

# Možná úloha ľudských herpetických vírusov podčel'ade Alphaherpesvirinae pri vzniku niektorých nádorových ochorení

## A Possible Role of Human Herpes Viruses Belonging to the Subfamily Alphaherpesvirinae in the Development of Some Cancers

Mrázová V., Golais F., Búda D.

Katedra Mikrobiológie a virológie, PriF UK, Bratislava

### Súhrn

Ľudské vírusy herpes simplex typ 1 a 2 (HSV-1, HSV-2) sa väčšinou na základe séroepidemiologických štúdií dávajú do súvislosti s viacerými nádorovými ochoreniami. Nepredpokladá sa však, že by pri vzniku nádorov mali priamu úlohu. Pôsobia pravdepodobne len ako kofaktory. Experimentálne sa podarilo dokázať ich schopnosť transformovať bunky *in vitro* odstránením ich vysokej lytickej schopnosti určitou dávkou UV žiarenia alebo fotoinaktiváciou v prítomnosti fotosenzitizérov, napr. neutrálnej červene alebo metylénovej modrej alebo kultiváciu v podmienkach potlačujúcich ich lytickú schopnosť. K vzniku nádorov by mohli prispieť niekoľkými mechanizmami. Podľa mechanizmu „hit and run“ navodí vírusová DNA interakciu s bunkovou DNA a indukciu genetických a epigenetických zmien len iniciáciu transformácie a na ďalšom procese neoplastickej progresie sa už nepodiela. Podľa mechanizmu „hijacking“ môže vírusový produkt v infikovaných bunkách aktivovať signálnu dráhu a spôsobiť tým nekontrolovateľnú proliferáciu. Takýmto produktom je napr. produkt génu HSV-2 označovaného ako ICP10, ktorý kóduje onkoproteín RR1PK aktivujúci signálnu dráhu Ras. V dvoch prípadoch, v prípade serózneho karcinómu vaječníkov a v niektorých nádoroch prostaty boli dokázané vírusom kódované mikroRNA ako možní spolupôvodcovia vzniku nádorov. Možnú úlohu by mohli hrať aj nedávno popísané rastové faktory asociované s herpetickými vírusmi s transformačným a transformáciu potlačujúcim účinkom. Nakoniec, existuje rad dôkazov, že HSV-2 môže zvyšovať riziko vzniku cervikálneho karcinómu po infekcii s ľudskými papilómovými vírusmi.

### Kľúčové slová

HSV-1 – HSV-2 – nádory – mechanizmy transformácie

### Summary

Seroepidemiological studies suggest that human herpes simplex virus type 1 (HSV-1) and 2 (HSV-2) are linked with several types of cancer; however, they do not appear to play a direct role and are considered to be cofactors. The abilities of HSV-1 and -2 to transform cells *in vitro* can be demonstrated by suppressing their lytic ability via irradiation with a specific dose of ultraviolet light, photoinactivation in the presence of photosensitizers (e. g., neutral red or methylene blue), and culture under specific conditions. Several mechanisms have been proposed to explain the actions of these viruses. According to the hit-and-run mechanism, viral DNA initiates transformation by interacting with cellular DNA and thereby inducing mutations and epigenetic changes, but is not involved in other stages of neoplastic progression. By contrast, according to the hijacking mechanism, viral products in infected cells can activate signaling pathways and thereby cause uncontrolled proliferation. Such products include RR1PK, an oncoprotein that activates the Ras pathway and is encoded by the HSV-2 gene ICP10. Virus-encoded microRNAs may act as cofactors in tumorigenesis of serous ovarian carcinoma and some prostate tumors. Herpes virus-associated growth factors that facilitate or suppress transformation may play important roles in tumor formation. Finally, there is much evidence that HSV-2 increases the risk of cervical cancer after infection of human papilloma viruses.

### Key words

HSV-1 – HSV-2 – cancer – mechanisms of transformation

Tato práca bola podporená APVV 0621-12.

This work was supported by APVV 0621-12.

Autoři deklarují, že v souvislosti s předmětem studie nemají žádné komerční zájmy.

The authors declare they have no potential conflicts of interest concerning drugs, products, or services used in the study.

Redakční rada potvrzuje, že rukopis práce splnil ICMJE kritéria pro publikace zasílané do biomedicínských časopisů.

The Editorial Board declares that the manuscript met the ICMJE recommendation for biomedical papers.



Mgr. Veronika Mrázová

Onkologický ústav sv. Alžbety  
Katedra Mikrobiológie a virológie  
PriF UK

Mlynská dolina  
Ilkovičova 6  
842 15 Bratislava

e-mail:  
mrazova.veronika1@gmail.com

Obdržané/Submitted: 29. 11. 2016  
Prijaté/Accepted: 20. 3. 2018

doi: 10.14735/amko2018178

## Úvod

Ľudské herpetické vírusy podčelade Alphaherpesvirinae, Herpes simplex vírus typ 1 (HSV-1) známy ako pôvodca oparu a Herpes simplex vírus typ 2 (HSV-2), pôvodca genitálneho herpesu sú v ľudskej populácii početne rozšírené. Za normálnych okolností spôsobujú pľuzgieriky na koži a slizniciach. Po primárnej infekcii ostávajú po celú dobu života hostiteľa v stave latencie. Genóm HSV-1 ostáva latentný v senzorických neurónoch ganglia trojklaného nervu, kým genóm HSV-2 sa nachádza v sakrálnom gangliu. Spontánne alebo vplyvom rozličných stimulov dochádza k aktivácii latencie a vzniku sekundárnych herpetických infekcií. Je však možná aj alternatívna cesta vedúca k transformácii a vzniku nádorov. Táto možnosť je u HSV-1 a HSV-2 zatiaľ len hypotetická [1]. U niektorých iných ľudských herpetických vírusov patriacich do iných podčeladi bola dokázaná onkogenita a sú považované za pôvodcov niektorých nádorových ochorení. Tak napr. vírus Epstein a Barrovej (EBV), pôvodca infekčnej mononukleózy, je asociovaný s určitými druhmi nádorov ako sú napr. Hodgkinov lymfóm, Burkittov lymfóm, rakovina žalúdka alebo nazofaryngeálny karcinóm [2,3]. Podobne onkogénny je aj vírus asociovaný s Kaposiho sarkómom (Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus – KSAV) [4]. U HSV-1 a HSV-2 nebol dokázaný vzťah k nijakým nádorovým ochoreniam. Predpokladá sa však, že v niektorých prípadoch by mohli mať nepriamu úlohu a pôsobiť ako kofaktory alebo kokancerogény. Metgut et al [5] a Gupta a Metgut [6] sa domnievajú, že takúto úlohu by mohli HSV-1 a HSV-2 mať pri vzniku orálneho karcinómu, v oboch prípadoch sa však jednalo len o nepotvrdené hypotézy. Existuje však rad nepriamych biologických a seroepidemiologických dôkazov ako aj experimentov na zvieratách, ktoré poukazujú na možný vzťah HSV-1 a HSV-2 k niektorým nádorovým ochoreniam.

## Séroepidemiologické a biologické štúdie

Už v 70. a 80. rokoch minulého storočia bolo množstvo prác, ktoré poukazovali

na to, že pacienti s niektorými nádorovými ochoreniami majú zvýšenú hladinu protilátok voči HSV-1 a HSV-2. V tomto smere je najlepšie preštudovaný cervikálny karcinóm, ktorý sa dáva do vzťahu k HSV-2 [7–9]. V bunkách cervikálneho karcinómu kultivovaných *in vitro* boli dokázané vírus-špecifické antigény [10–12], v jednom prípade došlo v týchto nádorových bunkách aj k aktivácii latentného HSV-2 [13]. Podobné výsledky sú dosahované aj v súčasnosti, Li a Wen [14] považujú sérostatus HSV-2 za nezávislý indikátor cervikálnych nádorov. Koanga et al [15] sa domnievajú, že infekcia s HSV-2 by mohla hrať pri vzniku cervikálneho karcinómu nepriamu úlohu navodením zápalového procesu vedúceho ku genotoxickým poškodeniam. Tomkins et al [16] dokázali v prípade infekcie s HSV-2 patologické zmeny pripomínajúce cervikálny nádor bez prítomnosti ľudských vírusov papilómov (human papilloma viru – HPV).

Na druhej strane Vonka et al [17] nedokázali nijaký vzťah medzi výskytom cervikálneho karcinómu a výskytom protilátok voči HSV-2, aj keď nepriamu úlohu tohto vírusu nevylúčili, a také isté výsledky dosiahli aj Lehtinen et al [18]. V súčasnosti sú však za hlavných pôvodcov cervikálneho karcinómu považované HPV [19,20]. Touto problematikou sa už podrobne zaoberali Váňová a Golais [21]. Sú však dôkazy, že HSV-2 môže zvyšovať riziko vzniku cervikálneho karcinómu po infekcii s HPV [22,23] Zhao et al [24] zistili, že koinfekcia HSV-2 s HPV v prípade cervikálnej intraepiteliálnej neoplazie a v prípade karcinómu dlaždicových buniek bola podstatne vyššia ako u zdravých žien. Pomer šancí (odds ratios – ORs) bol v prvom prípade 34,2 a v druhom prípade 61,1. Je otázka, akým mechanizmom by mohol HSV-2 prispieť k vzniku a progresii cervikálnych nádorov. Cervikálna intraepiteliálna neoplazia (CIN) má III štádia – CIN I, mierne štádium, CIN II mierna dysplazia a CIN III, ktorá vedie od závažnej dysplazie až k vzniku invazívneho karcinómu [25,26]. Perzistentná, latentná alebo abortívna infekcia cervikálnych buniek samotným HSV-2 by mohla viesť k vzniku zmien pripomínajúcich CIN [16] v dôsledku mutácií, aktivácii syntézy ri-

bonukleotid reduktázy (RRA) a produkcie rastových faktorov [27]. Tieto zmeny by potom mohli počas dvojitej infekcie HSV-2 a HPV výrazne prispieť k vzniku cervikálnych karcinómov, ako je uvedené na obr. 1 [27].

Podobná situácia je aj s HSV-1 a jeho možného vzťahu k nádorom hlavy a krku, ale hlavne nádorov ústnej dutiny. Parker et al [28] zistili, že séropozitivita na HSV-1 a HSV-2 nemusí priamo ovplyvňovať výskyt nádorov hlavy a krku, ale môže zvyšovať riziko spojené s fajčením, alkoholizmom alebo infekciou papilómovými vírusmi. Shillitoe a Silverman [29] zistili u pacientov s nádormi ústnej dutiny zvýšenú hladinu protilátok voči HSV-1 a Vijayakumar et al [30] dokázali v nádorových bunkách pacientov antigény HSV-1 metódou imunofluorescencie a imunoperoxidázovej techniky. Neskôr však Steele a Shillitoe [31] začali predpokladať, že HSV-1 pôsobí spolu s inými kofaktormi. Podobne aj u nádorov orofaryngu predstavuje výskyt protilátok voči HSV-1 len mierne riziko, ktoré však môže byť zvýšené prítomnosťou papilómových vírusov, ako uvádzajú Starr et al [32]. Problematika vzťahu HSV-1 k nádorom hlavy a krku je predmetom aj ďalších štúdií. Jain [33] nedokázal v prípade orálneho karcinómu preukazný rozdiel v hladine IgG proti HSV-1 medzi prekancerogénnymi a karcinogénnymi pacientmi ( $p = 0,629$ ), avšak štatisticky významné rozdiely boli dokázané medzi kontrolnou skupinou a prekancerogénnymi/karcinogénnymi pacientmi ( $p = 0,001$ ). Osman et al [34] vyšetrili 177 vzoriek orálneho karcinómu a v 22 vzorkách dokázali metódou polymerázovej reťazovej reakcie (polymerase chain reaction – PCR) DNA HSV-1 a v 8 vzorkách DNA HSV-2. V dvoch prípadoch bol dokázaný HSV-1 v bunkách laryngeálneho nádoru negatívnych na HPV. Lowenthal a Lin [35] dokázali vírus imunocytochemickými metódami a Devilleres-Mendoza a Chang [36] na základe histopatológie. Bolo dokázané, že HSV-1 môže expresiu HPV ovplyvňovať aj *in vitro*. Turunen et al [37] zistili, že infekcia buniek UD-SCC-2 derivovaných z hypolaryngeálneho karcinómu pozitívna na HPV16 vedie k zvýšenej expresii genómu HPV po ožiarení s RTG.

HSV-1 a HSV-2 boli dokázané vo všetkých študovaných typoch nádorov štítnej žľazy. Počas rastu nádorov získavali dokonca tyroidné bunky vyššiu vnímavosť na HSV v dôsledku zvýšenej expresie nektínu-1, ktorý má funkciu mediátora penetrácie vírusu do bunky [38,39]. Kofman et al [40] však predpokladajú, že HSV má v tomto prípade len nepriamu úlohu, vznik nádorov navodzuje potlačením apoptózy a takýto mechanizmus predpokladajú aj pri niektorých mozgových nádoroch. Thomas et al [41] poukazujú na možný vzťah medzi hladinou protilátok voči HSV-2 a nádorom prostaty. Ypiranga a Moraes [42] dokázali DNA HSV-1 v kožných epiteliálnych nádoroch.

### Experimentálne štúdie

Experimentálne štúdie s cieľom dokázať onkogenicitu HSV-1 a HSV-2 sa zakladali na prácach v bunkových kultúrach a experimentálnych zvieratách. Onkogénne vírusy navodzujú v infikovaných bunkách stav, ktorý sa nazýva transformácia buniek. Transformované bunky vykazujú na rozdiel od normálnych stratu kontaktnej inhibície, rastú vo viacerých vrstvách, majú zmenenú morfológiu, chromozómové aberácie, vytvárajú kolónie v riedkom agare a sú onkogénne *in vivo*, po vpravení do organizmu experimentálnych zvierat vytvárajú nádory [43,44].

Prevažná väčšina herpetických vírusov hlavne z podčelade Alphaherpesvirinae, ale aj Betaherpesvirinae (cytomegalovírusy) sa vyznačuje vysokou lytickou schopnosťou, t. j. schopnosťou navodiť v infikovaných bunkách zreteľný, cytopatický efekt (CPE) s rýchlym priebehom. Táto vysoká lytická schopnosť znemožňovala štúdium prípadnej onkogénnej aktivity, pretože gény zodpovedné za produktívnu infekciu a lýzu maskovali expresiu génov zodpovedných za možnú transformáciu. Pre štúdium možného onkogénneho potenciálu týchto vírusov bolo potrebné buď selektívne odstrániť lytické gény, alebo nájsť kultivačné podmienky, počas ktorých by bola ich expresia potlačená. Bolo popísaných niekoľko takýchto modelov transformácie. Určitou dávkou UV žiarenia je možné odstrániť lytické gény a bunky je možné transformovať pomocou génov

indukujúcich transformáciu, ktoré sú na UV žiarenie rezistentnejšie [45–48]. Podrobne bola študovaná transformácia ľudských a myších buniek aj s myším gamaherpesvírusom 68 (MHV-68) ožiarení UV svetlom. Aj keď je tento vírus zaradený do inej podčelade Gammaherpesvirinae, v mnohých biologických vlastnostiach pripomína zástupcov čelade Alphaherpesvirinae [49–51]. Preto výsledky dosiahnuté s týmto vírusom môžu byť aplikovateľné aj na HSV-1 a HSV-2. V bunkách transformovaných s MHV-68 bola dokázaná vírusová DNA metódou PCR a vírusový antigén pomocou imunofluorescencie. Imunofluorescenčné štúdie však navyše ukázali, že v transformovaných bunkách dochádza k rozpadu aktívnych filamentov [52]. Podobne bola možná transformácia po infekcii fotoinaktivovaným vírusom, t. j. ak bol vírus zafarbený neutrálnou červeňou alebo metylénovou modrou a ožiarení viditeľným svetlom [53–55]. V ďalších modeloch sa podarila transformácia s ts mutantami HSV-2 pri supraoptimálnej teplote [56] alebo po infekcii krysích embryonálnych buniek s HSV-1 a HSV-2 a ich kultivácii pri suboptimálnych teplotách [57].

Onkogénny potenciál HSV-1 a HSV-2 bol dokázaný aj v experimentálnych zvieratách. Wentz et al [58] použili HSV-1 a HSV-2 inkativované formalínom a UV žiarením. Inaktivovaný vírus aplikovali na cervix myšiek a 78–90 % zvierat vyvinulo premaligné a maligné cervikálne lézie. Podobné výsledky dosiahli Anthony et al [59] s izolovanou DNA HSV-2.

### Predpokladané mechanizmy transformácie a onkogenézy

Napriek dôkazom transformačnej aktivity *in vitro* a onkogénneho potenciálu *in vivo* mechanizmus transformácie s HSV-1 a HSV-2 nie je zatiaľ známy. Vírus nemá vo svojom genóme nijaký onkogén, ani nekóduje nijaký proteín, ktorý by mohol byť zodpovedný za transformáciu a onkogenicitu. Preto všetky predpokladané mechanizmy sa zakladajú na nepriamej účasti vírusu, ktorý pôsobí ako kofaktor alebo kokarcinogén a môže sa rôznymi spôsobmi podieľať na iniciácii transformácie alebo nádorotvorného procesu.

### Mechanizmus „hit and run“

Ako už bolo uvedené vyššie, bunky infikované s HSV-1, alebo HSV-2, za podmienok, keď bol ich lytický účinok na bunky odstránený alebo potlačený vedie k zmene morfológie buniek. Vzniknú transformované bunky, ktoré sa správajú ako onkogénne. Po vpravení do vhodného experimentálneho zvierata vyvolávajú nádory [60,61].

Ďalšie práce však ukázali, že takáto transformácia nepripomína „klasickú“ transformáciu s inými DNA vírusmi, napr. adenovírusmi alebo polyómavírusmi. V bunkách transformovaných s HSV-1 a HSV-2 nebola dokázaná stabilná prítomnosť vírusových antigénov pripomínajúcich napr. E1A antigén adenovírusov alebo T antigén vírusov polyómu. Počas pasážovania transformovaných buniek vírusová DNA perzistovala v bunkách veľmi krátko a vírusové proteíny, aj keď boli detegovateľné v prvých pasážach, vo vyšších pasážach ich expresia vymizla. Transformovaný fenotyp buniek však ostal zachovaný. Jediným vysvetlením tohto javu bolo, že vírus je schopný transformovať bunky mechanizmom „hit and run“, t. j. je schopný pôsobiť za určitých podmienok ako mutagén [62–63].

Porovnávaním sekvencií vírusovej DNA v transformovaných bunkách a infikovaním buniek definovanými fragmentami vírusovej DNA sa podarila transformácia. V týchto bunkách sa našli oblasti DNA s transformačnou aktivitou, tzv. minimálne transformačné oblasti (mtr). Transformačná oblasť HSV-1 (mtr-1) sa nachádza v ľavej tretine genómu, zatiaľ čo tie isté funkcie HSV-2 sú rozdelené na mtr-2 a mtr-3 a nachádzajú sa približne v strede genómu [64–67]. Hypotézu „hit and run“ by mohol potvrdzovať aj fakt, že tieto úseky nie sú potrebné na udržiavanie transformovaného fenotypu, podieľajú sa pravdepodobne len na iniciácii transformácie [68,69].

Mechanizmus „hit and run“ sa dlho predpokladal len u herpetických vírusov podčelade Alphaherpesvirinae. Dnes je však už považovaný za všeobecný mechanizmus transformácie vlastný nielen herpetickým vírusom. Dočasné získanie kompletného alebo nekompletného vírusového genómu môže byť úplne po-

stačujúce na indukciu malignej konverzie buniek *in vivo* a nádorového rastu. Potom čo vírus navodí dedičné zmeny v expresii bunkového genómu (iniciácia), ďalšia existencia vírusu v bunkách už nie je potrebná. Tento mechanizmus už bol dokázaný napr. u vírusov hepatitídy B a C, u adenovírusov, ale aj u herpetických vírusov z podčelade Gamaherpesvirinae. Tiež sa predpokladá u retrovírusu HTLV-1 [70].

### Mechanizmus „hijacking“

Tento mechanizmus bol popísaný v druhej polovici minulého storočia. HSV-1, HSV-2, ako aj iné herpetické vírusy dokážu celoživotne perzistovať v infikovanom organizme navodením latentnej infekcie, z ktorej sa dokážu periodicky aktivovať navodzujúc sekundárne herpetické infekcie. Na replikáciu po aktivácii latencie sú schopné využívať kľúčové molekuly kaskád signálnych dráh. Avšak väčšina týchto molekúl je zapojená do dôležitých bunkových funkcií ako proliferácia, diferenciácia alebo migrácia buniek, mechanizmy reparácie DNA apod. Nežiadúca aktivácia signálnej dráhy vírusom môže viesť k deregulácii niektorých vyššie uvedených procesov a tým k nekontrolovanej proliferácii buniek. Takýto zásah vírusu nazvali Filippakis et al [71] „hijacking“. Jedna zo signálnych dráh, ktorá býva často ovplyvňovaná herpetickými vírusmi, je dráha Ras regulujúca široký okruh bunkových funkcií [72].

Zistilo sa, že v géne HSV-2 sa nachádza onkogén označovaný ako ICP10. Je to chimerický gén kódujúci veľkú subjednotku vírusovej ribonukleotid reductázy (RR1), ale na jeho 5' konci sa nachádza časť pochádzajúca z buniek kódujúca receptor pre rastový faktor serín-treonín proteín kinázu (PK). Bolo dokázané, že onkoproteín HSV-2 RR1PK aktivuje signálnu dráhu Ras [73–75]. Okrem toho boli dokázané aj iné jeho aktivity, napr. mitogénna aktivita v diploidných bunkách, inhibícia apoptózy v neurónoch, ako aj aktivácia signálnej dráhy ERK (extracellular signal-regulated kinase) [76,77]. Proteín ICP10 bol dokázaný už predtým v bunkách cervikálneho karcinómu [78–80], ale podobný proteín bol dokázaný aj v bunkách me-

lanómu [81]. U HSV-1 je situácia odlišná. Génu *ICP10* u HSV-2 zodpovedá gén *ICP6*, ktorý však nemá funkciu onkogénu [82]. HSV-1 by sa na onkogenéze mohol podieľať napr. potláčaním syntézy niektorých bunkových proteínov [83], aktiváciou syntézy bunkových „heat shock“ proteínov [84,85] alebo potláčaním apoptózy [86–88].

### Vírusové miRNA a nádory

MikroRNA (miRNA) sú malé, nekódujúce RNA, ktoré sa viažu na komplementárne sekvencie na 3' konci netranslatovateľného úseku mRNA, a táto väzba má za následok inhibíciu translácie. Niektoré miRNA sú dôležité pre normálny vývin organizmu, niektoré sú postrádateľné, hrajú však kritickú úlohu v patologických podmienkach, ako sú napr. infekcia vírusmi, tumorigenéza alebo tvorba metastáz [89–90]. Väčšina vírusov kóduje vlastné miRNA s rozmanitými funkciami, napr. predlžujú životnosť infikovaných buniek, obchádzajú imunitnú odpoveď organizmu alebo potláčajú lytickú schopnosť vírusu v perzistentne infikovaných bunkách [91].

Podľa údajov za posledných 5 rokov HSV-1 kóduje 25 a HSV-2 24 rozličných miRNA [92,93]. Ich funkcie sú rozmanité, ale najdôležitejšiu úlohu hrajú pri navodení a udržiavaní latencie a v predlžovaní prežívania infikovaných buniek ovplyvňovaním tak vlastných, ako aj bunkových génov [94–97]. Informácií o možnom vplyve týchto miRNA na vznik nádorových ochorení je zatiaľ pomerne málo. Pandya et al [98] dokázali miRNA HSV-2, miR-H25 v tkanive serózneho karcinómu vaječníkov a považujú ju za dôležitý biomarker spolu s miRNA EBV miR-BERT7, aj keď zatiaľ nie je známe, či sú tieto miRNA priamo zodpovedné za vznik nádoru alebo len indukujú rezistenciu na cytostatiká. Yun et al [99,100] dokázali zvýšenú expresiu dvoch herpetických miRNA, HSV-1-miR-H18 a HSV-2-miR-H9-5p v tkanive nádoru prostaty. K zvýšenej expresii týchto miRNA nedochádzalo v bunkách benignej hyperplazie prostaty. miRNA kódovaná HSV-2, HSV-2-miR-H9-5p bola dokázaná v spojení so vznikom metastáz z nádoru pľúc do kostnej drene [101].

### Nové látky asociované s herpetickými vírusmi pripomínajúce rastové faktory

Skupina nových látok asociovaných s herpetickými vírusmi bola objavená začiatkom 90. rokov minulého storočia. K ich produkcii dochádza v bunkách transformovaných vírusmi alebo v infikovaných bunkách kultivovaných za podmienok nepermissívnych pre replikáciu vírusov. Majú schopnosť transformovať normálne, netransformované bunky, ale ak sa pridajú k transformovaným bunkám, menia ich transformovaný fenotyp na normálny. Obe aktivity je možné neutralizovať protilátkami voči danému vírusu alebo určitými monoklonálnymi protilátkami voči vírusovému glykoproteínu B (gB) [102–103]. Podobný faktor bol dokázaný aj v bunkách transformovaných s MHV-68 [104]. Tieto rastové faktory asociované s herpetickými vírusmi boli zatiaľ dokázané len v podmienkach *in vitro*, ale predpokladá sa, že k ich produkcii by mohlo dochádzať aj v infikovanom organizme počas perzistentnej alebo latentnej infekcie [105]. Dôležitejšia je však z tohto hľadiska ich schopnosť meniť transformované bunky na bunky s normálnym, netransformovaným fenotypom, ktoré by potenciálne mohli meniť aj fenotyp nádorových buniek v organizme. U faktora asociovaného s MHV-68 sa podarilo s využitím fyzikálno-chemických metód, ako je delenie na kolónu systému vysokorychlostní kapalinové chromatografie (fast protein liquid chromatography – FPLC) Sephadex G15 a kolónu vysokoúčinné kapalinové chromatografie s tzv. obrátenými fázami (reverse phase high-performance liquid chromatography – RP-HPLC) C18, oddeliť obe aktivity a pripraviť látku len s transformačným účinkom a účinkom potláčajúcim transformáciu [106]. Obe látky by v budúcnosti mohli nájsť uplatnenie. Jedna na štúdium transformácie buniek herpetickými vírusmi, druhá ako nádejná látka s možným účinkom na malignitu nádorových buniek.

### Záver

Otázka vírusovej etiológie rakoviny je veľmi zložitá a je veľmi málo pravdepodobné, že by za vznik rakovinového

ochorenia bol zodpovedný nejaký vírus ako jediný kauzatívny agens. To platí aj v prípade HPV ako pôvodcov cervikálneho karcinómu [107]. Hoci je HPV dôležitý pri transformácii cervikálnych epitelových buniek, nie je postačujúcim agensom. K tomu, aby vznikol cervikálny karcinóm, sú potrebné ďalšie kofaktory a procesy odohrávajúce sa v bunkovej a molekulárnej rovine [108,109]. Popri HSV-2 môže byť takýmto vírusovým kofaktorom aj ľudský gamaherpesvírus EBV [23].

V bunkách transformovaných vírusmi „klasickými“ mechanizmami sa nachádzajú vírusom kódované proteíny (onkoproteíny), ktoré môžu slúžiť ako vhodný diagnostický marker.

U HPV sú takýmto onkoproteínmi E6 a E7 [19–21]. V niektorých prípadoch však môže vírus transformovať bunky a ostať pri tom nepoznaný. Je to napr. v prípade transformačného mechanizmu „hit and run“, keď sa vírus, či už ako primárny agens alebo len ako kofaktor, podieľa len na iniciácii transformácie a vzniku nádoru, ale vo finálnom štádiu tumorigenézy sa už v bunkách nijaké vírusové produkty nenachádzajú a takýto mechanizmus sa predpokladá nielen u herpetických vírusov [70]. Podobne aj proteín ICP10 môže jednorázovým zásahom („one-hit“) aktivovať signálnu dráhu Ras, spustiť proces nekontrolovateľnej proliferácie, v ktorom už jeho prítomnosť nie je potrebná [71,77].

## Literatúra

- Roizman B, Whitley RJ. An inquiry into the molecular basis of HSV latency and reactivation. *Annu Rev Microbiol* 2013; 67(5): 355–374. doi: 10.1146/annurev-micro-092412-155654.
- Young LS, Murray PG. Epstein-Barr virus and oncogenesis: from latent genes to tumours. *Oncogene* 2003; 22(33): 5108–5512. doi: 10.1038/sj.onc.1206556.
- Maeda E, Akahane M, Kiryu S et al. Spectrum of Epstein-Barr virus-related diseases: a pictorial review. *Jpn J Radiol* 2009; 27(1): 4–19. doi: 10.1007/s11604-008-0291-2.
- Edelman DC. Human herpesvirus 8 – A novel human pathogen. *Virology* 2005; 2: 18. doi: 10.1186/1743-422X-2-78.
- Metgud R, Astekar M, Verma M et al. Role of viruses in oral squamous cell carcinoma. *Oncol Rev* 2012; 6(2): e21. doi: 10.4081/oncol.2012.e21.
- Gupta K, Metgud R. Evidence suggesting involvement of viruses in oral squamous cell carcinoma. [online]. Available from: <http://dx.doi.org/10.1155/2013/622496>.
- Aurelian L, Schumann B, Marcus RL et al. Antibody to HSV-2 induced tumor specific antigens in serums from patients with cervical carcinoma. *Science* 1973; 181(4095): 161–164.
- Nahmias AJ, Naib ZM, Josey WE et al. Prospective studies of the association of genital herpes simplex infection and cervical anaplasia. *Cancer Res* 1973; 33(6): 1491–1497.
- Sabin AB, Tarro G. Herpes simplex and herpes genitalis viruses in etiology of some human cancers. *Proc Natl Acad Sci USA* 1973; 70(11): 3225–3229.
- Aurelian L. Virions and antigens of herpes virus type 2 in cervical carcinoma. *Cancer Res* 1973; 33(6): 1539–1547.
- Goldberg RJ, Gravell M. A search for herpes simplex virus type 2 markers in cervical carcinoma. *Cancer Res* 1976; 36(2): 795–799.
- Thankamani V, Kumari TV, Vasudevan DM. Detection of herpes simplex virus type 2 antigen(s) in biopsies from carcinoma of uterine cervix. *J Exp Pathol* 1985; 2(2): 123–133.
- Aurelian L, Standberg JD, Melendez LV et al. Herpes virus type 2 isolated from cervical tumor cells grown in tissue culture. *Science* 1971; 174(4010): 704–707.
- Li S, Wen X. Seropositivity to herpes simplex virus type 2, but not to type 1 is associated with cervical cancer: NHANES (1999–2014). *BMC Cancer* 2017; 17(1): 726. doi: 10.1186/s12885-017-3734-2.
- Koanga MML, Ngono NA, Ngawa G et al. Association of cervical inflammation and cervical abnormalities in women infected with herpes simplex virus 2 (HSV2). *Int J Trop Public Health* 2014; 4(1): 10–14.
- Tomkins A, White C, Higgins SP. Primary herpes simplex virus infection mimicking cervical cancer. *BMJ Case Reports* 2015; 2015. pii: bcr2015210194. doi: 10.1136/bcr-2015-210194.
- Vonka V, Kanka J, Hirsch I et al. Prospective study on the relationship between cervical neoplasia and herpes simplex type 2 virus. II. Herpes simplex type 2 antibody presence in sera taken at enrollment. *Int J Cancer* 1984; 33(1): 61–66.
- Lehtinen M, Koskela P, Jellum E et al. Herpes simplex virus and risk of cervical cancer: A longitudinal, nested case-control study in the nordic countries. *Am J Epidemiol* 2002; 156(8): 687–692.
- Bosch FX, Lorincz A, Munoz N et al. The casual relation between human papillomavirus and cervical cancer. *J Clin Pathol* 2002; 55(4): 244–265.
- Burd EM. Human papillomavirus and cervical cancer. *Clin Microbiol Rev* 2003; 16(1): 1–17.
- Váňová B, Golais F. Onkogénny potenciál papilómavírusov. *Klin Onkol* 2013; 26(6): 399–403.
- Smith JS, Herrero R, Bosetti C et al. Herpes simplex virus-2 as a human papillomavirus cofactor in the etiology of invasive cervical cancer. *J Natl Cancer Inst* 2002; 94(21): 1604–1613.
- Szostek S, Zawilinska B, Kopec J et al. Herpesviruses as possible cofactors in HPV-16 related oncogenesis. *Acta Biochim Pol* 2009; 56(2): 337–342.
- Zhao Y, Cao X, Zheng Y et al. Relationship between cervical disease and infection with human papillomavirus types 16 and 18, and herpes simplex virus 1 and 2. *J Med Virol* 2012; 84(12): 1920–1927. doi: 10.1002/jmv.23353.
- Weismanová E, Weismann P. HPV a krčok maternice: Genetická podstata malignej transformácie bunky. *Onkológia*; 2008; 3(6): 389–392.
- Ortoski RA, Kell CS. Anal cancer and screening guidelines for human papillomavirus in men. *J Am Osteopath Ass* 2011; 111(3 suppl 2): S35–S43.
- Raju K. Virus and cervical cancer: Role and implication: A review. *Biomed Res Ther* 2015; 2(3): 220–230. doi: 10.7603/s40730-015-0007-z.
- Parker TM, Smith EM, Ritchie JM et al. Head and neck cancer associated with herpes simplex virus 1 and 2 and other risk factors. *Oral Oncol* 2006; 42(3): 288–296. doi: 10.1016/j.oraloncology.2005.08.003.
- Shillitoe EJ, Silverman S. Oral cancer and herpes simplex virus – a review. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1979; 48(3): 216–224.
- Vijayakumar T, Kumari TV, Vasudevan DM et al. Demonstration of HSV-1 antigen in patients with oral cancer by immunofluorescence and immunoperoxidase techniques. *J Exp Pathol* 1987; 3(1): 75–86.
- Steele C, Shillitoe EJ. Viruses and oral cancer. *Crit Rev Oral Biol Med* 1991; 2(2): 153–175.
- Star JR, Daling JR, Fitzgibbons ED et al. Serologic evidence of herpes simplex virus 1 infection and oropharyngeal cancer risk. *Cancer Res* 2001; 61(23): 8459–8464.
- Jain M. Assessment of correlation of herpes simplex virus-1 with oral cancer and precancer – A comparative study. *J Clin Diagn Res* 2016; 10(8): 14–17. doi: 10.7860/JC DR/2016/18593.8229.
- Osman AH, Enan KA, Mohamed EA. Molecular detection of herpes simplex virus (1,2) in oral squamous cell carcinoma at Khartoum. *Clin Med J* 2017; 3(2): 10–14.
- Lowenthal BM, Lin GY. Herpes simplex virus positive, human papillomavirus negative laryngeal squamous cell carcinoma presenting in an immunocompetent male with dysphonia. *Hum Pathol* 2017; 10: 50–51. doi: 10.1016/j.jehpc.2017.06.001.
- Devillers-Mendoza DD, Chang JV. Cytopathologic herpes simplex virus features in laryngeal squamous cell carcinoma. *Philipp J Otolaryngol Head Neck Surg* 2016; 31(1): 61–64.
- Turunen A, Hukkanen V, Kulmala J et al. HSV-1 infection modulates the radioresponse of a HPV16 positive head and neck cancer cell line. *Anticancer Res* 2016; 36(2): 565–574.
- Jensen K, Patel A, Hoperia V et al. Human herpes simplex viruses in benign and malignant thyroid tumours. *J Pathol* 2010; 221(2): 193–200. doi: 10.1002/path.2701.
- Stamatiou DP, Derdas SP, Zoras OL et al. Herpes and polyoma family viruses in thyroid cancer. *Oncol Lett* 2016; 11(3): 1635–1644. doi: 10.3892/ol.2016.4144.
- Kofman A, Marcinkiewicz L, Dupart E et al. The roles of viruses in brain tumorigenesis and oncomodulation. *J Neurooncol* 2011; 105(3): 451–466. doi: 10.1007/s11060-011-0658-6.
- Thomas F, Elguero E, Brodeur J et al. Herpes simplex virus type 2 and cancer: A medical geography approach. *Int Genet Evol* 2011; 11(6): 1239–1242. doi: 10.1016/j.meegid.2011.04.009.
- Ypiranga S, de Moraes AM. Prevalence of human herpes virus type 1 in epithelial skin cancer. *An Bras Dermatol* 2009; 84(2): 137–142.
- Modrow S, Falke D, Truyen U (eds). *Molekulare Virologie*. 3. vydání. Heidelberg: Spektrum Akademischer Verlag 2010: 45–52.
- Freshney RI. *Culture of animal cells: A manual basic technique and specialized applications*. 6th edition. Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons 2011: 279–297.
- Duff R, Rapp F. Properties of hamster embryo fibroblasts transformed in vitro after exposure to ultraviolet-irradiated herpes simplex virus type 2. *J Virol* 1971; 8(4): 469–477.
- Rapp F, Duff R. Transformation of hamster embryo fibroblasts by herpes simplex viruses type 1 and 2. *Cancer Res* 1973; 33(6): 1527–1534.
- Boyd AL, Orme TW. Transformation of mouse cells after infection with ultraviolet irradiation-inactivated herpes simplex virus type 2. *Int J Cancer* 1975; 16(4): 526–538.
- Rapp F, Reed C. Experimental evidence for the oncogenic potential of herpes simplex virus. *Cancer Res* 1976; 36(2): 800–806.
- Simas JP, Efstathiou S. Murine gammaherpesvirus 68: a model for the study of gammaherpesvirus pathogenesis. *Trends Microbiol* 1998; 6(7): 276–282.
- Mistríková FJ, Rašlová H, Mirmusová M et al. A murine gammaherpesvirus. *Acta virol* 2000; 44(3): 211–226.
- Nash AA, Dutia BM, Stewart JP et al. Natural history of murine gammaherpesvirus infection. *Phil Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2001; 356(1408): 569–579. doi: 10.1098/rstb.2000.0779.

52. Mrázová V, Betáková T, Kudelová M et al. Murine gammaherpesvirus (MHV-68) transforms cultured cells in vitro. *Intervirology* 2015; 58(2): 69–72. doi: 10.1159/000370071.
53. Li JL, Jerkofsky MA, Rapp F. Demonstration of oncogenic potential of mammalian cells by DNA-containing viruses following photodynamic inactivation. *Int J Cancer* 1975; 15(2): 190–202.
54. Kucera LS, Gusdon JP, Edwards I et al. Oncogenic transformation of rat embryo fibroblasts with photoinactivated herpes simplex virus: rapid in vitro cloning of transformed cells. *J Gen Virol* 1977; 35(3): 473–485. doi: 10.1099/0022-1317-35-3-473.
55. Yen GSL, Simon EH. Photosensitization of herpes simplex virus type 1 with neutral red. *J Gen Virol* 1978; 41(2): 273–281.
56. Takahashi M, Yamanishi K. Transformation of hamster embryo and human embryo cells by temperature sensitive mutants of herpes simplex virus type 2. *Virology* 1974; 61(1): 306–311.
57. Darai G, Braun R, Flügel RM et al. Malignant transformation of rat embryo fibroblasts by herpes simplex virus types 1 and 2 at suboptimal temperature. *Nature* 1997; 265(5596): 744–746.
58. Wentz WB, Reagan JV, Heggle AD et al. Induction of uterine cancer with inactivated herpes simplex virus types 1 and 2. *Cancer* 1981; 48(8): 1787–1790.
59. Anthony DD, Wentz WB, Reagan JW et al. Induction of cervical neoplasia in the mouse by herpes simplex virus type 2 DNA. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; 86(12): 4520–4524.
60. Skinner GR. Transformation of primary hamster fibroblasts by type 2 herpes simplex virus: evidence for a „hit and run“ mechanism. *Br J Exp Path* 1976; 57(4): 361–376.
61. Galloway DA, McDoughall JK. The oncogenic potential of herpes simplex viruses: evidence for a „hit-and-run“ mechanism. *Nature* 1983; 302(5903): 21–24.
62. McDoughall JK. „Hit and run“ transformation leading to carcinogenesis. *Dev Biol (Basel)* 2001; 106: 77–82.
63. Stevenson PG, May JS, Connor V et al. Vaccination against a „hit and run“ viral cancer. *J Gen Virol* 2010; 91(9): 2176–2185. doi: 10.1099/vir.0.023507-0.
64. Galloway DA, Copple CD, McDoughall JK. Analysis of viral DNA sequences in hamster cells transformed by herpes simplex virus type 2. *Proc Natl Acad Sci USA* 1980; 77(2): 880–884.
65. Reyes GR, LaFemina R, Hayward SD et al. Morphological transformation by DNA fragment of human herpesviruses: Evidence for two distinct transforming regions in herpes simplex viruses types 1 and 2 and lack of correlation with biochemical transformation of the thymidine kinase gene. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol* 1980; 44(1): 629–641.
66. Galloway DA, Nelson JA, McDoughall JK. Small fragments of herpesvirus DNA with transforming activity contain insertion sequence-like structures. *Proc Natl Acad Sci USA* 1984; 81(15): 4736–4740.
67. Hayashi Y, Iwasaka T, Smith CC et al. Multistep transformation by defined fragments of herpes simplex virus type 2 DNA: oncogenic region and its gene products. *Proc Natl Acad Sci USA* 1985; 82(24): 8493–8497.
68. Cameron IR, Park M, Dutia BM et al. Herpes simplex virus sequences involved in the initiation of oncogenic morphological transformation of rat cells are not required for maintenance of the transformed state. *J Gen Virol* 1985; 66(3): 517–527. doi: 10.1099/0022-1317-66-3-517.
69. Bauer G, Kahl S, Sawhney IS et al. Transformation of rodent fibroblasts by herpes simplex virus: Presence of morphological transforming region 1 (MTR1) is not required for the maintenance of the transformed state. *Int J Cancer* 1992; 51(5): 754–760.
70. Niller HH, Wolf H, Minarovits J. Viral hit and run-oncogenesis: Genetic and epigenetic scenarios. *Cancer Lett* 2011; 305(2): 200–217. doi: 10.1016/j.canlet.2010.08.007.
71. Filipkakis H, Spandidos DA, Sourvinos G. Herpesviruses: Hijacking the Ras signaling pathway. *Biochim Biophys Acta* 2010; 1803(7): 777–785. doi: 10.1016/j.bbamcr.2010.03.007.
72. Spandidos DA, Sourvinos G, Tsatsanis C et al. Normal ras genes: their onco-suppressor and pro-apoptotic functions (review). *Int J Oncol* 2002; 21(2): 237–241.
73. Smith CC, Kulka M, Wymer JP et al. Expression of the large subunit of herpes simplex virus type 2 ribonucleotide reductase (ICP10) is required for virus growth and neoplastic transformation. *J Gen Virol* 1992; 73(6): 1417–1428. doi: 10.1099/0022-1317-73-6-1417.
74. Smith CC, Aurelian L. The large subunit of herpes simplex virus type 2 ribonucleotide reductase (ICP10) is associated with the virion tegument and has PK activity. *Virology* 1997; 234(2): 235–242.
75. Aurelian L. Herpes simplex virus type 2: unique biological properties include neoplastic potential mediated by the PK domain of the large subunit of ribonucleotide reductase. *Front Biosci* 1998; 3: 237–249.
76. Perkins D, Pereira EF, Aurelian L. The herpes simplex virus type 2 R1 protein kinase (ICP10PK) functions as a dominant regulator of apoptosis in hippocampal neurons involving activation of the ERK survival pathway and upregulation of the antiapoptotic protein Bag-1. *J Virol* 2003; 77(2): 1292–1305.
77. Smith CC. The herpes simplex virus type 2 protein ICP10PK: a master of versatility. *Front Biosci* 2005; 10: 2820–2831.
78. Aurelian L, Kessler II, Rosenhein NB et al. Viruses and gynecologic cancers: herpesvirus protein (ICP10/AG-4): a cervical tumor antigen that fulfills the criteria for a marker of cancerogeneity. *Cancer* 1981; 48 (Suppl 2): 455–471.
79. Aurelian L, Smith CC, Klacsman KT et al. Expression and cellular compartmentalization of a herpes simplex type 2 protein (ICP10) in productively infected and cervical tumor cells. *Cancer Invest* 1983; 1(4): 301–313.
80. Iwasaka T, Smith C, Aurelian L et al. The cervical tumor-associated antigen (ICP10/AG4) is encoded by the transforming region of the genome of herpes simplex virus type 2. *Jpn J Canc Res* 1985; 76(10): 946–958.
81. Smith CC, Yu YX, Kulka M et al. A novel human gene similar to the protein kinase (PK) coding domain of the large subunit of herpes simplex virus type 2 ribonucleotide reductase (ICP10) codes for a serine-threonine PK and is expressed in melanoma cells. *J Biol Chem* 2000; 275(33): 25690–25699. doi: 10.1074/jbc.M002140200.
82. Sze P, Herman RC. The herpes simplex virus type 1 ICP6 gene is regulated by a „leaky“ early promoter. *Virus Res* 1992; 26(2): 141–152.
83. Matis J, Kudelová M. Early shutoff of host protein synthesis in cells infected with herpes simplex viruses. *Acta virol* 2001; 45(5–6): 269–277.
84. LaThangue NB, Latchman DS. A cellular protein related to heat-shock protein 90 accumulated during virus infection and is overexpressed in transformed cells. *Exp Cell Res* 1988; 178(1): 169–179.
85. Mackowiak PA, Goggans ML, Raese J et al. Heat-shock protein induction by herpes simplex virus type 1 in MD canine kidney cells. *J Therm Biol* 1992; 17(3): 169–174. doi: 10.1016/0306-4565(92)90029-F.
86. Galvan V, Roizman B. Herpes simplex virus 1 induced and blocks apoptosis at multiple steps during infection and protects cells from exogenous inducers in a cell-type-dependent manner. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95(7): 3931–3936.
87. Nguyen ML, Blaho AJ. Apoptosis during herpes simplex virus infection. *Adv Virus Res* 2007; 69: 67–97. doi: 10.1016/S0065-3527(06)69002-7.
88. Nunes-Alves C. Viral pathogenesis: HSV avoids the RIPper. *Nature Rev Microbiol* 2015; 13(4): 185–189. doi: 10.1038/nrmicro3453.
89. Pfeffer S, Voinnet O. Viruses, microRNAs and cancer. *Oncogene* 2006; 25(46): 6211–6219. doi: 10.1038/sj.onc.1209915.
90. Friedman JM, Jones PA. MicroRNAs: critical mediators of differentiation, development and disease. *Swiss Med Wkly* 2009; 139(33–34): 466–472. doi: smw-12794.
91. Zhuo Y, Gao G, Shi JA et al. MiRNAs, biogenesis, origin and evolution, functions on virus-host interaction. *Cell Physiol Biochem* 2013; 32(3): 499–510. doi: 10.1159/000354455.
92. Grundhoff A, Sullivan CS. Virus-encoded microRNAs. *Virology* 2011; 411(2): 325–343. doi: 10.1016/j.virol.2011.01.002.
93. Boss IW, Plaisance KB, Renner R. Role of virus-encoded microRNAs in herpesvirus biology. *Trends Microbiol* 2009; 17(12): 544–553. doi: 10.1016/j.tim.2009.09.002.
94. Sun L, Li Q. The microRNAs of Herpes simplex virus (HSV). *Cell Sin* 2012; 27(6): 332–337.
95. Umbach JL, Kramer MF, Jurak I et al. MicroRNAs expressed by herpes simplex virus 1 during latent infection regulate viral mRNA. *Nature* 2008; 454(7205): 780–783. doi: 10.1038/nature07103.
96. Grey F. Role of microRNAs in herpesvirus latency and persistence. *J Gen Virol* 2015; 96(4): 739–751. doi: 10.1099/vir.0.070862-0.
97. Feldman ER, Tibbetts SA. Emerging roles of herpesvirus microRNAs during in vivo infection and pathogenesis. *Curr Pathobiol Rep* 2015; 3(3): 209–217. doi: 10.1007/s40139-015-0085-z.
98. Pandya D, Mariani M, McHugh M et al. Herpes simplex virus microRNA expression and significance in serous ovarian cancer. *PLoS One* 2014; 9(12): e114750. doi: 10.1371/journal.pone.0114750.
99. Yun SJ, Jeong P, Kang HW et al. Urinary microRNAs of prostate cancer: virus-encoded hsv1-miR-H18 and hsv2-miR-H9-5p could be valuable diagnostic markers. *Int Neurourol J* 2015; 19(2): 74–84. doi: 10.5213/inj.2015.19.2.74.
100. Yun SJ, Jeong P, Kang HW et al. Increased expression of herpes-virus-encoded hsv1-miR-H18 and hsv2-miR-H9-5p in cancer-containing prostate tissue compared to that in benign prostate hyperplasia tissue. *Int Neurourol J* 2016; 20(2): 122–130. doi: 10.5213/inj.1632552.276.
101. Wang X, Lin S, Zhou Z et al. A herpes simplex virus type 2-encoded microRNA promotes cell metastasis by targeting suppressor of cytokine signaling 2 in lung cancer. *Tumour Biol* 2017; 39(5): 1010428317701633. doi: 10.1177/1010428317701633.
102. Golais F, Sabó A, Bačíková D. Transforming activity of crude extract of pseudorabies virus-transformed cells. *Acta virol* 1988; 32(1): 83–85.
103. Golais F, Csabayová M, Leško J et al. Herpes simplex virus type 2 and pseudorabies virus associated growth factors and their role in the latency invitro. *Acta virol* 1992; 36(6): 505–515.
104. Golais F, Košťál M, Csabayová M et al. The glycoprotein B gene and its syn3 locus of herpes simplex virus type 1 are involved in the synthesis of virus-associated growth factor (HSGF-1). *Acta virol* 1992; 36(6): 516–523.
105. Konvalina I, Gašperik J, Golais F. A novel class of growth factors related to herpesviruses. *Acta vet* 2002; 71(1): 29–36.
106. Šupolíková M, Vojts Staňová A, Kudelová M et al. Cells transformed by murine herpesvirus 68 (MHV-68) release compound with transforming and transformed phenotype repressing activity resembling growth factors. *Acta virol* 2015; 59(4): 418–422.
107. Haverkos H, Rohrer M, Pickworth W. The cause of invasive cervical cancer could be multifactorial. *Biomed Pharmacother* 2000; 54(1): 54–59.
108. Moody CA, Laimins LA. Human papillomavirus oncoproteins: pathways to transformation. *Nat Rev Cancer* 2010; 10(8): 550–560. doi: 10.1038/nrc2886.
109. Burd EM. Human papillomavirus and cervical cancer. *Clin Microbiol Rev* 2003; 16(1): 1–17.