

Pasterov zavod, Novi Sad¹
Dom zdravlja Ada, Dispanzer za žene²

Originalni naučni rad
Original study
UDK 616.523:618.51:616-006.04

HERPES SIMPLEKS VIRUS I MALIGNOMI GENITALNIH ORGANA ŽENA

HERPES SIMPLEX VIRUS AND MALIGNANCIES OF THE FEMALE GENITAL TRACT

Jelena ČOKIĆ-DAMJANOVIĆ¹, Edit HORVAT² i Andraš BALOG²

Sažetak - Herpes simpleks virus izaziva široku skalu oboljenja, a vrlo često se infekcija ovim virusom dovodi u vezu sa nastankom malignoma na genitalnim organima žena. Prisustvo antigena herpes simpleks virusa u malignom tkivu dokazivano je metodom direktne i indirektno tehnike fluorescentnih antitela. Analizirana su 63 uzorka malignog tkiva. Deset uzoraka poticalo je od malignoma vulve, 25 uzoraka vaginalne porcije materice, a 28 bilo je endometrijalnog porekla. Kontrolna grupa bila je predstavljena sa 50 uzoraka tkiva prolapsa materice. Od 63 uzorka malignog tkiva u 42 je potvrđeno prisustvo antigena herpes simpleks virusa, što iznosi 67,3%. Na 19 uzoraka rađena je tipizacija. U tri uzorka antigen herpes simpleks virusa pripadao je tipu 1, a u 16 uzoraka tipu 2. Analizirani su parni uzorci seruma, preoperativni i postoperativni, na prisustvo anti-herpes simpleks virusa antitela i u svim ispitivanim uzorcima ova antitela pripadala su IgG klasi. Koeficijent multiple korelacije - prisustvo antigena herpes simpleks virusa u malignom tkivu u odnosu na prisustvo anti-herpes simpleks virus antitela u preoperativnom serumu, kao i pad njihovog titra u postoperativnom serumu, veoma je visok i $R_{012}=0,91$, a testiranjem značajnosti F testom dobijeno je da je korelacija značajna. U kontrolnoj grupi ni u jednom uzorku nije potvrđeno prisustvo antigena herpes simpleks virusa. U serumu 6 žena iz kontrolne grupe bila su prisutna anti-herpes simpleks virus antitela ali nije došlo do postoperativnog pada u drugom uzorku. Kornealnom skarifikacijom kunića acelularnim filtratom malignog tkiva nisu izazvane tipične herpetične promene, jedino su uočene blage inflamcijske promene, što ukazuje na odsustvo kompletnog infektivnog viriona.

Cljučne reči: Herpes simpleks virus; Genitalne neoplazme kod žena; Endometrijalne neoplazme; Neoplazme vulve; Vaginalne neoplazme

Prema genetskoj informaciji koju nosi, herpes simpleks virus (HSV) spada u grupu DNA virusa. Sposoban je da izazove široku skalu oboljenja. Ulaskom virusa u prijemčivu ćeliju tokom primoinfekcije, nastaje produktivna faza u kojoj se virus umnožava i ispoljava citocidno delovanje. Pod uticajem specifičnih i nespecifičnih odbrambenih mehanizama organizma, nastaje remisija. Primoinfekcija biva savladana i dolazi do ravnoteže između domaćina i parazita - nastaje latentna faza, što omogućuje virusu jedinstvenu sposobnost preživljavanja u prirodi. Egzacerbacija latentnog procesa javlja se kao odgovor na trenutno oslabljeni imuni mehanizam usled stresnih stanja. Posle egzacerbacije, HSV se širi nervnim putem ascendentno i descendentno do ciljnih organa. Genitalni organi žena su često zahvaćeni HSV infekcijom, gde virus kao hronična noksa može da ošteti vitalnu strukturu ili funkciju ćelije u takvoj meri da ne uzrokuje citolizu, nego inicira transformaciju ćelije [1].

Transformacija normalne ćelije u malignu najčešće je uzrokovana fizičkim i hemijskim kancerogenima ili virusima sa onkogenim potencijalom u koje se ubraja i HSV. Onkogeni potencijal sve više privlači pažnju naučnika. Prva istraživanja su bazirana uglavnom na ispitivanju serološko epidemiološke povezanosti infekcije ovim virusom sa nastankom malignog procesa na ženskim genitalnim organima. Egzaktniji rezultati su dobijeni traženjem antigena HSV u premalignom i malignom tkivu grlića materice. Metodom tehnike fluorescentnih antitela (TFA) i peroksidaza testom potvrđeno je prisustvo ranog

nestrukturnog proteina u značajnom broju uzoraka [2]. Antigen kapsidnog proteina nije dokazivan. Elektronskim mikroskopom nije potvrđeno prisustvo kompletnog infektivnog virusa, niti se on mogao izolovati na kulturi ćelija [3]. Ovi rezultati ukazuju na to da se rani nestrukturani protein HSV u premalignom i malignom tkivu proizvodi bez prisustva kompletnog virusa, što znači da su to fragmenti virusnog genoma, sadržani unutar genoma transformisane ćelije, a njihovom ekspresijom dolazi do produkcije HSV ranog nestrukturnog proteina [4,5,6]. Suštinsko pitanje je koja je uloga HSV u etiopatogenezi malignoma ženskih genitalnih organa, da li je ovaj virus jedan od mogućih faktora onkogeneze ili je samo sekundarno prisutan.

Postoje brojni radovi koji dovode u vezu genitalnu HSV infekciju i razvoj malignog procesa na vulvi i vaginalnoj porciji materice (PVU), međutim, na telu materice HSV infekcija i nastanak malignog procesa se uglavnom još uvek vrlo stidljivo razmatraju [7,8,9].

Da bi terapija bila uspešna, neophodno je poznavati uzročnika. Maligna obolenja ženskih genitalnih organa imaju širok dijapazon mogućih ali još uvek nedovoljno potvrđenih etioloških faktora. Cilj istraživanja bio je da se imunološkim metodama pokuša ispitati uloga herpes virusa ne samo kod malignoma vulve i PVU nego i na telu materice. Na osnovu saznanja stečenih ovim istraživanjima mogao bi se dodati još jedan beočug u nizu pokušaja da se ova problematika osvetli sa više strana, a konačni je cilj

Skraćenice

HSV	- herpes simpleks virus
DNA	- dezoksiribonukleinska kiselina
TFA	- tehnika fluorescentnih antitela
PVU	- vaginalna porcija materice

da se upoznavanjem uzročnika doprinese smanjenju morbiditeta i mortaliteta žena.

Materijal i metode

U radu su korišćeni bolesnički materijal i eksperimentalne životinje.

Bolesnički materijal je poticao od pacijentkinja koje su bile podeljene u ispitivanu i kontrolnu grupu.

Ispitivanu grupu su činile bolesnice kod kojih je patohistološki potvrđen maligni proces na vulvi, PVU i telu materice.

U kontrolnoj grupi bile su žene sa prolapsom uterusa bez malignog procesa.

Ispitivani su parni, tj. preoperativni i postoperativni uzorci seruma (I i II) na prisustvo anti-HSV antitela elisa enzimskom sistemom. Titar manji od 1:8 smatran je negativnim nalazom.

Postoperativni serum je uziman dva meseca posle operativnog odstranjivanja malignog tkiva.

Prisustvo antigena HSV u krio rezovima tkiva dokazivano je tehnikom indirektno imunofluorescencije. U pozitivnim uzorcima bile su prisutne fluorescentne čestice tipične za HSV - u obliku mrvičastih struktura lokalizovanih u jedru i jedarnoj opni, a najčešće je njima ispunjena i citoplazma koja blješti - a ta lokalizacija je tipična za protražirane - hronične infekcije ćelija ovim virusom. Negativni preparati bili su tamni uz naziruće konture ćelija.

Tipizacija HSV u malignom tkivu rađena je metodom direktne imunofluorescencije reagencijom "Syro-Microtec HSV 1,2". Direct identification. Typing test - Japan.

Kornealna skarifikacija

Pokušaj izolacije HSV iz malignog tkiva rađen je kornealnom skarifikacijom kunića, starih oko 4 meseca i težine oko 3 kg, acelularnim filtratom malignog tkiva, dobijenog ultrazvučnom destrukcijom. Za svaku lokalizaciju malignoma korišćen je po jedan kunić. Praćene su eventualne herpetične promene na korneji. Na levu korneju nanošen je acelularni filtrat, a desna je služila kao kontrola i skarifikovana je fiziološkim rastvorom. Jedan kunić je skarifikovan acelularnim filtratom tkiva PVU odstranjenim zbog prolapsa koji je služio kao kontrola. Drugi kunić je skarifikovan herpes simpleks virusom sa kulture ćelija što je bila pozitivna kontrola.

Za statističku obradu podataka korišćen je koeficijent korelacije i koeficijent multiple korelacije. Testirana je značajnost multiplog koeficijenta korelacije F- testom.

R_0 = korelacija Atg u tkivu i At u serumu

$R_0 = 0,99$
 $t = 9,9$, tablični -5,84 pri nivou poverenja? $p < 0,01$

$R_{1,2}$ - korelacija At u preoperativnom i postoperativnom serumu

$R_{1,2} = 0,75$
 Koeficijent multiple korelacije $R_{0,1,2} = 0,91$
 Testiranje značajnosti F testom $F = 130,4$. Očitavanjem u tabelama, korelacija značajna.

Rezultati

Krio rezovi operativno odstranjenog malignog tkiva poreklom od 63 bolesnice sa patohistološki verifikovanim malignim procesom na raznim lokalizacijama genitalnog trakta, analizirani su na prisustvo antigena HSV metodom indirektno TFA. Krio rezovi tkiva materice 50 žena operisanih zbog prolapsa materice - služili su kao kontrolna grupa.

Odnos lokalizacije malignog procesa i godina starosti žena ispitivane i kontrolne grupe, prikazan je u tabeli 1, gde se uočava da su malignomi vulve i endometrijuma učestaliji kod starijih žena, i to posebno u dobi od 50 do 59 i 60 do 69 godina, dok je maligni proces na PVU učestaliji kod žena u starosnoj grupi od 30 do 39 godina.

Tabela 1. Lokalizacija tumora u odnosu na starost

Table 1. Age distribution and tumor location

Lokalizacija tumora	Godine starosti/Age						
Tumor location	20-29	30-39	40-49	50-59	60-69	≥ 70	Total
Vulva	-	1	-	2	5	2	10
PVU	3	16	3	2	1	-	25
Endometrium	-	-	3	15	9	1	28
Total	3	17	6	19	15	3	63
Prolapsus	-	2	13	27	6	2	50

Od ukupno 63 uzorka malignog tkiva u 42 je potvrđeno prisustvo antigena HSV, što iznosi 67,3%. Prema lokalizaciji najviše je bilo pozitivnih uzoraka u malignom tkivu poreklom sa PVU gde je procenat iznosio 76%. Ovi rezultati su prikazani u prvom delu table 2. Ni u jednom od 50 uzoraka tkiva iz kontrolne grupe nije bilo potvrđeno prisustvo antigena HSV.

U drugom delu table 2 prikazano je prisustvo anti-HSV antitela u 63 preoperativna uzorka seruma u odnosu na lokalizaciju procesa i prisustva antigena u tkivu. U 40 seruma od ukupno 63 prisutna su anti-HSV antitela u ispitivanoj grupi, a to iznosi 64,3%. U kontrolnoj grupi je šest od 50 uzoraka bilo pozitivno, 12%. Kod dve bolesnice sa malignim procesom na PVU i prisustvom antigena HSV u tkivu, anti-HSV antitela u serumu nisu bila dokazana.

Koeficijent korelacije Atg u tkivu i At u serumu je visok i R_0 je 0,99, a testiranjem značajnosti R_0 dobijena je visoka značajnost.

Parni - II uzorak seruma dobijen je tri meseca posle operacije. Obradeno je ukupno 38 seruma kao

Tabela 2. Prisustvo HSV antigena u tkivu, antitela u I uzorku i kretanje titra u II uzorku seruma

Table 2. Presence of HSV antigens in tissues, antibodies in I sera sample and change of titer in II sera sample

Lokalizacija <i>Location</i>	HSV antigeni <i>HSV antigens</i>				HSV antitelo u I uzorku/ <i>HSV anti- body in I sample</i>				Titar u II uzorku <i>Titer in II sample</i>		
	pozitivan <i>positive</i>		negativan <i>negative</i>		pozitivan <i>positive</i>		negativan <i>negative</i>		D	U	Σ
	n	%	n	%	n	%	n	%			
Vulva	5	50	5	50	5	50	5	50	3	1	4
PVU	19	76	6	24	17	68	8	32	18	-	18
Endometrium	18	65	10	35	18	65	10	35	15	1	16
Σ	42	67,3	21	33	40	64,3	23	35,7	36	2	38
Prolapsus	-	-	50	100	6	12	46	88	-	50	50

Legenda: D - Opao/Decreased; U - Nepromenjen/Unchanged

II uzorak, koji je pripadao bolesnicama sa potvrđenim prisustvom atg HSV u tkivu i anti-HSV antitelom u prvom (I) uzorku seruma. Od 38 pozitivnih seruma, u 36 je došlo do evidentnog snižavanja titra anti-HSV antitela, dok je u dva uzorka titar ostao nepromenjen. Rezultati su prikazani u trećem delu tabele 2. Koeficijent multiple korelacije, koji se odnosi na prisustvo virusnog antigena u tkivu, antitelo u serumu kao i pad titra u II uzorku seruma je visok i iznosi 0,91, a testiranjem F - testom potvrđeno je da je korelacija značajna.

Antitela u I i II uzorcima seruma pripadala su IgG klasi, a IgM antitela nije bilo ni u jednom uzorku.

Tipizacija HSV antigena monoklonskim antitelima i metodom direktne TFA urađena je na 19 uzoraka malignog tkiva, a rezultati su prikazani u tabeli 3, gde se uočava da je u dva uzorka endometrijalnog malignoma kao i jednom uzorku PVU virus pripadao tipu HSV 1, a u ostalim uzorcima bio je prisutan antigen HSV 2.

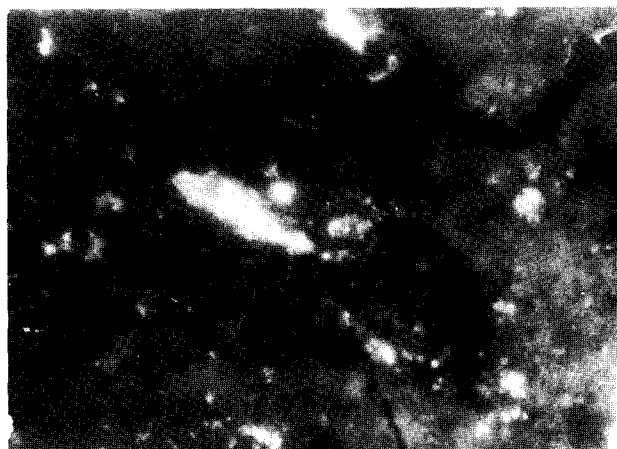
Tabela 3. Tipizacija HSV u malignom tkivu

Table 3. HSV type in malignant tissue

	Tipizacija HSV/Type of HSV		Ukupno/Total
	HSV1	HSV2	
Vulva	-	3	3
PVU	1	7	8
Endo	2	5	8
Ukupno/Total	3	15	19

Na slici 1 prikazan je HSV antigen u malignomu endometriju potvrdjen indirektnom TFA. Slika 2 predstavlja HSV antigen u endometriju potvrdjen direktnom TFA i pripada HSV tipu 2. Na slici 3 prikazan je antigen HSV 2 u tkivu malignoma vulve potvrdjen metodom direktne TFA.

Za potvrđivanje prisustva kompletnog infektivnog virusa primenjena je metoda kornealne skarifikacije kunića acelularnim filtratom malignog tkiva, u kojoj je metodom TFA potvrđeno prisustvo antigena HSV. Acelularni filtrat je dobijen ultrazvučnim razbijanjem malignog tkiva i centrifugiranjem izdvojeni supernatant je služio kao inokulum.

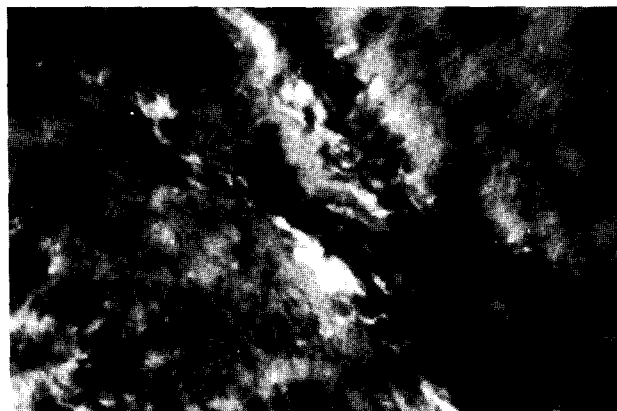


Slika 1. HSV antigen u malignom tkivu endometrija. Indirektna TFA

Fig. 1. HSV antigen in endometrial malignant tissue. Indirect fluorescent antibody (IFA) test

Po tri acelularna filtrata malignog tkiva vulve, PVU i endometrija korišćen je za kornealnu skarifikaciju kunića. Uzorci su birani na osnovu potvrđenog prisustva antigena u malignom tkivu, direktnom i indirektnom TFA, prisustvo antitela u preoperativnom i padu titra antitela u postoperativnom serumu.

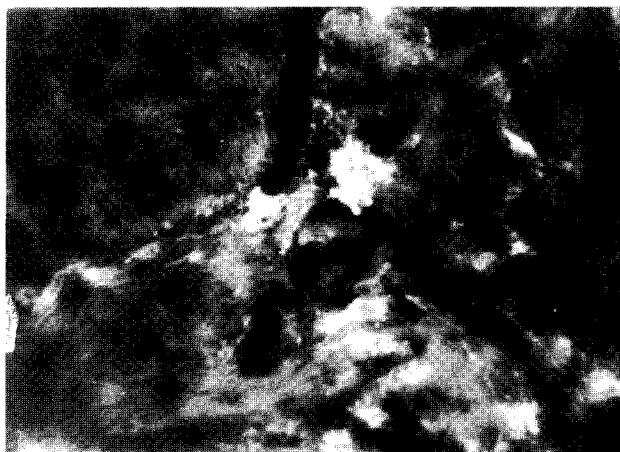
Posmatranje je obavljeno u periodu od 12 sati do sedam dana i dobijeni su sledeći rezultati.



Slika 2. HSV antigen tip 2 u malignom tkivu endometrija. Direktna TFA

Fig. 2. HSV antigen type 2 in endometrial malignant tissue. Direct fluorescent antibody (DFA) test

Na levom oku devet kunića, gde je skarifikacija radena acelularnim filtratom malignih tkiva, 24 sata nakon skarifikacije javila se blaga inflamacija korneje, koja se povukla nakon sledeća 24 sata. U periodu posmatranja od sedam dana razvoj vezikula tipičnih za HSV ni kod jednog kunića nije bio evidentiran. Na desnoj korneji istih kunića skarifikacija je obavljena fiziološkim rastvorom i u periodu posmatranja nisu se uočavale nikakve promene. Promene se nisu uočavale ni kod kunića skarifikovanog acelularnim filtratom tkiva uterusa žena operisanih zbog prolapsa.



Slika 3. HSV antigen tip 2 u malignom tkivu vulve. Direktna TFA

Fig. 3. HSV antigen type 2 in vulvar malignant tissue. DFA test

Levo oko jednog kunića skarifikovano je herpes virusom dobijenim sa kulture ćelija. Promene tipične za ovaj virus su se uočile 20 sati nakon aplikacije i u periodu posmatranja od sedam dana bile su prisutne i ogledale su se u inflamaciji korneje i prisustvu grozdastih vezikula, koje su postepeno prelazile u kruste.

Diskusija

Organizam je složen sistem, čije je funkcionisanje i integritet pod strogom genetskom kontrolom. Rast tkiva kontrolišu ćelijski onkogeni - protoonkogeni, koji svoju aktivnost ispoljavaju u embrionalnom periodu a posle toga im je funkcija suprimirana [10]. Aktivacijom protoonkogeni u postnatalnom periodu nastaje nekontrolisano bujanje ćelija, koje mogu da izgube sposobnost diferencijacije i nastaje maligni proces [11,12]. Aktivatori onkogeni mogu biti fizičke i hemijske nokse, a tu se mogu ubrojati i onkogeni virusi jer su virusi potvrđeni uzročnici raznih tumora kod životinja i biljaka i bila bi zaista neverovatna tvrdnja da je čovek jedini imun na delovanje onkogenih virusa.

Prema sve većem broju literaturnih podataka, broj virusa koji mogu imati ulogu u nastanku malignog procesa na raznim lokalizacijama u ljudskom organizmu je u porastu.

Za ulogu u razvoju maligniteta na genitalnim organima žena okrivljuju se uglavnom dva virusa: HPV i HSV.

Za HSV je u kulturi ćelija dokazano da može izazvati lom na hromozomu i taj jednostruki lom prati fragmentacija i hromozom je despiralizovan. Ove promene mogu da izazovu smrt ćelije ili oslobađanje onkogenog potencijala ukoliko se ova promena desi u blizini onkogeni, koji pri tom biva aktiviran jer bez aktivacije onkogeni nema onkogeneze [1,13].

U kancerizaciji učestvuje i genom virusa i genom inficirane ćelije, a u prilog tome ide potvrđena činje-

nica da u tumorima uzrokovanim DNA virusom, fragmenti virusne DNA trajno prebivaju u genomu neocita. Takvi neociti poseduju virus specifične antigene, koji su nezavisno od lokalizacije tumora i njegove histološke građe, tipični za virus koji je transformaciju izazvao [14]. Prisustvo ovog virusnog antigena u malignom tkivu može da se dokaže imunološkim metodama, a mi smo u našem radu koristili tehniku direktne i indirektno imunofluorescencije.

Antigen HSV bio je prisutan u 67,3% uzoraka malignog tkiva, a samo u tkivu PVU taj procenat bio je viši i iznosio je 76%. Ovo je značajno, jer za razliku od malignoma vulve i endometrija, koji su daleko učestaliji kod žena u menopauzi, odnosno starijih od 50 godina, ovaj proces na PVU je češći kod mlađih osoba, tj. kod žena u generativnom dobu. Antitela u preoperativnim serumima evidentirana su u 64,3% uzoraka i pripadala su IgG klasi, što ukazuje na hroničnu infekciju, a isključuje akutni primarni proces. Značajan je bio i postoperativni pad titra antitela u II uzorcima seruma. Koeficijent multiple korelacije bio je visok a testiranjem je potvrđena njegova značajnost. U nama dostupnoj literaturi vezanoj za ovu problematiku, većina autora je svoja istraživanja bazirala ili na dokazivanje prisustva anti HSV2 antitela u serumu [15,16,17] ili detekciju HSV 2 antigena u uzorcima malignog tkiva i to pretežno poreklom sa vulve ili PVU [7,4,18,19] dok je problematiku o eventualnoj ulozi HSV na endometriju i jajnicima istraživao manji broj autora [20,21].

Naši rezultati, iako dobijeni na relativno malom broju uzoraka, podudaraju se sa podacima iz literature da nije samo HSV2 isključivi uzročnik herpetičnih promena na genitalnim organima žena, nego i HSV1, čije je prisustvo uočeno u 15-60% uzoraka, a neki autori navode i mogućnost mešane infekcije [22,23].

Literaturni podaci se razilaze u pogledu mogućnosti izolacije HSV kao eventualnog etiopatogenetskog činioca iz malignog tkiva. Aurelian i Buranj u odvojenim istraživanjima referišu o uspešnoj izolaciji HSV iz malignog tkiva PVU [24,25]. Drugi autori tvrde, da kad se jednom HSV ugradi u genom inficirane ćelije i sam ili u saradnji sa drugim kancerogenim faktorima pokrene neoplastični program ćelije, virus se ne može dokazati ni izolacijom ni elektronskim mikroskopom. Dokazivanje virusnog antigena moguće je samo imunološkim metodama [4].

HSV poseduje LTRs - long terminal repeats - strukturni protein, koji omogućuje ugrađivanje virusnog genoma u genom inficirane ćelije. Mapiranjem je utvrđeno da se genom HSV sastoji od oko 76 gena i utvrđeno je da regije 054 - 058 i 058 - 062 map units identifikovani su kao transformišući i označeni kao MTR II i III [26].

Kornealna skarifikacija kunića acelularnim filtratom malignog tkiva u našem radu imala je za cilj pokušaj izolacije virusa. Pošto je imunološkim metodama potvrđeno prisustvo antigena HSV u malignim tkivima na svim istraženim lokalizacijama genitalnog

trakta, a skarifikacija bi izazvala herpetične promene na korneji kunića ukoliko bi u filtratu bio prisutan kompletan infektivni virus. Prisustvo kompletnog infektivnog virusa u acelularnom filtratu bi otvorilo sledeću dilemu - da li je HSV prisutan u tkivu kao jedan od uzročnika ili je sekundarno naseljen u maligno tkivo, odnosno da li je virus "vozač ili putnik". U našem ogledu sa kunićima i acelularnim filtratom nismo uspeli izolovati kompletan virus. Dobijena upala na skarifikovanom oku se razlikovala od negativnih kontrola, ali se razlikovala i od herpetičnih promena na oku izazvanih virusom sa kulture ćelija.

Naši rezultati dobijeni upotrebom acelularnog filtrata za kornealnu skarifikaciju podudaraju se sa podacima iz literature, gde se navodi da se kompletan infektivni virus ne može izolovati kod virusom izazvanih tumora. Acelularnim filtratom može se izazvati samo abortivno-nekompletna simptomatologija. Tu se radi o prisustvu ranog nestrukturnog proteina, koji je produkt virusnog genoma [22].

Zaključak

Ovaj rad je skroman doprinos brojnim istraživanjima vezanim za ulogu herpes simpleks virusa u nastanku malignih procesa na genitalnim organima žena. Na osnovu dobijenih rezultata, analizom preoperativnih i postoperativnih seruma kao i analizom malignog tkiva, zatim dobijenim rezultatima u radu sa eksperimentalnim životinjama, može se zaključiti da herpes virus može imati pored drugih faktora bitnu čak i inicijalnu ulogu u nastanku malignih procesa genitalnih organa žena. Ta uloga nije vezana samo za vulvu i vaginalnu porciju materice nego i za endometrijum. Monoklonskim antitelima potvrđeno je da je pored herpes simpleks virusa tipa 2 prisutan i herpes simpleks virusa tipa 1. Neophodna su dalja istraživanja na mnogo većem broji uzoraka da bi se u timskom radu konačno rasvetlila stvarna uloga herpes simpleks virusa u etiopatogenezi malignih procesa na genitalnim organima žena.

Literatura

1. Kovačević Z. Evolucion i funkcionalni aspekti maligne alteracije ćelija. Pristupna beseda. Novi Sad: Vojvodanska Akademija nauka i umetnosti, 1992.
2. Kaufman RH, Adam E. Herpes simplex and Human Papilloma virus in lower genital tract Neoplasia. An Clin Conf on cancer, Gyn Cancer Dg Texas University, 1987;29:195-206.
3. Smith JM. Herpes simplex virus. An expanding relationship to human cancer. J Reprod Med 1983;28 (2):116-22.
4. Cabral GA, Marciano- Cabral F, Fry D. Identification of an HSV2 antigen in virus- infected and transformed cells and in human cervical tissue by immunofluorescence and immunoperoxidase probe. International Conference on Human Herpes viruses: zbornik radova. Atlanta, March 17-21, 1980.
5. Galloway DA, McDougal JK. The oncogenic potential of Herpes simplex viruses: evidence for a "hit and run" mechanism. Nature 1984;302 (5903):21-4.
6. Flannery VL, Cuortney RJ, Schaffer PA. Expression of an early nonstructural antigen of herpes simplex virus in cells transformed by herpes simplex virus. J Virol 1977;21:284-91.
7. Campione- Piccandio J. Analysis of world- wide age specific data for the association of cervical cancer infections by herpes simplex virus type 2. Med Hypotheses 1983;16(4): 333-50.
8. Adam E, Ravis VE, Malnick JL. The association of Herpes virus type 2 infection and cervical cancer. Prev Med, 1974; 3:122-42.
9. Aurelian L. Herpes simplex virus type 2 and cervical cancer. Clin Dermatol 1984;2 (2):90-9.
10. Bishop D M. Oncogenes. Sci Am 1982;246:91.
11. Duesber PH. Transforming genes of retroviruses. Cold Spring Harbor symp Quant Biol 1980;44:13-29.
12. Kučan J. Retrovirusi T stanica čovjeka. UC Onkogeni i faktori rasta. In: Ikić D, Pavelić K, Sparenti R, eds. Jugosloven- ska Akademija Znanosti i Umjetnosti. Zagreb: Globus 1989: 78-84.
13. Nichols WW. Virusinduzierte chromosomen Veranderungen Triangel, band III N03: 1972:103-6.
14. Dulbeco R. Cell transformation by Viruses. Science 1969;166:962-8.
15. Vonka V, Kanka J, Roth Z. herpes simplex type 2 virus and cervical neoplasia. Adv Cancer Res 1987;48:149-91.
16. Vonka V, Kanka J, Ilirsch Z, Zavodova H, Krcmar M, Suchankova A, et al. Prospective study on the relationship between cervical neoplasia and Herpes simplex type 2 antibody presence in sera taken at enrolment. Int J Cancer 1984;33 (1): 62-6.
17. Sprecher-Goldberger S, Thinz L, Gould J, Passiu T, Gompel C. Increasing antibody titres to herpes simplex virus type 2 during follow - up of women with cervical dysplasia. Am J Epid 1973;97 (2):103-10.
18. Cabrol, GA, Fry D, Marciano-Cabrol F, Lamprin C, Mercer L, Soplerud D. A herpes virus antigen in premalignant and malignant cervical biopsies and explants. Am J Gynecol Obstet 1983;145 (1):79-86.
19. Eglin RP, Kitchener HC, Morleam AB, Denholm RB, Cordiner JM, Sharp F. The presence of RNA complementary to HSV 2 (Herpes simplex virus) DNA in cervical intraepithelial neoplasia after laser therapy. Br Obstet Gynecol 1984;91 (3): 256-69.
20. Čokić Damjanović J. Istraživanja virusne etiologije malignih oboljenja ženskih genitalnih organa. Doktorska disertacija. Novi Sad: Medicinski fakultet, Univerzitet u Novom Sadu, 1992.
21. Čokić Damjanović J, Jovanović J. Herpes simplex virus i malignomi jajnika. Med pregl 1995;XLVIII(9-10):311-4.

22. Kaufman RH, Adam E. Herpes simplex and Human papilloma viruses in lower genital tract neoplasia. *An Clin Conf on cancer, Gyn Cancer Dg Texas university* 1987;29:195-206.

23. Bujko M, Šulović V. Virusi i trudnoća. Beograd-Zagreb: Medicinska knjiga, 1990.

24. Aurelian L, Straindberg JD, Melender LV, Johnson LA. Herpes virus type 2 isolated from cervical tumor cells grown in tissue culture. *Science* 1971;174:704-7.

25. Buranj B. Istraživanja nekih epidemioloških faktora malignih neoplazmi uterusa u žena u Vojvodini sa posebnim osvrtom na narodnosti. Doktorska disertacija. Novi Sad: Medicinski fakultet, Univerzitet u Novom Sadu, 1976.

26. Siri Skulstadt. A Study of the Herpes Simplex Virus Type 1 with Emphasis on Characterisation of a new Structural Protein. National Centre for the Research in Virology Department of Microbiology and Immunology. The Gade Institute University of Bergen Norway 1995.

Summary

Introduction

Primary herpes simplex virus (HSV) infections of female genital tract usually end with remission, while the virus remains in the organism - almost in the sacral ganglion in a latent form, protected from humoral and cellular immunity. Stress induces the virus and the result is recurrent genital infection. Frequent exacerbations damage some parts of vital cellular structures without cytolysis, but stimulate malignant transformations.

Material and methods

Vulvar (portio vaginalis uteri) and endometrial tumor tissue samples were analyzed for HSV by direct and indirect fluorescent antibody technique (FAT). Pre and postoperative sera samples were analyzed for presence of anti-HSV antibodies - IgM and IgG by Elisa - Enzygnost method. Acellular filtrates obtained by ultrasonic destruction of malignant tissues were used as inoculum for rabbit corneal scarification.

Results and discussion

Out of 63 tissue samples, 42 were positive for HSV antigen i.e. 67.3%. According to location 50% of vulvar, 76% PVU and 65% of endometrial tissues were positive. This antigen induces production of virus specific antibodies. Two types of antigens are known: the so-called T-antigen persisting in the cell nucleus and cell-surface antigen - product of the viral genome and can be evidenced by immunofluorescence method. Anti HSV antibodies were present in 63 preoperative serum samples

and belonged to IgG group, but not one to IgM, implying a long and chronic course of infection excluding acute primary. Out of 38 postoperative serums the titer of antibodies decreased in 36 evidently, but in two samples remained unchanged. Two samples of endometrial and one from PVU origin contained HSV antigen type one. In the remaining 16 samples HSV 2 antigen was present. Rabbit corneal scarification was the proof of complete infectious virus in malignant tissues. Acellular filtrate of malignant tissues served as inoculum. Corneas of examined rabbits showed a mild inflammation after 24 hours which disappeared in the next 24 hours. We could not isolate the infectious virus by rabbit corneal scarification. Instead of herpetic changes, mild inflammation was evident. This abortive, incomplete symptomatology was probably caused by nonstructural early protein, which is a product of viral genome incorporated in malignant cells.

Conclusion

On the basis of our results, we can conclude that HSV can have, beside other factors, a very important, maybe an initial role in development of malignant changes of female genital tract, not only on vulva and PVU, but on endometrium as well. HSV I can cause genital infections and have some role in malignant changes as well as HSV 2. However, complete infective virion couldn't be isolated from malignant tissues.

Key words: Simplexvirus; Genital Neoplasms, Female; Endometrial Neoplasms; Vulvar Neoplasms; Vaginal Neoplasms

Rad je primljen 14. III 2001.

Prihvaćen za štampu 6. IV 2001.

BIBLID.0025-8105:(2001):LIV:9-10:432-437.