos e há uma maior prevalência de todo o tipo de infeções microbiológicas de fácil transmissão que tornam o quadro clínico dos doentes ainda mais desfavorável. Por tudo isso, a prevenção da infecção por EBV é fundamental para assegurar a saúde e o bem-estar das futuras gerações adultas.

A compreensão da patogénese e da regulação imune das doenças associadas ao EBV fornecerá informação fundamental para o desenvolvimento de uma vacina efetiva. Atualmente, estão a decorrer ensaios pré-clínicos e clínicos para a formulação de vacinas prófiláticas e terapêuticas contra esta infecção. Os resultados dos ensaios sugerem que a vacina pode proteger contra a mononucleose infecciosa e reduzir o número de eventos oncológicos relacionados com este vírus. Os principais obstáculos a esta abordagem terapêutica são a incerteza associada à seleção do adjuvante e a indisponibilidade de modelos animais apropriados. [39] Apesar das adversidades encontradas nos ensaios clínicos, considero que será possível desenvolver uma formulação de qualidade, segura e eficaz devido à evolução tecnológica que temos assistido na última década.

É essencial combater a emergência de novos casos de cancro numa sociedade tão exposta aos mais diversos agentes nocivos e, neste caso em particular, evitar a progressão para uma complicação secundária provocada por uma infecção viral que apresenta uma prevalência mundial de quase 100%.

13. Referências Bibliográficas

1. PORTUGAL. Direcção-Geral da Saúde – Programa Nacional para as Doenças Oncológicas. Lisboa. DGS. (2013).
2. YOUNG, L. S., YAP, L. F. and MURRAY, P. G. Epstein-Barr virus: More than 50 years old and still providing surprises. *Nat. Rev. Cancer* **16**, 789-802 (2016).
3. SHANNON-IOWE, C., RICKINSON, A. B. and BELL, A. I. Epstein – Barr virus-associated lymphomas. *Phil. Trans. R. Soc. B* **372**: 2016071 (2017).
4. ESAU, D. Viral Causes of Lymphoma: The History of Epstein-Barr Virus and Human T-Lymphotropic Virus I. *Viol. Res. Treat.* **8**, 1-5 (2017).
5. HAU, P. M. and TSAO, S. W. Epstein–Barr virus hijacks DNA damage response transducers to orchestrate its life cycle. *Viruses* **9**, 1-16 (2017).
6. MURATA, T. and TSURUMI, T. Switching of EBV cycles between latent and lytic states. *Med. Virology* **24**, 142-153 (2014).
7. SCOTT, R. S. Epstein–Barr virus: a master epigenetic manipulator. *Curr. Opin. Virol.* **26**, 74-80 (2017).
8. CHOI, S. J., JUNG, S. W., HUH, S., CHO, H. and KANG, H. Phylogenetic comparison of Epstein-Barr virus genomes. *J. Microbiolog.* **56**, 525-533 (2018).
9. WORTH, A. J. J., HOULDCROFT, C. J. and BOOTH, C. Severe Epstein – Barr virus infection in primary immunodeficiency and the normal host. *Br. J. Haematol.* **175**, 559-576 (2016).
10. TAYLOR, G. S., LONG, H. M., BROOKS, J. M., RICKINSON, A. B. and HISLOP, A. D. The Immunology of Epstein-Barr Virus–Induced Disease. *Annu. Rev. Immunol.* **33**, 787-821 (2015).
11. DUNMIRE, S. K., HOGQUIST, K. A. and BALFOUR, H. H. Infectious Mononucleosis National Health and Nutrition Examination Survey National Institutes of Health. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* **390**, 211-240 (2015).
12. CHIU, Y. F. and SUGDEN, B. Epstein-Barr Virus: The Path from Latent to Productive Infection. *Annu. Rev. Virol.* **3**, 359-372 (2016).
13. NILLET, H. and BAUER, G. Epstein-Barr Virus: Clinical Diagnostics. *Methods Mol. Biol.* **1532**, 33-55 (2017).
14. KLUTTS, J. S., FORD, B. A., PEREZ, N. R. and GRONOWSKI, A. M. Evidence-Based Approach for Interpretation of Epstein-Barr Virus Serological Patterns. *J. Clin. Microbiol.* **47**, 3204-3210 (2009).

15. HESS, R. D. Routine Epstein-Barr Virus Diagnostics from the Laboratory Perspective: Still Challenging after 35 Years. *J. Clin. Microbiol.* **42**, 3381-3387 (2004).
16. HANAHAN, D. and WEINBERG, R. A. Hallmarks of Cancer : The Next Generation. *Cell.* **144**, 646-674 (2011).
17. YIN, H., QU, J., PENG, Q. and GAN, R. Molecular mechanisms of EBV-driven cell cycle progression and oncogenesis. *Med. Microbiol. Immunol.* **1**, 1-11 (2018).
18. DUNLEAVY, K., LITTLE, R. F. and WILSON, W. H. Up date on Burkitt Lymphoma. *Hematol. Oncol. Clin. North Am.* **30**, 1333-1343 (2016).
19. ROCHFORD, R. and MOORMANN, A. M. Burkitt ' s Lymphoma. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* **1**, 267-285 (2015).
20. LOVE, C. and DAVE, S. S. The genetic landscape of mutations in Burkitt lymphoma. *Nat. Genet.* **44**, 1321-1325 (2012).
21. THOMAS, L. R., FOSHAGE, A. M., WEISSMILLER, A. M. and TANSEY, W. P. The MYC – WDR5 Nexus and Cancer. *Cancer Res.* **75**, 4012-4015 (2015).
22. CASULO, C. and FRIEDBERG, J. Treating Burkitt Lymphoma in Adults. *Curr. Hematol. Malig. Rep.* **10**, 266-271 (2015).
23. DUNLEAVY, K. Approach to the Diagnosis and Treatment of Adult Burkitt ' s Lymphoma. *J. Oncol. Pract.* **14**, 665-672 (2019).
24. MURRAY , P. and BELL, A. Contribution of the Epstein-Barr Virus to the Pathogenesis of Hodgkin Lymphoma. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* **390**, 287-313 (2015).
25. ANSELL, S. M. Hodgkin Lymphoma : Diagnosis and Treatment. *Mayo Clin. Proc.* **90**, 1574-1583 (2015).
26. MACHADO, A. C. S., RIBEIRO, A. B. S. and GOMES, M. E. S. *Linfoma de Hodgkin Biologia, diagnóstico e tratamento.* Tese de Mestrado em Medicina do Desporto. Faculdade de Medicina, Universidade de Coimbra (2013).
27. MOSKOWITZ, A. J., HERRERA, A. F. and BEAVEN A. W. Relapsed and Refractory Classical Hodgkin Lymphoma: Keeping Pace With Novel Agents and New Options for Salvage Therapy. *Am Soc Clin Oncol Educ Book.* **39**, 477-486 (2019).
28. Resumo das Características do Medicamento Keytruda® 25 mg/ml, julho de 2015.
29. LI, S., YOUNG, K. H. and MEDEIROS, J. Diffuse large B-cell lymphoma. *Pathology.* **50**, 74–87 (2018).
30. BATTLE-LOPEZ A., NUÑEZ, J., CAGIGAL, M. L., MONTES-MORENO, S., CONDE, E. and PIRIS, M. Á. Epstein-Barr virus-associated diffuse large B-cell lymphoma : diagnosis , difficulties and therapeutic options. *Expert Rev. Anticancer. Ther.* **16**, 411-421 (2016).

31. DHARNIDHARKA, V. R., WEBSTER, A. C., MARTINEZ, O. M., PREIKSAITIS, J. K., LEBLOND, V. and CHOQUET, S. Post-transplant lymphoproliferative disorders. *Nat. Rev. Dis. Primers.* **2**, 1-20 (2016).
32. RASCHE, L., KAPP, M., EINSELE, H. and MIELKE, S. EBV-induced post transplant lymphoproliferative disorders: a persisting challenge in allogeneic hematopoietic SCT. *Bone Marrow Transplant.* **49**, 163-167 (2013).
33. BOLLARD, C. M. and JEFFREY, I. C. How I treat T-cell chronic active Epstein-Barr virus disease. *Blood.* **131**, 2899-2905 (2018).
34. YAMAGUCHI, M. and MIYAZAKI, K. Current treatment approaches for NK / T-cell lymphoma. *J. Clin. Exp. Hematop.* **57**, 98-108 (2017).
35. GRAVELLE, P., PÉRICART, S., TOSOLINI, M., FABIANI, B., COPPO, P., AMARA, N., TRAVERSE-GLÉHEN, A., ACKER, N. V., BROUSSET, P., FOURNIE, J. J. and LAURENT, C. EBV infection determines the immune hallmarks of plasmablastic lymphoma. *Oncoimmunology.* **7**, 1-11 (2018).
36. LINKE-SERINSOZ, E., FEND, F. and QUINTANILLA-MARTINEZ, L. Human immunodeficiency virus (HIV) and Epstein-Barr virus (EBV) related lymphomas , pathology view point. *Semin. Diagn. Pathol.* **34**, 352-363 (2017).
37. FERNÁNDEZ-ÁLVAREZ, R., SANCHO, J. M. and RIBERA, J. M. Linfoma plasmablastico. *Med. Clin. (Barc).* **147**, 399-404 (2016).
38. FERNÁNDEZ-ÁLVAREZ, R., GONZALEZ-RODRIGUEZ, A. P., RUBIO-CASTRO, A., GONZALEZ, M. E., PAYER, A. R., ALONSO-GARCIA, A., RODRIGUEZ-VILLAR, D., DOMINGUEZ-IGLESIAS, F. and SANCHO, J. M. Bortezomib plus CHOP for the treatment of HIVassociated plasmablastic lymphoma: clinical experience in three patients. *Leuk. Lymphoma.* **57**, 463-466 (2015).
39. DASARI, V., BHATT, K. H., SMITH, C. and KHANNA, R. Designing an effective vaccine to prevent Epstein- Barr virus-associated diseases: challenges and opportunities challenges and opportunities. *Expert Rev. Vaccines* **16**, 377-390 (2017).