

Prirođena citomegalovirusna infekcija

Congenital Cytomegalovirus Infection

Ester Pernjak Pugel*, Đurđica Cekinović

Sažetak. Infekcija citomegalovirusom (CMV) najučestalija je prirođena virusna infekcija u ljudi i glavni je uzrok oštećenja mozga u perinatalnom razdoblju. Zbog nastanka encefalitisa i razvojnih oštećenja, kao posljedicu ima trajne neurološke poremećaje. Infekcija humanim citomegalovirusom (HCMV) kod većine osoba s normalnom funkcijom imunološkog sustava ne izaziva klinički manifestnu bolest. Zbog toga je infekcija HCMV-om u trudnoći često neprepoznata, što predstavlja dodatan rizik za razvoj kongenitalne infekcije HCMV-om. Uz to što virus ima direktan citopatski učinak na neurone tijekom razvoja, samo prisustvo virusa u moždanom parenhimu dovodi do aktivacije upalnih stanica domaćina i niza patohistoloških lezija koje odgovaraju nastanku encefalitisa. Zbog toga bi daljnja istraživanja trebala biti usmjerena na razvoj sigurnog i učinkovitog cjepiva i lijekova koji će smanjiti rizik infekcije majki, a u slučaju prijelaza virusa s majke na dijete imati mogućnost spriječiti razvoj kongenitalne infekcije CMV-om.

Ključne riječi: infekcija citomegalovirusom, mozak, prirođena infekcija

Abstract. Cytomegalovirus (CMV) infection is the most common congenital viral infection in humans and the major cause of wide-spread encephalitis and developmental abnormalities of the newborn brain which can lead to several neurological consequences. Infection with the human CMV (HCMV) in patients with normal immune function does not cause a clinically manifest disease. As the HCMV infection in pregnancy is often unrecognized, it represents an additional risk for development of congenital HCMV infection. Beside the direct cytopathic effect of CMV on neurons during neurogenesis, the presence of the virus in brain parenchyme leads to the activation of host inflammatory response and development of pathohistological lesions. Therefore, further studies should be focused on development of safe and effective vaccines and drugs that will reduce the risk of maternal infection and in case of virus transfer from mother to child have the ability to prevent the development of congenital CMV infection.

Key words: brain, CMV infection, congenital infection

Zavod za histologiju i embriologiju,
Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci,
Rijeka

Primljeno: 29. 9. 2011.
Prihvaćeno: 19. 12. 2011.

Adresa za dopisivanje:
* **Prof. dr. sc. Ester Pernjak Pugel, dr. med.**
Zavod za histologiju i embriologiju
Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci
Braće Branchetta 20, 51 000 Rijeka
e-mail: esterp@medri.hr

<http://hrcak.srce.hr/medicina>

UVOD

Infekcija citomegalovirusom (CMV) najučestalija je prirodna virusna infekcija u ljudi i glavni je uzrok oštećenja mozga u perinatalnom razdoblju. Kao posljedicu ima trajne neurološke poremećaje¹⁻³.

CITOMEGALOVIRUS

Humani citomegalovirus (HCMV) ubikvitaran je DNK virus iz obitelji beta herpesvirusa, kojim je inficirano više od polovice čovječanstva (seropreva-

Infekcija citomegalovirusom najučestalija je prirodna virusna infekcija u ljudi i glavni je uzrok oštećenja mozga u perinatalnom razdoblju, koja za posljedicu ima trajne neurološke poremećaje zbog nastanka encefalitisa i razvojnih oštećenja. Prema istraživanjima Američkog instituta za medicinu, to je razlog zbog kojeg je razvoj cjepiva za sprječavanje infekcije humanim citomegalovirusom medicinski prioritet 21. stoljeća.

lencija se kreće između 60 % populacije u razvijanim i 90 – 100 % populacije u zemljama u razvoju)^{4,5}. Kod većine imunokompetentnih domaćina primarna infekcija CMV-om je u najvećem broju slučajeva asimptomatskog tijeka. Ipak, unatoč nedostatku kliničke slike, virus replicira u različitim stanicama, što potiče aktivaciju imunog odgovora. Posredstvom imunih stanica, primarno limfocita T, prekida se aktivno umnažanje virusa, ali CMV uspijeva izbjeći imuni odgovor i uspostaviti doživotnu latentnu infekciju u domaćinu⁶, uz povremene reaktivacije. Osim reaktivacije latentnog virusa, moguće su i reinfekcije drugim sojevima HCMV-a⁷. U inficiranih osoba tijekom akutne infekcije virus se može izolirati iz krvi, sline, urina, sjemenske tekućine, vaginalnog sekreta i majčinog mlijeka te je za prijenos virusa potreban bliski kontakt⁸. Najčešći put prijenosa kod djece je slina, dok je kod odraslih to spolni kontakt s akutno inficiranom osobom. U osoba s oslabljenom ili nedostatnom imunošću, kao što su oboljeli od AIDS-a, zloćudnih ili hematoloških bolesti te kod primaoca transplantata, primarna infekcija CMV-om, kao i reaktivacija virusa, mogu uzrokovati teške oblike upale pluća, oka ili mozga, koji u više od 50 % oboljelih završavaju smrtno⁹.

KLINIČKE MANIFESTACIJE CITOMEGALOVIRUSNE INFEKCIJE

Infekcija HCMV-om kod većine osoba s normalnom funkcijom imunološkog sustava ne izaziva klinički manifestnu bolest. Samo kod 5 % inficiranih osoba javljaju se simptomi karakteristični za infektivnu mononukleozu. Zbog toga je infekcija HCMV-om u trudnoći često neprepoznata, što predstavlja dodatni rizik za razvoj kongenitalne infekcije HCMV-om¹⁰. Iako infekcija ploda tijekom trudnoće najčešće ne izaziva nikakve promjene¹¹, u 10 – 15 % inficirane djece razvija se klasična klinička slika bolesti citomegaličnih inkluzija (engl. *cytomegalic inclusion disease*), obilježena simptomima brojnih organa, posebice retikuloendotelnog i središnjeg živčanog sustava (SŽS)¹². Kod takve djece prisutna je hepatosplenomegalija, krvarenja u koži, žutica, mikrocefalija i zaostajanje u rastu. Neurološki simptomi uključuju mikrocefalus, konvulzije, hipotoniju i letargiju. Uz ove simptome, u prerano rođene djece može se javiti i stanje slično sepsi¹³. Kod teških oblika bolesti stopa smrtnosti doseže visokih 30 % zbog oštećenja organa središnjeg živčanog sustava, jetre, krvarenja, poremećaja zgrušavanja krvi ili sekundarnih bakterijskih infekcija¹⁴. Lošu prognozu imaju oni slučajevi kod kojih su uz mikrocefaliju dokazne lezije duboke bijele tvari, ventrikulomegalija, intrakranijalni kalcifikati i atrofija mozga^{14,15}. Prema istraživanjima Američkog instituta za medicinu, upravo su ovi podaci razlog zbog kojeg je razvoj cjepiva za sprječavanje infekcije HCMV-om medicinski prioritet 21. stoljeća¹⁶. Dužim vremenskim praćenjem djece kod kojih je pri porodu ili neposredno nakon njega dokazana infekcija CMV-om, ali bez simptoma bolesti, uočen je povećan rizik od razvoja neuroloških oštećenja u čak 10 – 20 % slučajeva. Najčešći poremećaj koji se javlja kao posljedica prirodne infekcije CMV-om jest gluhoća¹⁷, koja se razvija u 5 do 10 % oboljelih^{2,18-20}. Slijede mentalna zaostalost, psihomotorna oštećenja, atrofija očnog živca, kornični korioretinitis, konvulzije, poteškoće u učenju te poremećaji razvoja dentina²¹.

CITOMEGALOVIRUSNA INFEKCIJA TRUDNICA

Primarna infekcija, reinfekcija drugim serotipom virusa i/ili reaktivacija infekcije CMV-om u trudnica

tijekom cijele trudnoće može rezultirati transplacentalnom infekcijom ploda. Uz to je moguća i perinatalna infekcija novorođenčeta prolaskom kroz porođajni kanal te postnatalna; majčinim mlijekom ili slinom. Prijenos virusa s majke na plod tijekom trudnoće veći je kod primoinfekcije majke, nego kada se tijekom trudnoće desi reaktivacija latentnog virusa^{15,22}. Primarna infekcija CMV-om uočena je kod 1 do 4 % seronegativnih trudnica, uz rizik mogućeg prijenosa virusa na plod od 30 do 45 %²³. Važno je naglasiti da se kod samo 7 % novorođenčadi s prirodnom infekcijom CMV-om u trenutku poroda mogu uočiti neki od simptoma bolesti. Zbog navedenog postoji mišljenje da je upravo ovaj postotak nedovoljan razlog preporuke prekida trudnoće u slučaju primoinfekcije majke⁴. U takvom je slučaju jedna od mogućih terapija davanje antivirusnih lijekova trudnici u cilju smanjivanja mogućeg prolaza virusa kroz posteljicu²⁴. Studije novijeg datuma pokazale su da broj virusnih kopija u amniotskoj tekućini korelira s rizikom pojave bolesti citomegaličnih inkluzija u novorođenčadi²⁵. Jednako važan čimbenik koji utječe na mogući prijenos virusa s majke na plod, kao i na ishod infekcije u novorođenčadi, je i trenutak primoinfekcije majke. Naime, djeca koju su rodile majke inficirane u prvom trimestru trudnoće imala su značajno više neuroloških poremećaja (32 %), poput mentalne retardacije, epilepsije, koriorititisa, u odnosu na djecu majki inficiranih u drugom ili trećem trimestru (12 %). Jednako tako, gubitak sluha kod djece čije su majke bile inficirane rano u trudnoći iznosio je 24 %, prema 2,5 % djece onih majki koje su inficirane krajem trudnoće¹.

CITOMEGALOVIRUSNA INFEKCIJA I RAZVOJ MOZGA

Glavnu karakteristiku razvoja mozga sisavaca čini migracija progenitornih stanica neuralne cijevi koja kod čovjeka započinje tijekom trećeg tjedna intrauterinog razvoja. Prva migracija javlja se u ranom embrionalnom razdoblju tijekom kojeg se diferenciraju pojedina područja mozga i leđne moždine, dok se druga javlja tijekom postnatalnog perioda, kada valovi sekundarne neurogeneze stvaraju velik broj neurona u području kore malog mozga, hipokampusa i olfaktornog bulbusa^{26,27}. Tijekom migracije interakcija između neurona i glija stanica određuje migracijski smjer ne-

urona i osigurava mu nužne trofičke elemente²⁸. Pravilna migracija stanica tijekom razvoja neophodna je za normalnu funkciju živčanog sustava. U čovjeka deficit neuronalne migracije može izazvati preko 25 različitih sindroma bolesti, među koje uključujemo epilepsiju, žarišne neurološke deficite i mentalnu retardaciju²⁹.

Budući da je CMV specifičan za vrstu, izučavanje patogeneze infekcije HCMV-om ovisno je o životinjskim modelima. Među brojnim razvijenima (majmunski, mišji, štakorski, mačji, hrčji), najčešće je korišten mišji model infekcije s mišjim citomegalovirusom (MCMV)⁷. Istraživanja su pokazala da MCMV uspješno inficira različite vrste stanica unutar SŽS-a³⁰, uključujući i glija stanice i neurone¹. Krvno-moždana barijera osigurava održavanje izvanstaničnog okoliša neophodnog za normalni neuronalni razvoj i aktivnost. Astroцити induciraju razvoj barijere utječući pri tome na svojstva endotelnih stanica³¹. Nakon infekcije CMV-om neurona mijenja se njihova veza s astroцитima i endotelnim stanicama zbog oštećenja zonula okludentes. Time se povećava propusnost endotela i slabi barijera. Infekcija samih endotelnih stanica dovodi do razvoja vaskulitisa praćenog zadebljanjem stijenke kapilara, što ima za posljedicu ishemična oštećenja neurona³². Pokazano je također da djelovanje MCMV-a tijekom razvoja mozga dovodi do zakašnjele diferencijacije zrnatih neurona malog mozga, djelujući na ekspresiju pojedinih razvojnih gena³³.

Infekcija mozga HCMV-om i njene posljedice ovise o razvojnom stadiju neurona, dobi domaćina te njegovom imunološkom statusu³⁴. Tako infekcija CMV-om u periodu između 12. i 24. prenatalnog tjedna, tijekom migracije neokortikalnih neurona iz periventricularne zone prema kortikalnoj ploči, može dovesti do malformacija u debljini parijetalnog korteksa, nastanka malih i nepravilnih moždanih vijuga, odnosno polimikrogirije. U trećem trimestru trudnoće, kada su glavne morfološke faze razvoja mozga završene, djelovanje virusa očituje se u oštećenju mijelinizacije i može biti vidljivo na slikama magnetske rezonancije poput upalnih žarišta u području bijele tvari. Iako perinatalna i rana postnatalna infekcija novorođenčadi neće izazvati značajne razvojne malformacije onih dijelova mozga koji su završili svoj razvoj prenatalno, može dovesti do funkcionalnih oštećenja neurona u kori

velikog mozga, ali i razvojnih poremećaja neurona malog mozga, koji nastavljaju svoj razvoj do kraja prve godine života^{35,36}. Rani postnatalni period izrazito je važan za normalni razvoj malog mozga. U tom periodu dolazi do ekspresije većeg broja gena zrnatih stanica kore malog mozga koji utječu na migraciju stanica iz privremenog vanjskog u unutarnji trajni zrnati sloj, kao i onih kojim Purkinjeove stanice kore utječu na mogućnost proliferacije i diferencijacije stanica zrnatog sloja³⁷. Istraživanja na mišjem modelu pokazala su da infekcija CMV-om dovodi do smanjene proliferacije i diferencijacije, kao i zakašnjele migracije zrnatih neurona, oštećuje arborizaciju i smanjuje broj Purkinjeovih stanica, te dovodi do smanjene površine moždanog parenhima uz pliće brazde i manje vijuge malog mozga. Poremećaj migracije zrnatih stanica najvjerojatnije je posljedica, između ostalih, i smanjene ekspresije TAG-1 (engl. *contactin-3*) molekula i alfa podjedinice GABA A receptora na tim stanicama³³. Kod inficiranih miševa opažena je i smanjena ekspresija HOXA5, transkripcijskog faktora koji utječe na pravilnu organizaciju regija stražnjeg mozga. Također dolazi do smanjene izražnosti receptora za BDNF (engl. *brain derived neurotrophic factor*), čimbenika koji je uključen u održavanje vijabilnosti neurona i prenatalni, kao i postnatalni razvoj malog mozga³³.

Usporedo s citopatskim učinkom virusa na neurone tijekom razvoja, samo prisustvo virusa u moždanom parenhimu dovodi do aktivacije upalnih stanica domaćina i niza patohistoloških lezija koje odgovaraju nastanku encefalitisa. Tako se mogu uočiti glijalni čvorići uz inkluzijska tjelešca citomegaličnih stanica, ali i žarišne nekroze parenhima obilježene nakupinama makrofaga oko razorenih aksona živčanih stanica. Posebno se opisuje ventrikulitis obilježen upalnim promjenama ependimskih stanica te radikulomijelitis kojeg karakterizira infiltracija polimorfonuklearnih stanica oko korjenova i ganglija stražnjih moždinskih živaca. Uloga upalnog odgovora u nastanku trajnih neuroloških oštećenja još uvijek nije do kraja razjašnjena, te i danas postoji nekoliko teorija od kojih određene daju naglasak na neposredan učinak virusa na živčane stanice u razvoju^{38,39}, dok druge teorije podržavaju učinak upalnog oštećenja koji se primarno bazira na ishemijskim oštećenjima stanica, što dovodi do njihova odumiranja^{40,41}.

IMUNOLOŠKI NADZOR CITOMEGALOVIRUSNE INFEKCIJE

U kontrolu infekcije CMV-om uključeni su čimbenici prirodne i stanične imunosti. Dok CD8⁺ limfociti T imaju glavnu ulogu u kontroli akutne infekcije, protutijela su bitna za zaštitu tijekom reaktivacije virusa^{42,43}. Imunološki nadzor infekcije CMV-om u SŽS-u započinje nespecifičnim lučenjem proupalnih citokina od strane inficiranih stanica, što dovodi do aktivacije stanica imunološkog sustava⁴⁴. Studije su pokazale da, iako astrociti na infekciju CMV-om ne reaguju stvaranjem veće količine protuvirusnih citokina i zbog toga se ne mogu učinkovito obraniti od infekcije, u trenutku kada su inficirani, otpuštaju značajne količine kemokina, poput MCP-1, MIP-1alfa i IL-8 i na taj način privlače druge stanice imunog sustava, poput mikroglia stanica, na mjesto infekcije. Mikroglia stanice tada luče protuvirusni citokin TNF-alfa, te IL-6, IL-8, IP-10, MCP-1 i RANTES. Prisustvo kemokina poput RANTES i MCP-1 dovodi do privlačenja limfocita T s periferije u SŽS^{45,46}. Mikroglia stanice svoju aktivnost ostvaruju i u mozgu tek okoćenih inficiranih životinja, što se povezuje s fagocitozom apoptotičkih neurona koji propadaju tijekom procesa postnatalnog razvoja mozga^{33,47}, a smatra se da imaju važnu ulogu i kod trauma, neurodegenerativnih i upalnih bolesti mozga u kojima dolazi do propadanja neurona⁴⁸. Za razliku od infekcije MCMV-om SŽS-a, gdje stanice mikroglie sudjeluju u kontroli infekcije^{49,50}, kod infekcije HIV-om aktivnost mikroglia stanica povezuje se s oštećenjima neurona tijekom infekcije^{51,52}. U mozgu miševa inficiranih MCMV-om dolazi do porasta ekspresije gena tip I interferona i brojnih proupalnih kemokina (Ifit1 I 3, ISG12, ISG15), toll-like receptora (TLR-2), TNF-alfa i STAT-2, kao i do povećanog izražaja citokina CXCL9 i CXCL10 te molekula MHC sustava klase I³³. Prisutnošću i drugih proupalnih citokina i kemokina, poput TNF-alfa, MIP-1alfa i MIP-1beta^{53,54} potiče se daljnja aktivacija specifičnog imunološkog odgovora. Aktivacijom CD8⁺ limfocita T i njihovim lučenjem IFN-gama dolazi do prekida aktivnog umnožavanja virusa, a time i prekida produktivne infekcije⁵⁵⁻⁵⁷.

U kontroli virusnog razmnožavanja i širenja infekcije nakon reaktivacije latentnog virusa neophod-

na su protuvirusna protutijela^{42,43}. Učinak protutijela na kontrolu infekcije HCMV-om u najvećoj mjeri proučavan je u studijama pasivnog prijenosa monoklonskih protutijela ili hiperimunih globulina imunokompromitiranim bolesnicima, primaocima transplantiranih organa ili trudnicama s akutnom infekcijom HCMV-om⁵⁸. Unatoč višegodišnjoj primjeni, još uvijek ne postoji jedinstveni pripravak protutijela, kao ni jednoznačni protokol davanja⁵⁹. Iako su određene studije pokazale zaštitni učinak davanja protuvirusnih protutijela akutno inficiranim trudnicama koja smanjuju ili prekidaju prijenos virusa s majke na plod⁶⁰, druge skupine pokazale su da prisustvo protuvirusnih protutijela u serumu majke ne štiti u potpunosti plod od infekcije. Ovaj rezultat najvjerojatnije je posljedica reinfekcije trudnica različitim serotipovima virusa tijekom kasnijih trudnoća, pri čemu trudnice nemaju tipno-specifična protutijela⁶¹. Upravo zbog ovih nejasnoća, uspješnost terapije protuvirusnim protutijelima u trudnica i imunokompromitiranih bolesnika koji uz to boluju od infekcije HCMV-om ostaje nejasna⁶².

TERAPIJA I ZAŠTITA OD KONGENITALNE CITOMEGALOVIRUSNE INFEKCIJE

Mogućnost razvoja trajnih neuroloških oštećenja u asimptomatske novorođenčadi inficirane CMV-om dokazana je u značajnom postotku inficirane djece^{63,64}. S druge strane, majčina protutijela ne štite u potpunosti plod od prirodne infekcije CMV-om, stoga je neophodno imati mogućnosti liječenja prirodne infekcije CMV-om. Trenutno se na tržištu nalaze četiri antivirusna lijeka koja pripadaju skupini inhibitora virusne DNK polimeraze⁶⁵. Među njima su ganciklovir i valganciklovir, koji se najčešće koriste, a osim u suzbijanju virusne replikacije, pokazali su vrlo dobre učinke i u sprječavanju razvoja oštećenja sluha kod inficirane djece⁶⁶. Ipak, dokazano mutageno, teratogeno i prokancerogeno djelovanje ovih lijekova znatno ograničava njihovu sustavnu uporabu. Drugi je, općeprihvatljiviji način liječenja prirodne infekcije HCMV-om, davanje protutijela specifičnih za virus trudnicama kod kojih je dokazana reaktivacija infekcije CMV-om. Davanje hiperimunog globulina trudnicama koje su oboljele od infekcije HCMV-om djelovalo je zaštitno na transplacentalni prijenos virusa na plod⁶⁰. Istraživanja na miš-

jem modelu pokazala su značajnu zaštitnu ulogu protutijela u smanjenju učinka virusa na razvoj neuroloških oštećenja u mozgu inficiranih novo-okoćenih miševa⁶⁷.

Razvoj cjepiva protiv CMV-a jedan je od najvažnijih zdravstvenih prioriteta u zemljama u razvoju⁶⁸. U cilju razvoja što bolje i efikasnije zaštite konstruirana su različita cjepiva protiv HCMV-a i to koristeći živ ali oslabljen virus, virusne vektore, proteinske podjedinice virusa, peptidna i DNA cjepiva, ali samo neka došla su u fazu testiranja na ljudima. Za sada,

Budući da je infekcija humanim citomegalovirusom (HCMV) u trudnoći često neprepoznata, nastaje dodatni rizik za razvoj kongenitalne infekcije HCMV-om. Zbog toga bi daljnja istraživanja trebala biti usmjerena na razvoj sigurnog i učinkovitog cjepiva i lijekova koji će smanjiti rizik infekcije majki, a u slučaju prijelaza virusa s majke na dijete imati mogućnost spriječiti razvoj kongenitalne infekcije CMV-om.

većina testiranih cjepiva, iako razvija dobar imunološki odgovor domaćina sa stvaranjem CD8⁺ limfocita T i specifičnih protutijela, nije u mogućnosti spriječiti transplacentalni prijenos virusa s majke na plod⁶⁹. Istraživanja su pokazala da cjepivo koje sadrži virusni imunodominantni glikoprotein gB ima značajan učinak u smanjenju infekcije HCMV-om kod trudnica i razvoja kongenitalne infekcije djece⁷⁰. Koristeći saznanje da MCMV u svom genomu posjeduje nekoliko gena čiji produkti negativno reguliraju očitovanje liganada za aktivacijski receptor na NK stanicama i time omogućavaju MCMV-u izbjegavanje imunološkog nadzora posredovanog NK-stanicama, nedavni rezultati naše skupine pokazali su da je rekombinantni virus kojemu je u genomu ugrađen ligand za aktivacijski receptor, a kojeg virus prirodno "skriva" od imunih stanica, znatno oslabljen u odnosu na divlji tip virusa, a istodobno pobuđuje jednako kvalitetan imunološki odgovor. Ovaj rezultat ukazuje da se ovako dizajnirani virus može koristiti kao visoko učinkovito cjepivo za citomegalovirus kao i vektor za druga cjepiva⁷¹. Daljnja istraživanja trebala bi biti usmjerena na razvoj sigurnog i učinkovitog cjepiva i lijekova koji će smanjiti rizik infekcije majki, a u slučaju prijelaza virusa s majke na dijete imati mogućnost spriječiti razvoj kongenitalne infekcije CMV-om.

ZAHVALE

Rad je napravljen u okviru znanstvenog projekta 062-0621261-1269 koji je financirao MZOS Republike Hrvatske.

LITERATURA

1. Pass RF, Fowler KB, Boppana SB, Britt WJ, Stagno S. Congenital cytomegalovirus infection following first trimester maternal infection: symptoms at birth and outcome. *J Clin Virol* 2006;35:216-20.
2. Fowler KB, Pass RF. Risk factors for congenital cytomegalovirus infection in the offspring of young women: exposure to young children and recent onset of sexual activity. *Pediatrics* 2006;118:e286-92.
3. Ross SA, Boppana SB. Congenital cytomegalovirus infection: outcome and diagnosis. *Semin Pediatr Infect Dis* 2005;16:44-9.
4. Griffiths PD, Baboonian C. A prospective study of primary cytomegalovirus infection during pregnancy: final report. *Br J Obstet Gynaecol* 1984;91:307-15.
5. Gandhi MK, Khanna R. Human cytomegalovirus: clinical aspects, immune regulation, and emerging treatments. *Lancet Infect Dis* 2004;4:725-38.
6. Mocarski ES, Jr. Immune escape and exploitation strategies of cytomegaloviruses: impact on and imitation of the major histocompatibility system. *Cell Microbiol* 2004;6:707-17.
7. Reddehase MJ, Podlech J, Grzimek NK. Mouse models of cytomegalovirus latency: overview. *J Clin Virol* 2002;25 Suppl 2:S23-36.
8. Baldanti F, Zavattoni M, Sarasini A, Gatti M, Chezzi L, Gerna G. Comparative quantification of human cytomegalovirus DNA in blood of immunocompromised patients by PCR and Murex Hybrid Capture System. *Clin Diagn Virol* 1997;8:159-65.
9. Gandhi MK, Wills MR, Sissons JG, Carmichael AJ. Human cytomegalovirus-specific immunity following haemopoietic stem cell transplantation. *Blood Rev* 2003;17:259-64.
10. Zanghellini F, Boppana SB, Emery VC, Griffiths PD, Pass RF. Asymptomatic primary cytomegalovirus infection: virologic and immunologic features. *J Infect Dis* 1999;180:702-7.
11. Stagno S, Britt WJ. Cytomegalovirus. In: Remington JS, Klein JO, Wilson CB, Baker CJ (eds). *Infectious diseases of the fetus and newborn infant*. 6 edn. Philadelphia: Elsevier Saunders 2006;740-81.
12. Michaels MG, Greenberg DP, Sabo DL, Wald ER. Treatment of children with congenital cytomegalovirus infection with ganciclovir. *Pediatr Infect Dis J* 2003;22:504-9.
13. Hamprecht K, Maschmann J, Vochem M, Dietz K, Speer CP, Jahn G. Epidemiology of transmission of cytomegalovirus from mother to preterm infant by breastfeeding. *Lancet* 2001;357:513-8.
14. Malm G, Grondahl EH, Lewensohn-Fuchs I. Congenital cytomegalovirus infection: a retrospective diagnosis in a child with pachygyria. *Pediatr Neurol* 2000;22:407-8.
15. Boppana SB, Fowler KB, Britt WJ, Stagno S, Pass RF. Symptomatic congenital cytomegalovirus infection in infants born to mothers with preexisting immunity to cytomegalovirus. *Pediatrics* 1999;104:55-60.
16. Staratton K, Durch J, Lawrence R. *Vaccines for the 21st century: a tool for decisionmaking*. Washington DC: Nat Acad Press 2001.
17. Morton CC, Nance WE. Newborn hearing screening--a silent revolution. *N Engl J Med* 2006;354:2151-64.
18. Dahle AJ, Fowler KB, Wright JD, Boppana SB, Britt WJ, Pass RF. Longitudinal investigation of hearing disorders in children with congenital cytomegalovirus. *J Am Acad Audiol* 2000;11:283-90.
19. Hicks T, Fowler K, Richardson M, Dahle A, Adams L, Pass R. Congenital cytomegalovirus infection and neonatal auditory screening. *J Pediatr* 1993;123:779-82.
20. Ross SA, Fowler KB, Ashrith G, Stagno S, Britt WJ, Pass RF et al. Hearing loss in children with congenital cytomegalovirus infection born to mothers with preexisting immunity. *J Pediatr* 2006;148:332-6.
21. Revello MG, Gerna G. Diagnosis and management of human cytomegalovirus infection in the mother, fetus, and newborn infant. *Clin Microbiol Rev* 2002;15:680-715.
22. Ahlfors K, Ivarsson SA, Johnsson T, Svanberg L. Primary and secondary maternal cytomegalovirus infections and their relation to congenital infection. Analysis of maternal sera. *Acta Paediatr Scand* 1982;71:109-13.
23. Stagno S, Pass RF, Dworsky ME, Henderson RE, Moore EG, Walton PD et al. Congenital cytomegalovirus infection: The relative importance of primary and recurrent maternal infection. *N Engl J Med* 1982;306:945-9.
24. Connor EM, Sperling RS, Gelber R, Kiselev P, Scott G, O'Sullivan MJ et al. Reduction of maternal-infant transmission of human immunodeficiency virus type 1 with zidovudine treatment. Pediatric AIDS Clinical Trials Group Protocol 076 Study Group. *N Engl J Med* 1994; 331:1173-80.
25. Lazzarotto T, Varani S, Guerra B, Nicolosi A, Lanari M, Landini MP. Prenatal indicators of congenital cytomegalovirus infection. *J Pediatr* 2000;137:90-5.
26. Zheng C, Heintz N, Hatten ME. CNS gene encoding astrocytactin, which supports neuronal migration along glial fibers. *Science* 1996;272:417-9.
27. Hatten ME. Central nervous system neuronal migration. *Annu Rev Neurosci* 1999;22:511-39.
28. Walsh C, Cepko CL. Clonal dispersion in proliferative layers of developing cerebral cortex. *Nature* 1993;362: 632-5.
29. Barkovich AJ, Kuzniecky RI, Dobyns WB. Radiologic classification of malformations of cortical development. *Curr Opin Neurol* 2001;14:145-9.
30. Dunn W, Trang P, Zhong Q, Yang E, van Belle C, Liu F. Human cytomegalovirus expresses novel microRNAs during productive viral infection. *Cell Microbiol* 2005;7:1684-95.
31. Janzer RC, Raff MC. Astrocytes induce blood-brain barrier properties in endothelial cells. *Nature* 1987; 325:253-7.
32. Dupont S, Robert F, Muller D, Grau G, Parisi L, Stoppini L. An in vitro blood-brain barrier model: cocultures between endothelial cells and organotypic brain slice cultures. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998;95:1840-5.
33. Koontz T, Bralic M, Tomac J, Pernjak-Pugel E, Bantug G, Jonjic S et al. Altered development of the brain after focal herpesvirus infection of the central nervous system. *J Exp Med* 2008;205:423-35.
34. Hornig M, Weissenböck H, Horscroft N, Lipkin WI. An infection-based model of neurodevelopmental damage. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999;96:12102-7.
35. Britt W. Manifestations of human cytomegalovirus infection: proposed mechanisms of acute and chronic disease. *Curr Top Microbiol Immunol* 2008;325:417-70.
36. Jones CA. Congenital cytomegalovirus infection. *Curr Probl Pediatr Adolesc Health Care* 2003;33:70-93.
37. Behesti H, Marino S. Cerebellar granule cells: insights into proliferation, differentiation, and role in medulloblastoma pathogenesis. *Int J Biochem Cell Biol* 2009;41:435-45.

38. de Vries LS, Gunardi H, Barth PG, Bok LA, Verboon-Maciel MA, Groenendaal F. The spectrum of cranial ultrasound and magnetic resonance imaging abnormalities in congenital cytomegalovirus infection. *Neuropediatrics* 2004;35:113-9.
39. Kawasaki H, Tsutsui Y. Brain slice culture for analysis of developmental brain disorders with special reference to congenital cytomegalovirus infection. *Congenit Anom (Kyoto)* 2003;43:105-13.
40. Marques Dias MJ, Harmant-van Rijckevorsel G, Landrieu P, Lyon G. Prenatal cytomegalovirus disease and cerebral microgyria: evidence for perfusion failure, not disturbance of histogenesis, as the major cause of fetal cytomegalovirus encephalopathy. *Neuropediatrics* 1984;15:18-24.
41. Grassi MP, Clerici F, Perin C, D'Arminio Monforte A, Vago L, Borella M et al. Microglial nodular encephalitis and ventriculoencephalitis due to cytomegalovirus infection in patients with AIDS: two distinct clinical patterns. *Clin Infect Dis* 1998;27:504-8.
42. Jonjic S, Pavic I, Polic B, Crnkovic I, Lucin P, Koszinowski UH. Antibodies are not essential for the resolution of primary cytomegalovirus infection but limit dissemination of recurrent virus. *J Exp Med* 1994;179:1713-7.
43. Polic B, Hengel H, Krmpotic A, Trgovcich J, Pavic I, Luccaroini P et al. Hierarchical and redundant lymphocyte subset control precludes cytomegalovirus replication during latent infection. *J Exp Med* 1998;188:1047-54.
44. Biron CA. Initial and innate responses to viral infections--pattern setting in immunity or disease. *Curr Opin Microbiol* 1999;2:374-81.
45. Lokensgard JR, Cheeran MC, Hu S, Gekker G, Peterson PK. Glial cell responses to herpesvirus infections: role in defense and immunopathogenesis. *J Infect Dis* 2002;186 Suppl 2:S171-9.
46. Cheeran MC, Hu S, Gekker G, Lokensgard JR. Decreased cytomegalovirus expression following proinflammatory cytokine treatment of primary human astrocytes. *J Immunol* 2000;164:926-33.
47. Bantug GR, Cekinovic D, Bradford R, Koontz T, Jonjic S, Britt WJ. CD8+ T lymphocytes control murine cytomegalovirus replication in the central nervous system of newborn animals. *J Immunol* 2008;181:2111-23.
48. Minagar A, Shapshak P, Fujimura R, Ownby R, Heyes M, Eisdorfer C. The role of macrophage/microglia and astrocytes in the pathogenesis of three neurologic disorders: HIV-associated dementia, Alzheimer disease, and multiple sclerosis. *J Neuro Sci* 2002;202:13-23.
49. Cheeran MC, Hu S, Sheng WS, Peterson PK, Lokensgard JR. CXCL10 production from cytomegalovirus-stimulated microglia is regulated by both human and viral interleukin-10. *J Virol* 2003;77:4502-15.
50. Lokensgard JR, Hu S, Sheng W, vanOijen M, Cox D, Cheeran MC et al. Robust expression of TNF-alpha, IL-1beta, RANTES, and IP-10 by human microglial cells during nonproductive infection with herpes simplex virus. *J Neurovirol* 2001;7:208-19.
51. Stanley LC, Mrak RE, Woody RC, Perrot LJ, Zhang S, Marshak DR et al. Glial cytokines as neuropathogenic factors in HIV infection: pathogenic similarities to Alzheimer's disease. *J Neuropathol Exp Neurol* 1994;53:231-8.
52. Griffin DE. Cytokines in the brain during viral infection: clues to HIV-associated dementia. *J Clin Invest* 1997;100:2948-51.
53. Bluman EM, Bartynski KJ, Avalos BR, Caligiuri MA. Human natural killer cells produce abundant macrophage inflammatory protein-1 alpha in response to monocyte-derived cytokines. *J Clin Invest* 1996;97:2722-7.
54. Biron CA, Nguyen KB, Pien GC, Cousens LP, Salazar-Mather TP. Natural killer cells in antiviral defense: function and regulation by innate cytokines. *Annu Rev Immunol* 1999;17:189-220.
55. Koszinowski UH, Del Val M, Reddehase MJ. Cellular and molecular basis of the protective immune response to cytomegalovirus infection. *Curr Top Microbiol Immunol* 1990;154:189-220.
56. Krmpotic A, Bubic I, Polic B, Lucin P, Jonjic S. Pathogenesis of murine cytomegalovirus infection. *Microbes Infect* 2003;5:1263-77.
57. Starr SE, Allison AC. Role of T lymphocytes in recovery from murine cytomegalovirus infection. *Infect Immun* 1977;17:458-62.
58. Schleiss MR. Cytomegalovirus vaccine development. *Curr Top Microbiol Immunol* 2008;325:361-82.
59. Filipovich AH, Peltier MH, Bechtel MK, Dirksen CL, Strauss SA, Englund JA. Circulating cytomegalovirus (CMV) neutralizing activity in bone marrow transplant recipients: comparison of passive immunity in a randomized study of four intravenous IgG products administered to CMV-seronegative patients. *Blood* 1992;80:2656-60.
60. Nigro G, Adler SP, La Torre R, Best AM. Passive immunization during pregnancy for congenital cytomegalovirus infection. *N Engl J Med* 2005;353:1350-62.
61. Boppana SB, Polis MA, Kramer AA, Britt WJ, Koenig S. Virus-specific antibody responses to human cytomegalovirus (HCMV) in human immunodeficiency virus type 1-infected persons with HCMV retinitis. *J Infect Dis* 1995;171:182-5.
62. Sokos DR, Berger M, Lazarus HM. Intravenous immunoglobulin: appropriate indications and uses in hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2002;8:117-30.
63. Fowler KB, Stagno S, Pass RF, Britt WJ, Boll TJ, Alford CA. The outcome of congenital cytomegalovirus infection in relation to maternal antibody status. *N Engl J Med* 1992;326:663-7.
64. Adler SP, Starr SE, Plotkin SA, Hempfling SH, Buis J, Manning ML et al. Immunity induced by primary human cytomegalovirus infection protects against secondary infection among women of childbearing age. *J Infect Dis* 1995;171:26-32.
65. DeVries J. The ABCs of CMV. *Adv Neonatal Care* 2007;7:248-55;quiz 56-7.
66. Kimberlin DW, Lin CY, Sanchez PJ, Demmler GJ, Dankner W, Shelton M et al. Effect of ganciclovir therapy on hearing in symptomatic congenital cytomegalovirus disease involving the central nervous system: a randomized, controlled trial. *J Pediatr* 2003;143:16-25.
67. Cekinovic D, Golemac M, Pugel EP, Tomac J, Cicin-Sain L, Slavuljica I et al. Passive immunization reduces murine cytomegalovirus-induced brain pathology in newborn mice. *J Virol* 2008;82:12172-80.
68. Stratton KR, Durch JS, Lawrence RS. *Vaccines for the 21st Century: A Tool for Decision Making*. Washington, DC: National Academy Press 2001.
69. Adler SP, Finney JW, Manganello AM, Best AM. Prevention of child-to-mother transmission of cytomegalovirus by changing behaviors: a randomized controlled trial. *Pediatr Infect Dis J* 1996;15:240-6.
70. Pass RF, Zhang C, Evans A, Simpson T, Andrews W, Huang ML et al. Vaccine prevention of maternal cytomegalovirus infection. *N Engl J Med* 2009;360:1191-9.
71. Slavuljica I, Busche A, Babic M, Mitrovic M, Gasparovic I, Cekinovic D et al. Recombinant mouse cytomegalovirus expressing a ligand for the NKG2D receptor is attenuated and has improved vaccine properties. *J Clin Invest* 2010;120:4532-45.