

Neurotropismo del citomegalovirus

**Jaramillo-Rangel G,^{1,2} Novak IS,³ Ortega-Martínez MG,^{1,2}
Ramírez-Rodríguez C,² Añcer-Rodríguez J,² Trujillo JR¹**

RESUMEN

El citomegalovirus humano (CMV) es un betaherpesviridae que pertenece a la familia de los herpesvirus. El CMV es un agente patógeno ampliamente distribuido en la naturaleza y altamente específico a cada especie, la cual puede causar infecciones primarias, latentes, crónicas y persistentes. En la infección latente, la supresión inmunológica puede reactivar al virus, resultando una gran variedad de síndromes clínicos incluyendo encefalitis, retinitis, pneumonitis, adrenalitis, pancreatitis y enterocolitis. La infección por CMV puede ser una infección oportunista fatal en pacientes con SIDA. En el sistema nervioso, el CMV causa principalmente encefalitis, mielitis, neuritis y retinitis. El uso del ganciclovir es efectivo en el tratamiento de infecciones por el CMV en el sistema nervioso. En esta revisión describimos un estudio sobre 24 pacientes con SIDA y encefalitis por CMV, y su respuesta al tratamiento con el uso del ganciclovir. En este artículo revisaremos además la biología molecular del CMV, los mecanismos neuropatogénicos del CMV, los adelantos más importantes en el diagnóstico de la infección del CMV. Además, analizaremos de manera general las perspectivas que se tienen en la investigación del CMV, específicamente en lo que se refiere a modelos experimentales y a las nuevas terapias.

Palabras clave: Citomegalovirus humano, familia herpesvirus, betaherpesviridae.

Rev Mex Neuroci 2005; 6(5): 399-410

Cytomegalovirus neurotropism

ABSTRACT

Human cytomegalovirus (CMV) is a betaherpesvirinae of the herpesviridae family. It is a ubiquitous but highly-specific species that causes primary, latent or chronic, persistent infection. In latent infection, immune suppression can reactivate the virus, resulting in a variety of clinical syndromes including encephalitis, retinitis, pneumonitis, adrenalitis, pancreatitis, and enterocolitis. CMV infection is a common source of life-threatening opportunistic infections in AIDS patients. In the nervous system, CMV induces encephalitis, myelitis, neuritis and retinitis. Published results indicate that successful response to ganciclovir can be used to support CMV infection in the CNS. We reviewed a study which described the use of ganciclovir as a treatment for CMV encephalitis in 24 AIDS patients. Here, we also reviewed the molecular biology of CMV, its neuropathogenesis, and the cutting-edge diagnostics of CMV infection. In addition, we described a scientific and therapeutic prospective on the future of CMV research.

Key words: Human cytomegalovirus, betaherpesvirinae, herpesviridae family.

Rev Mex Neuroci 2005; 6(5): 399-410

INTRODUCCIÓN

El citomegalovirus (CMV) humano es un agente patógeno ampliamente distribuido en la naturaleza y responsable de infecciones persistentes, pero generalmente asintomáticas en personas sanas. Sin embargo, puede causar enfermedad severa en au-

sencia de una respuesta inmune efectiva, como en los individuos inmunológicamente inmaduros o inmunocomprometidos. Por lo tanto, el impacto del CMV se ha incrementado en décadas recientes debido al aumento en el trasplante de órganos, a los tratamientos inmunosupresores y a los pacientes infectados con el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH). Además, es el principal agente infeccioso causante de defectos congénitos.¹

El CMV es un virus del DNA que pertenece a la familia de los herpesvirus. Ésta se clasifica en tres subfamilias de acuerdo con la homología y organización de su genoma, tipo de hospedero y otras propiedades biológicas. El CMV pertenece a la subfamilia de los β herpesvirus. Otros virus de importancia médica pertenecientes a esta familia son los herpes simple tipo 1 y 2, el virus de la varicela-zoster, el virus del Epstein-Barr y el herpesvirus humano de los tipos 6, 7 y 8. Un virus de simio, llamado virus B, ocasionalmente infecta humanos.²

1. Institute of Human Virology, UMBI, UMD, USA.
2. Departamento de Patología, Facultad de Medicina, UANL. Monterrey NL, México.
3. Service of Neurology, Texas, USA.

Correspondencia: M.D., Ph. D.J Roberto Trujillo
Director of Latin America Research
Virology & Neuroscience
Asst. Professor, Institute of Human Virology
University of Maryland Biotechnology Institute, UMD
725 W Lombard Street
Baltimore, MD 21201
Phone (410) 706 7443
Fax (410) 706 1952
email: trujillo@umbi.umd.edu

En este artículo revisaremos brevemente la biología molecular del CMV, así como las manifestaciones clínicas, los métodos de diagnóstico y los tratamientos actuales de las enfermedades que provoca. Por otra parte, haremos énfasis en los mecanismos neuropatogénicos del CMV, especialmente con referencia al síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA). Por último, analizaremos de manera general las perspectivas que se tienen en la investigación del CMV, específicamente en lo que se refiere a modelos experimentales y a las nuevas terapias.

BIOLOGÍA MOLECULAR DEL CMV

El virión maduro del CMV humano mide entre 150 y 200 nanómetros (nm). Ha sido dividido estructuralmente en tres regiones principales: *la cápside*, la cual contiene el DNA lineal de doble cadena del virus; *el tegumento*, que rodea a la capa anterior y que es una cubierta amorfá de proteínas; y *la envoltura*, que a su vez rodea a las dos capas anteriores, la cual es una bicapa lipídica que contiene glicoproteínas.³

La cápside mide aproximadamente 100 nm de diámetro. Está formada por proteínas, de las cuales se han descrito al menos cinco en la literatura. Dichas proteínas se autoensamblan en una estructura icosaédrica, permitiendo antes que entre el DNA viral.^{4,5} El tegumento mantiene la asociación entre la cápside y la envoltura del virión. Las proteínas que lo constituyen intervienen en procesos esenciales del virus, como el mantenimiento de su estructura y la regulación de su expresión génica, e influyen en la respuesta de las células del hospedero a la infección con el CMV.⁴ La envoltura del virión es sumamente compleja y hasta la fecha su composición no está completamente definida. Algunas de las glicoproteínas que forman parte de su estructura son de suma importancia en la patogénesis desencadenada por el CMV, como se verá más adelante.

El genoma del CMV humano es el más largo de todos los herpesvirus. Es una cadena de DNA lineal de 230 kilobases (kb) con un contenido alto de G+C. Dicho DNA tiene una región única larga (UL), una región única corta (UC) y regiones repetidas. Debido a que las regiones larga y corta pueden orientarse en ambas direcciones, se producen cuatro isómeros del genoma en la progenie viral. La secuenciación completa de la cepa AD169 reveló que el DNA del CMV humano contiene 225 marcos de lectura abierta (ORFs, por sus siglas en inglés) que codifican para aproximadamente 100 aminoácidos. Dichos aminoácidos se combinan de tal manera que dan lugar a la existencia de aproximadamente 160 proteínas.^{1,6}

En los herpesvirus humanos, los procesos de replicación y transcripción se llevan a cabo en el núcleo de las células hospederas. Los genes se replican en un orden específico: 1). genes inmediatos tempranos, los cuales codifican para proteínas reguladoras; 2). genes tempranos, que codifican para enzimas necesarias en la replicación del DNA viral; y 3) genes tardíos, los cuales codifican para proteínas estructurales.⁷

Aunque el CMV humano puede ser propagado *in vitro* de una manera consistente sólo en fibroblastos humanos puede infectar una gran cantidad de órganos y tipos celulares. Por ejemplo, su presencia ha sido detectada en células epiteliales, endoteliales, de músculo liso y mesenquimales, así como en hepatocitos, granulocitos, monocitos y macrófagos. De hecho puede identificarse en el epitelio de casi todos los órganos y en las células residentes del sistema nervioso central (SNC).^{1,8}

La unión y penetración del CMV en sus células blanco son procesos que se llevan a cabo de una manera rápida y eficiente. Aunque aún no se tiene la certeza de cuál es el receptor para CMV, una glicoproteína de la envoltura del virión se une al mismo para conseguir entrar a las células. Dicho receptor debe estar altamente distribuido entre los diferentes tipos celulares del hospedero, lo que contribuye al amplio grado de tropismo que se observa en las infecciones con CMV. La entrada del virus es el resultado de una cascada de interacciones entre proteínas virales y celulares, lo cual culmina en la fusión de la envoltura del virión con la membrana plasmática celular. Este proceso es seguido por la entrada al citoplasma de la cápside y el tegumento, y de la rápida translocación de dichos elementos al núcleo. Como ya se mencionó, el CMV se replica en el núcleo celular.⁹

La formación de la cápside y el empaquetamiento del DNA viral se lleva a cabo en el núcleo. Posteriormente, la cápside adquiere una envoltura primaria al ponerse en contacto con la hoja interna de la envoltura nuclear, misma que pierde al fusionarse con la hoja externa de dicha estructura. Una vez en el citoplasma, continúa la maduración al rodearse con el tegumento. Finalmente, la envoltura que rodea a las dos capas anteriores se adquiere cuando el virión penetra a vesículas del aparato de Golgi. Las partículas ya maduras son transportadas a la superficie de la célula a través de dicho organelo. La progenie del virus se acumula en el citoplasma, para posteriormente liberarse en el espacio extracelular. Esto ocurre aproximadamente 72 horas después de la infección primaria.^{5,10} La infección con el CMV puede ser lítica y productiva, o latente, misma que puede ser reactivada en alguna falla del sistema inmune.

NEUROPATOGÉNESIS DEL CMV

La infección del sistema nervioso por el CMV se presenta con más frecuencia de manera congénita o en personas con inmunosupresión severa, como en los pacientes con SIDA. Entre las complicaciones neurológicas relacionadas con el CMV se incluyen retinitis, sordera, encefalitis, polirradiculomielopatía y el síndrome de Guillain-Barré (SGB). Estos padecimientos generalmente son tratados utilizando los procedimientos y drogas ya descritos, y el diagnóstico se lleva a cabo como ya se mencionó, aunque en algunos de ellos también son de utilidad métodos de neuroimagen como la tomografía computarizada y la resonancia magnética, así como el análisis de líquido cefalorraquídeo, principalmente por PCR.¹¹⁻¹³

El CMV inicialmente entra al organismo a través del epitelio respiratorio, alimentario o genitourinario. En los pacientes transfundidos dicha entrada podría ser también a través de células parenquimatosas especializadas, como las del hígado. Diversos estudios sugieren que la infección prenatal podría ser vía hematógena.¹⁴⁻¹⁶ Posteriormente, el CMV es diseminado al resto del organismo por las células endoteliales y los leucocitos. Los tejidos del SNC son infectados por virus llevados por macrófagos o monocitos.¹⁷ En el cerebro, el CMV puede infectar prácticamente todas las células, incluyendo astrocitos, neuronas, oligodendrocitos, células del linaje monocito-macrófago y el endotelio de los capilares. Además, el virus invade y se replica en órganos especializados, como la retina y la cóclea.^{11,18}

En la patogénesis causada por el CMV se ven involucrados factores propios del virus y la respuesta inmune humoral y celular del hospedero. Una característica muy importante del CMV, es su capacidad de persistir en una forma no productiva por meses o años en sitios anatómicos específicos del hospedero. Esta capacidad de evitar la eliminación por el sistema inmune es el resultado de utilizar tejidos inmunológicamente privilegiados para la latencia y replicación. Entre éstos se incluyen las células epiteliales de las glándulas salivales, las cuales expresan un número insuficiente de moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC, por sus siglas en inglés) de la clase I, necesarias para el proceso de eliminación de las células infectadas por los linfocitos CD8⁺.¹⁹ Asimismo, el CMV escapa del sistema inmune infectando células del epitelio pigmentario de la retina (EPR). En ese sitio, el virus induce por transactivación la sobreexpresión del ligando de Fas (FasL) en las células del EPR. Este fenómeno correlaciona con una menor adhesión de los neutrófilos con las células infectadas, y por lo tanto con una falta de respuesta inmune contra el CMV, además de que sugiere una función nueva para

el FasL (anti-adhesión) aparte de su papel en la apoptosis.^{18,20}

La reactivación del CMV generalmente es seguida de enfermedad, sobre todo en personas inmunocomprometidas. Se han propuesto varios mecanismos responsables de la reactivación del virus, entre los cuales se incluyen: 1). Estrés, a través de catecolaminas usando el sistema del AMPc; 2). Inflamación, a través del factor de necrosis tumoral (TNF, por sus siglas en inglés)- α usando el factor nuclear κ B o prostaglandinas por la vía del AMPc; y (3) drogas, a través de la elevación del AMPc.²¹

Una vez reactivado, el CMV sigue evadiendo la respuesta inmune. El genoma del CMV ha incorporado genes que son homólogos o mimetizan la función de genes celulares. Algunos eliminan la respuesta del hospedero, como los que codifican para las proteínas antiapoptóticas VMIA (del inglés viral mitochondria-localized inhibitor of apoptosis) y vICA (del inglés viral inhibitor of caspase-8 apoptosis).^{22,23} Otros codifican para proteínas que ayudan a la célula a mantener un perfil inmunológico bajo. Entre éstas se incluyen citocinas antiinflamatorias, receptores para quimiocinas, receptores para la porción Fc de las inmunoglobulinas y proteínas que directa o indirectamente impiden la actividad de las células asesinas naturales. Por último, algunos genes del CMV modulan aspectos inmunológicos claves en la respuesta del hospedero. Por ejemplo, reducen la expresión de los MHC I y II en las células infectadas, lo que interfiere con la presentación y el reconocimiento posterior de dichas células por los linfocitos T específicos.^{19,24}

Otra característica propia del virus, importante para la patogenia que provoca en el sistema nervioso, es el mimetismo molecular. El mimetismo molecular es un mecanismo a través del cual agentes infecciosos (u otras sustancias exógenas) pueden iniciar una respuesta inmune contra autoantígenos. De acuerdo con esta hipótesis, un hospedero susceptible adquiere una infección con un agente que tiene antígenos que son inmunológicamente similares a los suyos, pero que difieren lo suficiente como para inducir una respuesta inmune cuando son presentados a las células T. Como resultado, se rompe la tolerancia a los autoantígenos y la respuesta inmune específica que se genera contra el patógeno reacciona de manera cruzada contra estructuras del hospedero para causar daño al tejido y finalmente enfermedad.²⁵

El SGB es una enfermedad caracterizada por parálisis flácida, aguda y ascendente, en donde se afecta la capa de mielina y los axones de los nervios periféricos por un mecanismo inmunológico autoinmune.²⁶ El SGB generalmente es precedido por una infección bacteriana o viral. El CMV es el agente

viral más común que precede al SGB, presentándose una incidencia de entre 11 a 22% en varios estudios.^{27,28} Entre las posibles explicaciones para la asociación entre la infección con el CMV y el SGB, se incluye la estimulación de respuestas inmunes hacia glicoconjungados o péptidos virales semejantes a los que se encuentran en la mielina o en las células de Schwann. En apoyo a esto, se ha reportado el hallazgo de anticuerpos contra el gangliósido GM2 en muchos pacientes del SGB derivado de la infección con CMV.²⁹⁻³² Por otra parte, existen secuencias homólogas de aminoácidos entre la proteína PO de la mielina y proteínas de varios virus que desencadenan el SGB, entre ellos el CMV.³³⁻³⁵ Cualquiera que sea el factor desencadenante, se presenta una respuesta inmune celular y humoral que conduce a la presentación clínica del SGB.

Aunque aún no se conoce con precisión el proceso de la respuesta inmune que interviene en contra del CMV, se piensa que la inmunidad humoral tiene un papel importante en la protección contra la infección primaria y en la limitación de la severidad de las enfermedades causadas por dicho agente, mientras que la inmunidad celular limitaría la replicación del virus y permitiría la recuperación después de la infección.³⁶

Durante la infección primaria, los individuos inmunocompetentes producen anticuerpos de la clase IgM dirigidos contra el CMV, los cuales persisten por tres o cuatro meses. Unas cuantas semanas después, se producen anticuerpos de la clase IgG, los cuales persisten por años e incluso durante toda la vida. Datos experimentales y clínicos demuestran que la respuesta humoral es beneficiosa. Ratones inmunizados con la glicoproteína B (gB) recombinante del CMV murino desarrollaron anticuerpos neutralizantes y fueron protegidos en una subsecuente infección.³⁷ Por otra parte, la presencia de anticuerpos maternos dirigidos contra el CMV antes de la concepción, provee protección substancial contra daños congénitos en el recién nacido³⁸ y la presencia de anticuerpos neutralizantes dirigidos contra el CMV son importantes para controlar la severidad de la enfermedad provocada por dicho agente en pacientes inmunocomprometidos.^{39,40}

Muchas proteínas del CMV son reconocidas por el sistema inmune humoral, como las glicoproteínas de la envoltura (principalmente gB y gH) y elementos del tegumento viral, incluyendo pp28, pp65 y pp150. La gB ha sido la más estudiada, ya que es altamente inmunológica en humanos y provoca respuestas linfoproliferativas y citolíticas específicas en personas infectadas.⁴¹

Por otra parte, la importancia de la respuesta inmune celular en la enfermedad causada por el CMV, queda de manifiesto al considerar que la in-

fección severa con dicho virus, generalmente está restringida a individuos en los cuales dicha rama de la inmunidad es defectuosa. Las células circulantes T CD4⁺ específicas para CMV producen citocinas propias de la línea T cooperadora 1, como el interferón (IFN)- γ y el TNF- α . En individuos asintomáticos, la respuesta de dichas células precede a la llevada a cabo por los linfocitos T CD8⁺ específicos para el CMV, mientras que en personas sintomáticas su respuesta solamente es detectable después de la terapia antiviral.⁴²

La magnitud de la respuesta de las células T CD8⁺ específicas para CMV es esencial en la inmunidad contra dicho patógeno y muestra la inusual característica de incrementarse con la edad. La especificidad de esta respuesta se enfoca en las proteínas pp65 e IE-1 del CMV, aunque estudios recientes apuntan hacia el reconocimiento de un mayor número de proteínas virales.⁴³⁻⁴⁵

En la patogénesis inducida por el CMV en el cerebro, además de lo descrito anteriormente, parecen intervenir citocinas y quimiocinas producidas por sus células residentes. Así, las células de la microglia producen TNF- α , interleucina (IL)-1 β , IL-6, proteína quimioatractante de macrófagos (MCP, por sus siglas en inglés)-1, MCP-1 α , RANTES e IL-8. Asimismo, los astrocitos infectados producen MCP-1, IL-8 y el factor de crecimiento transformante (TGF, por sus siglas en inglés)- β . Algunas evidencias experimentales señalan que los astrocitos infectados con el CMV utilizan la MCP-1 para reclutar células de la microglia al foco de infección, mismas que subsecuentemente producen los mediadores solubles previamente mencionados. Por otra parte, cultivos primarios de astrocitos murinos inoculados con CMV de ratón expresan grandes cantidades de CMV infeccioso en paralelo con altos niveles de TGF- β . La liberación de CMV por los astrocitos disminuye en la presencia de un anticuerpo contra el TGF- β y se incrementa sustancialmente con la adición de TGF- β exógeno. Estos resultados sugieren que la infección de los astrocitos con el CMV induce la producción del TGF- β , el cual a su vez aumenta la expresión productiva del CMV.⁴⁶⁻⁴⁷

Las complicaciones neurológicas de la infección con el HIV son comunes y variadas, y tienen un papel muy importante en la morbilidad y mortalidad de los pacientes. Los desórdenes del SNC y del sistema nervioso periférico (SNP) pueden causar complicaciones en todos los estadios de la infección sistémica con el HIV, desde el periodo de la infección inicial hasta el estado final de inmunosupresión severa.⁴⁸⁻⁵²

El CMV es responsable de la infección viral oportunista más común en personas con SIDA. Hasta 40% de los pacientes de este padecimiento presentan enfermedad clínica debido al CMV,⁵³ destacando la

retinitis, la cual se presenta en pacientes con SIDA con cuentas de células CD4+ menores a 100/ μ L de sangre. En el SNC el CMV puede afectar el cerebro provocando encefalitis difusa, ventriculoencefalitis o formando masas cerebrales, y a la médula espinal como mielitis transversa y polirradiculomielitis.¹⁷ En el SNP suele provocar mononeuropatía múltiple y polirradiculopatía,⁵⁰ además del SGB.

La introducción de la terapia antirretroviral altamente activa ha permitido la reconstrucción del sistema inmune de los pacientes con HIV/SIDA, de tal forma que ha provocado que la infección con el CMV sea controlada. Sin embargo, si se presenta enfermedad causada por el CMV, se recomienda el uso de ganciclovir como terapia y mantenimiento, antes de utilizar otros medicamentos.^{11,54}

MANIFESTACIONES CLÍNICAS, DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO DE LAS ENFERMEDADES CAUSADAS POR EL CMV

- **Manifestaciones clínicas.** La infección con el CMV puede encontrarse en todas las localizaciones geográficas y grupos socioeconómicos; entre 40 a 100% de la población adulta a nivel mundial es seropositiva para dicho patógeno. Una vez adquirida la infección, el CMV es excretado en los fluidos biológicos (orina, saliva, lágrimas, leche, semen y secreciones cervicales) por meses, años e inclusive durante toda la vida. El CMV se puede trasmitir verticalmente de madre a hijo, o se puede adquirir en etapas posteriores horizontalmente a través de contacto físico directo con los fluidos biológicos antes mencionados, o por trasplante de órganos y transfusiones sanguíneas con material proveniente de donadores seropositivos.⁵⁵

Las manifestaciones clínicas de la infección congénita con CMV son muy variables. En muchas ocasiones ésta transcurre de manera subclínica o autolimitada y se resuelve incluso sin terapia. Entre los síntomas resultantes de la enfermedad sin complicación podría mencionarse ictericia, hepatoesplenomegalia, trombocitopenia, petequias, coriorretinitis y hepatitis. En contraste, la infección con el CMV puede involucrar al SNC de una manera grave, provocando daño permanente y un peor pronóstico. Dicho daño podría presentarse en la forma de microcefalia, encefalitis y signos neurológicos focales. Por último, en algunos casos pueden presentarse complicaciones en la forma de retinitis grave y daño auditivo, llegando incluso a la sordera.^{8,56}

En adultos inmunocompetentes la infección con CMV es generalmente asintomática. La manifes-

tación clínica más común es una enfermedad semejante a mononucleosis, con fiebre, linfocitosis, linfadenopatía, faringitis, fiebre, mialgia y anomalías en la función hepática. El curso clínico de la infección generalmente es leve y la mayoría de los pacientes se recupera sin secuelas.⁵⁷ En contraste, la infección con el CMV o la reactivación de la misma en personas inmunocomprometidas puede inducir enfermedad grave, dejar secuelas permanentes e incluso provocar la muerte. En este grupo de riesgo se incluyen personas trasplantadas, pacientes con cáncer que reciben quimioterapia, pacientes en los cuales se lleva a cabo hemodiálisis, reciben drogas inmunosupresoras, quemados, o que padecen el SIDA. La presentación clínica en este grupo de pacientes varía según el grado de inmunosupresión y a factores propios del hospedero, algunos de los cuales aún no se conocen del todo. Las manifestaciones incluyen principalmente neumonitis, retinitis, hepatitis, pancreatitis y enfermedad gastrointestinal (generalmente en forma de gastritis y enterocolitis). Dentro de este grupo de pacientes, aquellos que padecen SIDA son los más propensos a sufrir daño en el sistema nervioso.^{1,55,58-60} En nuestra experiencia clínica (ISN & JRT), en el Park Plaza Hospital, en Houston Texas, estudiamos más de 500 pacientes con SIDA, de los cuales 130 presentaron manifestaciones neurológicas.⁵² Dentro de las complicaciones neurológicas debido a la infección por el CMV, se presentaron 24 pacientes con SIDA concomitantemente infectados sistémicamente.⁵⁴ La figura 1 muestra la distribución de las complicaciones neurológicas por el CMV en este estudio retrospectivo, en el cual se trataron con ganciclovir.

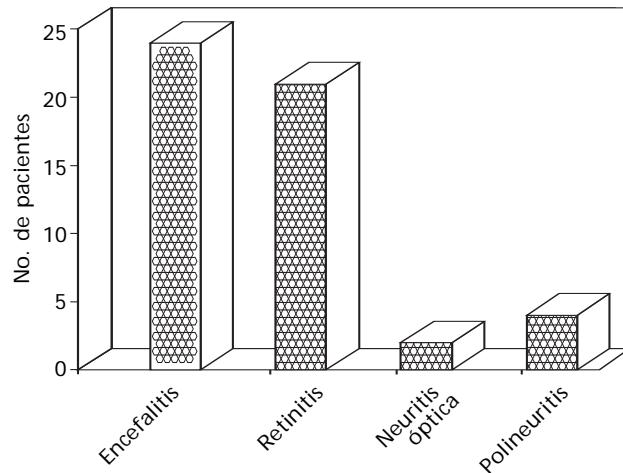


Figura 1. Complicaciones neurológicas del CMV en pacientes con SIDA.

- **Diagnóstico.** Como para otros agentes infecciosos existe una gran cantidad de métodos diagnósticos para el CMV, dependiendo del tipo de muestra que se analiza, si se detecta al microbio como tal (o alguno de sus constituyentes individuales), o la respuesta tisular o en fluidos biológicos que provoca en el hospedero, etcétera. Como siempre sucede, cada uno de esos métodos tiene ventajas y desventajas.

El diagnóstico de la infección con el CMV generalmente no se puede llevar a cabo de una manera completamente confiable observando solamente las manifestaciones clínicas. Por lo tanto, es más seguro el aislamiento del virus, o la detección de sus antígenos o su DNA en muestras clínicas apropiadas. Alternativamente, el diagnóstico puede llevarse a cabo detectando y midiendo el nivel de anticuerpos provocado como respuesta a la infección con el virus.

La excreción del virus o su viremia puede ser detectada mediante el cultivo de especímenes apropiados en monocapas de fibroblastos humanos. Si los títulos virales son altos, los efectos citopáticos característicos pueden detectarse en unos cuantos días. Pero con títulos virales bajos, dichos efectos pueden tardar varias semanas en aparecer. Algunas veces se acelera este procedimiento realizando un cultivo precedido por centrifugación, y la posterior detección inmunocitoquímica empleando anticuerpos monoclonales dirigidos contra un antígeno del CMV. El aislamiento del virus de orina o saliva no constituye una prueba de infección aguda, ya que la excreción en esos fluidos puede continuar por meses o años después de la enfermedad. En cambio, la detección de la viremia es un signo más confiable de infección aguda.^{57,61,62}

La detección de antígenos del virus puede llevarse a cabo, por ejemplo, en biopsias de órganos como hígado o pulmón, utilizando métodos inmunohistoquímicos con anticuerpos monoclonales apropiados. En ocasiones esas biopsias se aprovechan también para realizar procedimientos de reacción en cadena de la polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés) *in situ* o hibridación de ácidos nucleicos. La antigenemia puede medirse por la cuantificación de núcleos de leucocitos positivos para la fosfoproteína pp65 del CMV utilizando un procedimiento de inmunofluorescencia (Figura 2). Debido a que frecuentemente se encuentran niveles altos de antígeno en pacientes con enfermedad provocada por el CMV, y a que los niveles bajos correlacionan con infección asintomática, el diagnóstico a través de la cuantificación de antigenemia es lo suficientemente sensible para

monitorear la infección y el tratamiento antiviral.^{63,64}

Existe una gran cantidad de estudios serológicos utilizados para detectar el nivel de anticuerpos provocado en el hospedero en respuesta a la infección con el CMV. Entre ellos podrían mencionarse el ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA, por sus siglas en inglés), hemoaglutinación indirecta, ensayos con fluorescencia, aglutinación con látex, etcétera. Puede deducirse la presencia de una infección aguda si se determina la seroconversión de un resultado negativo de anticuerpos IgG específicos para el virus, hacia un resultado positivo en el intervalo entre dos pruebas serológicas. La detección de anticuerpos IgM específicos para el CMV algunas veces es útil para diagnosticar infección reciente o reactivada. Sin embargo, pueden obtenerse resultados falsos positivos inducidos por el factor reumatoide, anticuerpos antinucleares y otros factores aún no identificados.^{1,57}

La prueba de PCR es un método de diagnóstico para el CMV que cada vez se utiliza más debido a su gran rapidez y sensibilidad. Además, puede aplicarse a casi cualquier muestra biológica y cuantificar el nivel de virus en la misma, lo cual permite verificar el desarrollo de la enfermedad y el progreso del tratamiento. Por último, las modificaciones que se han hecho a esta técnica, como la detección en tiempo real o la codetección del CMV con otros virus, permiten suponer que la PCR será el método de elección en el diagnóstico de enfermedades causadas por este agente.⁶⁵⁻⁶⁸

- **Tratamiento.** El tratamiento actual para las infecciones con el CMV incluye drogas antivirales

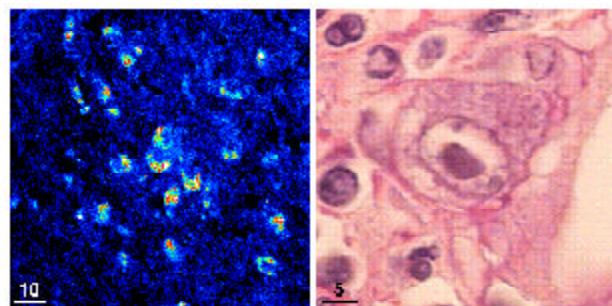


Figura 2. Se observan secciones histopatológicas infectadas por el CMV en un paciente con SIDA. En la fotografía del lado derecho se observan las células teñidas con hematoxilina y eosina, las cuales muestran las inclusiones típicas en las células infectadas por el CMV. La fotografía del lado izquierdo corresponde al análisis de microscopía de láser utilizando anticuerpos monoclonales con fluoresceína pp65 del CMV (Cortesía de los Drs. Rick Rogers, Jorge Garza-Gómez, Jean Lai, Harvard School of Public Health, Boston, MA. y Dra. Michelle P. Candanosa McCann, Hospital Universitario, UANL, Monterrey, México).

potentes administradas en protocolos adecuados según sea el caso particular. Así, el tratamiento puede ser sintomático para pacientes con enfermedad patente provocada por el CMV, preventivo para personas con infección activa con el virus en riesgo de desarrollar enfermedad, y profiláctica para personas en riesgo de sufrir enfermedad relacionada con el CMV en la ausencia de una infección activa con el mismo. Los medicamentos más utilizados son el ganciclovir, el foscarnet y el cidofovir. Los tres tienen como mecanismo de acción la inhibición de la DNA polimerasa viral durante las infecciones primarias o reactivadas del CMV. Sin embargo, no tienen impacto en la fase latente del ciclo de vida del virus, lo cual evita la erradicación total de la infección.⁶⁹⁻⁷³

En nuestra experiencia (ISN & JRT) con 24 pacientes con SIDA e infección por el CMV en el sistema nervioso,⁵⁴ fueron tratados con ganciclovir en dos formas de terapia: 1). Inducción de terapia, 5 mg/kg/día fueron administrados en un promedio de 12.7 días. 2). el mantenimiento de terapia fue administrado a 10 mg/kg/día, en un promedio de 3.5 meses. La evaluación clínica y

pruebas del gabinete, especialmente MRI, fueron usadas periódicamente antes y después del tratamiento (Tabla 1). Siete pacientes con encefalitis por CMV mostraron una mejoría clínica y radiológicamente significativa, 11 de los pacientes se estabilizaron y seis con encefalitis no respondieron al tratamiento con ganciclovir (Figura 2). La utilización del ganciclovir en este periodo fue beneficiosa para los pacientes con encefalitis y otras complicaciones neurológicas debidas al CMV. Estos estudios pioneros en respuesta al tratamiento, dieron lugar a investigaciones prospectivas sobre el uso del ganciclovir, lo cual ha demostrado ser muy eficaz para tratar las complicaciones del CMV en pacientes con SIDA.

La utilización de dichas drogas ha producido el mejoramiento clínico en muchos pacientes. Por ejemplo, existen reportes de la efectividad del uso del ganciclovir en el tratamiento de retinitis en pacientes con SIDA⁷⁴ o de su utilidad en la profilaxis en pacientes de trasplante de médula ósea⁷² o de corazón.⁷⁵ Sin embargo, también se sabe que tienen baja potencia, se produce el desarrollo de resistencia a sus efectos y su toxicidad es un fac-

Tabla 1
Uso del ganciclovir en pacientes con SIDA e infección por CMV en el sistema nervioso

Paciente #	Edad	Inducción # días	Mantenimiento # días	Complicaciones por el CMV y su respuesta al Tx. SNC	Otras	Duración de la respuesta Meses	Toxicidad
1	38	14	-	En ↔, R↔		4	-
2	30	13	-	En↔, R↑	Es↑	5	L
3	35	15	120	En ↓, R↔	Co↑	5	L
4	59	20	60	En ↑, R↑	Pa↓	2	L, T
5	28	11	-	En ↑, No ↔, Po ↔, R↑	5	L	
6	28	10	-	En↑	Co↑	7	L
7 ^a	38	10 ^b	-	En ↔, Po ↑, R↔	Ga↑, Co↑	3	L, T
8	31	10	-	En ↓, R↑		6	L
9	28	15	120	En ↑, R↑		5	L, T
10	30	10	60	En ↓, R↑	Ga↑	12	-
11 ^a	28	16	-	En ↓, R↑	Pn↑	5	L, T
12	38	10	-	En↔	Ep ↑, Es ↑, Ga ↑, Pn↑	8	L
13	36	10 ^b	180	En ↔, R↑		12	L
14 ^a	31	18	-	En ↔, No ↔, R↔	Co↑	5	L
15	47	10 ^b	60	En ↓, R↔		2	L
16	36	22	14	En ↔, R↔,		11	-
17	47	22 ^b	14	En ↑, R↑	Co ↑, Es ↑, Pn↑	2	L
18	50	18	90	En ↔, R↑		4	L, T
19	41	12	90	En ↑, R↑		3	L, T
20 ^a	35	10 ^b	90	En ↑, Po ↔, R↑	Co↑	12	L
21	34	12	-	En↓	Pn↑	2	-
22	30	10 ^b	60	En ↔, R↔	Es ↑, H↔	4	-
23 ^a	45	16	10	En↔, R↔	Es ↑, H↔	4	L
24	37	12	120	En ↔, Po ↔, R↔	Ca↔, Es↑	7	L

Abreviaciones: Ca, carditis; Co, colitis; En, encefalitis; Ep, epiglotitis; Es, esofagitis; - fallo-Tx; Ga, gastritis; H, hepatitis; In, inducción; L, leucopenia; M, mantenimiento; -, mejoría-Tx; No, neuritis óptica; Pa, pancreatitis; Pn, pneumonitis; Po, poli neuropatía; R, retinitis; ↔, estabilización-Tx; T, trombocitopenia. a Tratamiento discontinuado debido a la toxicidad del ganciclovir. b Inducción de terapia fue repetida debido a la recurrencia de la enfermedad.

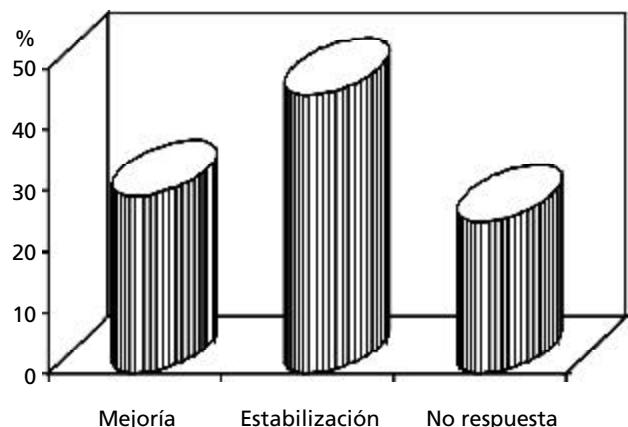


Figura 3. Respuesta al tratamiento con ganciclovir en pacientes con SIDA y encefalitis por el CMV.

tor limitante en su administración prolongada para evitar recurrencias. Por lo anterior, como se verá más adelante, se buscan nuevas terapias o la implementación de vacunas contra las enfermedades producidas por el CMV.^{76,77}

MODELOS ANIMALES Y NUEVAS TERAPIAS DEL CMV

La especificidad de especie de los diferentes tipos de CMV no permite el estudio del CMV humano en animales de laboratorio. Por lo tanto, se han desarrollado modelos animales de las enfermedades causadas por el CMV para utilizarse en la evaluación de la prevención, la patogénesis, el diagnóstico y el tratamiento de las mismas.

El modelo mejor caracterizado es el del CMV murino. El CMV murino es similar al CMV humano con respecto a la organización genómica, patogénesis y en la capacidad para establecer infección latente y reactivación. Además, se conoce la secuencia completa del CMV murino y se ha visto que comparte muchas regiones similares con el CMV humano.⁷⁸⁻⁸⁰

Sin embargo, el CMV murino no cruza la placenta, y por lo tanto no se puede obtener suficiente información acerca de la patogénesis de la infección en neonatos. Para solucionar este problema se puede utilizar el modelo del CMV del cerdo de Guinea, el cual cruza la placenta e infecta el producto. En los individuos infectados congénitamente se observa mortalidad y enfermedad en diferentes órganos, haciendo a éste un modelo útil para el estudio de los efectos de vacunas y terapia antiviral en la enfermedad neonatal. Además, la caracterización del genoma del CMV del cerdo de Guinea ha permitido el desarrollo de reactivos moleculares que pueden aplicarse en este modelo.⁸¹⁻⁸³

El modelo del CMV de la rata se ha utilizado principalmente en el estudio de la patogénesis pro-

vocada por dicho agente. Por ejemplo, en ese modelo se ha visto que la diseminación sistémica del virus se lleva a cabo a través de granulocitos y monocitos infectados. Asimismo, ha permitido conocer que el virus incrementa la expresión del TNF- α en individuos trasplantados, lo que contribuye al rechazo crónico en dichos casos.^{84,85}

Por último, el modelo de infección con CMV de primates cada vez se utiliza más para conocer aspectos clave en la patogénesis de las enfermedades relacionadas. La clonación y caracterización de la GB del CMV del mono Rhesus (*Macacca mulatta*) ha facilitado la investigación de los mecanismos de patogénesis viral y de las respuestas inmunes antivirales del hospedero. Por otra parte, la coinfección experimental en dicho modelo con CMV de mono y el virus de la inmunodeficiencia del simio permite el análisis de las enfermedades provocadas por el CMV en individuos inmucomprometidos.^{86,87}

El conocimiento obtenido de los modelos animales y de estudios en humanos ha proveído las bases para investigar la inmunoterapia con células T para restaurar respuestas consideradas esenciales en la inmunidad protectora contra la infección por el CMV. La inmunoterapia celular puede ser definida como la administración de células efectoras del sistema inmune para el tratamiento de una enfermedad. Estudios recientes han reportado que la reactivación del CMV puede ser exitosamente tratada por la transferencia de clonas de células T específicas para CMV de donadores seropositivos para dicho virus expandidas *in vitro* con fibroblastos infectados con CMV o lisados de células infectadas con el mismo. En otros estudios se han usado proteínas o péptidos inmunodominantes del CMV para expandir linfocitos T citotóxicos específicos para el virus. También se pueden generar células T específicas para el virus mediante el uso de células presentadoras de antígeno infectadas con el CMV como estimuladores primarios. Por último, el uso de células T genéticamente modificadas ha sido ya evaluado clínicamente y tiene el potencial de mejorar la seguridad y eficacia para la inmunoterapia.^{88,89}

La infusión de células T resulta en una protección de grado variable contra el CMV, pero también en una incidencia alta de reacciones injerto contra hospedero cuando la terapia se hace en el modo alogénico. Para prevenir esta complicación y mejorar la respuesta inmune antiCMV, varios grupos de investigadores han desarrollado nuevas técnicas, como la introducción de genes suicidas para controlar la reactividad contra el hospedero o la activación selectiva de células T específicas para CMV por células presentadoras de antígeno que expresan antígenos del virus introducidos por transferen-

cia génica. Dependiendo de las células blanco y la estrategia escogida se pueden utilizar vectores derivados de adenovirus, retrovirus o poxvirus para la transferencia génica.⁹⁰

Por otra parte, la identificación de antígenos inmunodominantes del CMV ha permitido a los investigadores determinar cuáles de ellos son los mejores candidatos para ser incluidos en una vacuna contra el CMV. Dicha vacuna debe tener la capacidad de estimular las respuestas inmune humoral y celular. A la fecha, la mayoría de los intentos de generar una vacuna contra el CMV se han centrado en los antígenos gB, pp65 e IE1, principalmente. Otras estrategias preclínicas prometedoras incluyen la vacunación con los cuerpos densos (viriones con envoltura defectuosa) del CMV y la administración de una vacuna de DNA que codifica para proteínas inmunogénicas virales que provocan una respuesta humoral y de linfocitos T citotóxicos.⁹¹⁻⁹³

REFERENCIAS

1. Landolfo S, Gariglio M, Gribaudo G, Lembo D. The human cytomegalovirus. *Pharmacol Ther* 2003; 98(3): 269-97.
2. Straus SE. Introduction to herpesviridae. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (Eds.). *Principles and Practice of Infectious Diseases*, 5th ed. Vol. 1. Churchill Livingston Inc; 2000, p. 1557-64.
3. Chen DH, Jiang H, Lee M, Liu F, Zhou ZH. Three-dimensional visualization of tegument /capsid interactions in the intact human cytomegalovirus. *Virology* 1999; 260(1): 10-16.
4. Britt WJ, Boppana S. Human cytomegalovirus virion proteins. *Hum Immunol* 2004; 65(5): 395-402.
5. Gibson W. Structure and assembly of the virion. *Intervirology* 1996; 39(5-6): 389-400.
6. Chee MS, Bankier AT, Beck S, Bohni R, Brown CM, Cerny R, Horsnell T, Hutchison CA 3rd, Kouzarides T, Martignetti JA, Preddie E, Satchwell SC, Tomlinson P, Weston KM, Barrell BG. Analysis of the protein-coding content of the sequence of human cytomegalovirus strain AD169. *Curr Top Microbiol Immunol* 1990; 154:125-69.
7. Whitley RJ. Herpesviruses. Peake RC, James DA, Susman S (Eds.). *Baron's Medical Microbiology*, 4th ed. New York: Churchill Livingston; 2000.
8. Britt WJ. Infections associated with human cytomegalovirus. Arend WP, Armitage JO, Drazen JM, Gill GN, Griggs RC, Powell DW, Scheld WM (Eds.). *Goldman: Cecil Textbook of Medicine*, 22nd ed. WB Saunders Company; 2004, p. 1993-5.
9. Sinzger C, Kahl M, Laib K, Klingel K, Rieger P, Plachter B, Jahn G. Tropism of human cytomegalovirus for endothelial cells is determined by a post-entry step dependent on efficient translocation to the nucleus. *J Gen Virol* 2000; 81(12): 3021-35.
10. Sanchez V, Greis KD, Sztul E, Britt WJ. Accumulation of virion tegument and envelope proteins in a stable cytoplasmic compartment during human cytomegalovirus replication: characterization of a potential site of virus assembly. *J Virol* 2000; 74(2): 975-86.
11. Griffiths P. Cytomegalovirus infection of the central nervous system. *Herpes* 2004; 11(Suppl 2): S95A-S104A.
12. Boivin G. Diagnosis of herpesvirus infections of the central nervous system. *Herpes* 2004; 11(Suppl 2): S48A-S56A.
13. Steininger C, Popow-Kraupp T, Seiser A, Gueler N, Stanek G, Puchhammer E. Presence of cytomegalovirus in cerebrospinal fluid of patients with Guillain-Barré syndrome. *J Infect Dis* 2004; 189(6): 984-9.
14. Sinzger C, Jahn G. Human cytomegalovirus cell tropism and pathogenesis. *Intervirology* 1996; 39(5-6): 302-19.
15. Halwachs-Baumann G, Wilders-Truschnig M, Desoye G, Hahn T, Kiesel L, Klingel K, Rieger P, Jahn G, Sinzger C. Human trophoblast cells are permissive to the complete replicative cycle of human cytomegalovirus. *J Virol* 1998; 72(9): 7598-7602.
16. Hemmings DG, Kilani R, Nykiforuk C, Preiksaitis J, Guilbert LJ. Permissive cytomegalovirus infection of primary villous term and first trimester trophoblasts. *J Virol* 1998; 72(6): 4970-9.
17. Maschke M, Kastrup O, Diener HC. CNS manifestations of cytomegalovirus infections: diagnosis and treatment. *CNS Drugs* 2002; 16(5): 303-15.
18. Scholz M, Doerr HW, Cinatl J. Human cytomegalovirus retinitis: pathogenicity, immune evasion and persistence. *Trends Microbiol* 2003; 11(4): 171-8.
19. Hengel H, Brune W, Koszinowski UH. Immune evasion by cytomegalovirus-survival strategies of a highly adapted opportunist. *Trends Microbiol* 1998; 6(5): 190-7.
20. Cinatl J Jr, Blaheta R, Bittoova M, Scholz M, Margraf S, Vogel JU, Cinatl J, Doerr HW. Decreased neutrophil adhesion to human cytomegalovirus-infected retinal pigment epithelial cells is mediated by virus-induced up-regulation of Fas ligand independent of neutrophil apoptosis. *J Immunol* 2000; 165(8): 4405-13.
21. Harari A, Zimmerli SC, Pantaleo G. Cytomegalovirus (CMV)-specific cellular immune responses. *Hum Immunol* 2004; 65(5): 500-6.
22. Goldmacher VS, Bartle LM, Skaletska A, Dionne CA, Kedersha NL, Vater CA, Han JW, Lutz RJ, Watanabe S, Cahir McFarland ED, Kieff ED, Mocarski ES, Chittenden T. A cytomegalovirus-encoded mitochondria-localized inhibitor of apoptosis structurally unrelated to Bcl-2. *Proc Natl Acad Sci* 1999; 96(22): 12536-41.
23. Skaletska A, Bartle LM, Chittenden T, McCormick AL, Mocarski ES, Goldmacher VS. A cytomegalovirus-encoded inhibitor of apoptosis that suppresses caspase-8 activation. *Proc Natl Acad Sci* 2001; 98(14): 7829-34.
24. Michelson S. Consequences of human cytomegalovirus mimicry. *Hum Immunol* 2004; 65(5): 465-75.
25. Albert LJ, Inman RD. Molecular mimicry and autoimmunity. *N Engl J Med* 1999; 341(27): 2068-74.
26. Ang CW, Jacobs BC, Laman JD. The Guillain-Barré syndrome: a true case of molecular mimicry. *Trends Immunol* 2004; 25(2): 61-6.
27. Winer JB, Hughes RA, Anderson MJ, Jones DM, Kangro H, Watkins RP. A prospective study of acute idiopathic neuropathy II. Antecedent events. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1988; 51(5): 613-18.

28. Boucquey D, Sindic CJ, Lamy M, Delmee M, Tomasi JP, Laterre EC. Clinical and serological studies in a series of 45 patients with Guillain-Barré syndrome. *J Neurol Sci* 1991; 104(1): 56-63.
29. Khalili-Shirazi A, Gregson N, Gray I, Rees J, Winer J, Hughes R. Antiganglioside antibodies in Guillain-Barré syndrome after a recent cytomegalovirus infection. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1999; 66(3): 376-9.
30. Irie S, Saito T, Nakamura K, Kanazawa N, Ogino M, Nukasawa T, Ito H, Tamai Y, Kowa H. Association of anti-GM2 antibodies in Guillain-Barré syndrome with acute cytomegalovirus infection. *J Neuroimmunol* 1996; 68(1-2): 19-26.
31. Jacobs BC, van Doorn PA, Groeneveld JH, Tio-Gillen AP, van der Meché FG. Cytomegalovirus infections and anti-GM2 antibodies in Guillain-Barré syndrome. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1997; 62(6): 641-3.
32. Yuki N, Tagawa Y. Acute cytomegalovirus infection and IgM anti-GM2 antibody. *J Neurol Sci* 1998; 154(1): 14-17.
33. Adelmann M, Linington C. Molecular mimicry and the autoimmune response to the peripheral nerve myelin PO glycoprotein. *Neurochem Res* 1992; 17(9): 887-91.
34. Khalili-Shirazi A, Hughes RA, Brostoff SW, Linington C, Gregson N. T cell response to myelin proteins in Guillain-Barré syndrome. *J Neurol Sci* 1992; 111(2): 200-3.
35. Linington C, Lassmann H, Ozawa K, Kosin S, Mongan L. Cell adhesion molecules of the immunoglobulin supergene family as tissue-specific autoantigens: induction of experimental allergic neuritis (EAN) by PO protein-specific T cell lines. *Eur J Immunol* 1992; 22(7): 1813-17.
36. Yue Y, Shan S, Barry PA. Antibody responses to rhesus cytomegalovirus glycoprotein B in naturally infected rhesus macaques. *J Gen Virol* 2003; 84(12): 3371-9.
37. Rapp M, Messerle M, Buhler B, Tannheimer M, Keil GM, Koszinowski UH. Identification of the murine cytomegalovirus glycoprotein B gene and its expression by recombinant vaccinia virus. *J Virol* 1992; 66(7): 4399-4406.
38. 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(10): 663-7.
39. Alberola J, Dominguez V, Cardenoso L, Lopez-Aldeguer J, Blanes M, Estelles F, Ricart C, Pastor A, Igual R, Navarro D. Antibody response to human cytomegalovirus (HCMV) glycoprotein B (gB) in AIDS patients with HCMV end-organ disease. *J Med Virol* 1998; 55(4): 272-80.
40. Alberola J, Tamarit A, Cardenoso L, Estelles F, Igual R, Navarro D. Longitudinal analysis of human cytomegalovirus glycoprotein B (gB)-specific and neutralizing antibodies in AIDS patients either with or without cytomegalovirus end-organ disease. *J Med Virol* 2001; 64(1): 35-41.
41. Navarro D, Lennette E, Tugizov S, Pereira L. Humoral immune response to functional regions of human cytomegalovirus glycoprotein B. *J Med Virol* 1997; 52(4): 451-9.
42. Gamadia LE, Rentenaar RJ, Van Lier RA, Ten Berge IJ. Properties of CD4(+) T cells in human cytomegalovirus infection. *Hum Immunol* 2004; 65(5): 486-92.
43. Moss P, Khan N. CD8(+) T-cell immunity to cytomegalovirus. *Hum Immunol* 2004; 65(5): 456-64.
44. Sacre K, Carcelain G, Cassoux N, Fillet AM, Costagliola D, Vittecoq D, Salmon D, Amoura Z, Katlama C, Autran B. Repertoire, diversity, and differentiation of specific CD8 T cells are associated with immune protection against human cytomegalovirus disease. *J Exp Med* 2005; 201(12): 1999-2010.
45. Almanzar G, Schwaiger S, Jenewein B, Keller M, Grubeck-Loebenstein. IFN-gamma production by CMV-specific CD8+ T cells is high in elderly donors. *Exp Gerontol* 2004; 39(5): 863-5.
46. Cheeran MC, Hu S, Yager SL, Gekker G, Peterson PK, Lokengard JR. Cytomegalovirus induces cytokine and chemokine production differentially in microglia and astrocytes: antiviral implications. *J Neurovirol* 2001; 7(2): 135-47.
47. Kossmann T, Morganti-Kossmann MC, Orenstein JM, Britt WJ, Wahl SM, Smith PD. Cytomegalovirus production by infected astrocytes correlates with transforming growth factor-beta release. *J Infect Dis* 2003; 187(4): 534-41.
48. Antunes F. Central nervous system AIDS-related diseases. *Acta Neurochir* 2004; 146(10): 1071-4.
49. Wulff EA, Wang AK, Simpson DM. HIV-associated peripheral neuropathy: epidemiology, pathophysiology and treatment. *Drugs* 2000; 59(6): 1251-60.
50. Pardo CA, McArthur JC, Griffin JW. HIV neuropathy: insights in the pathology of HIV peripheral nerve disease. *J Peripher Nerv Syst* 2001; 6(1): 21-7.
51. Gildenberg PL, Langford L, Kim JH, Trujillo R. Stereotactic biopsy in cerebral lesions of AIDS. *Acta Neurochir Suppl* 1993; 58: 68-70.
52. Trujillo JR, Garcia-Ramos G, Novak IS, Rivera VM, Huerta E, Essex M. Neurologic manifestations of AIDS: a comparative study of two populations from Mexico and the United States. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol* 1995; 8(1): 23-9.
53. Chan IS, Neaton JD, Saravolatz LD, Crane LR, Osterberger J. Frequencies of opportunistic diseases prior to death among HIV-infected persons. *Community Programs for Clinical Research on AIDS. AIDS* 1995; 9(10): 1145-51.
54. Novak IS, Trujillo JR, Rivera VM, Conklin R, Ussery F III, Stool EW, Piot DF. Ganciclovir in the treatment of CMV infection in AIDS patients with neurological complications. *Neurology* 1989; 39(Suppl 1): S379-S380.
55. The natural history and pathogenesis of cytomegalovirus infections. Griffiths PD, Whitley RJ (Eds.). *Cytomegalovirus and Human Herpesvirus Type 6 Infections in the Immunocompromised (non-HIV) Host. International Herpes Management*. p. 4.
56. Boppana SB, Pass RF, Britt WJ, Stagno S, Alford CA. Symptomatic congenital cytomegalovirus infection: neonatal morbidity and mortality. *Pediatr Infect Dis J* 1992; 11(2): 93-9.
57. Hirsch MS. Cytomegalovirus and human herpesvirus types 6, 7, and 8. Kasper DL, Fauci AS, Longo DL, Braunwald E, Hauser SL, Jameson JL, eds. *Harrison's Principles of Internal Medicine*, 16th ed. McGraw-Hill; 2005, p. 1049-53.
58. Razonable RR. Epidemiology of cytomegalovirus disease in solid organ and hematopoietic stem cell transplant recipients. *Am J Health-Syst Pharm* 2005; 62(Suppl): S7-S13.

59. Cheung TW, Teich SA. Cytomegalovirus infection in patients with HIV infection. *Mt Sinai J Med* 1999; 66(2):113-24.
60. Scholz M, Doerr HW, Cinatl J. Human cytomegalovirus retinitis: pathogenicity, immune evasion and persistence. *Trends microbial* 2003; 11(4): 171-8.
61. Gleaves CA, Smith TF, Shuster EA, Pearson GR. Rapid detection of cytomegalovirus in MRC-5 cells inoculated with urine specimens by using low-speed centrifugation and monoclonal antibody to an early antigen. *J Clin Microbiol* 1984; 19(6): 917-19.
62. Griffiths PD, Panjwani DD, Stirk PR, Ball MG, Ganczakowski M, Blacklock HA, Prentice HG. Rapid diagnosis of cytomegalovirus infection in immunocompromised patients by detection of early antigen fluorescent foci. *Lancet* 1984; 2(8414): 1242-5.
63. van der Bij W, Torensma R, van Son WJ, Anema J, Schrim J, Tegzess AM, The TH. Rapid immunodiagnosis of active cytomegalovirus infection by monoclonal antibody staining of blood leucocytes. *J Med Virol* 1988; 25(2): 179-88.
64. van der Bij W, Schrim J, Torensma R, van Son WJ, Tegzess AM, The TH. Comparison between viremia and antigenemia for detection of cytomegalovirus in blood. *J Clin Microbiol* 1988; 26(12): 2531-5.
65. Numata S, Nakamura Y, Imamura Y, Honda J, Momosaki S, Kojiro M. Rapid quantitative analysis of human cytomegalovirus DNA by the real-time polymerase chain reaction method. *Arch Pathol Lab Med* 2005; 129(2): 200-4.
66. Ghisetti V, Barbui A, Franchello A, Varetto S, Pittaluga F, Bobbio M, Salizzoni M, Marchiaro G. Quantitation of cytomegalovirus DNA by the polymerase chain reaction as a predictor of disease in solid organ transplantation. *J Med Virol* 2004; 73(2): 223-9.
67. Boeckh M, Huang M, Ferrenberg J, Stevens-Ayers T, Stensland L, Nichols WG, Corey L. Optimization of quantitative detection of cytomegalovirus DNA in plasma by real-time PCR. *J Clin Microbiol* 2004; 42(3): 1142-8.
68. Shin CH, Park GS, Hong KM, Paik MK. Detection and typing of HSV-1, HSV-2, CMV and EBV by quadruplex PCR. *Yonsei Med J* 2003; 44(6): 1001-7.
69. Palestine AG, Polis MA, De Smet MD, Baird BF, Fallon J, Kovacs JA, Davey RT, Zurdo JJ, Zunich KM, Davis M. A randomized, controlled trial of foscarnet in the treatment of cytomegalovirus retinitis in patients with AIDS. *Ann Intern Med* 1991; 115(9): 665-73.
70. Rubin RH. Preemptive therapy in immunocompromised hosts. *N Engl J Med* 1991; 324(15): 1057-9.
71. Goodrich JM, Mori M, Gleaves CA, Du Mond C, Cays M, Ebeling DF, Buhles WC, DeArmond B, Meyers JD. Early treatment with ganciclovir to prevent cytomegalovirus disease after allogenic bone marrow transplantation. *N Engl J Med* 1991; 325(23): 1601-7.
72. Goodrich JM, Bowden RA, Fisher L, Keller C, Schoch G, Meyers JD. Ganciclovir prophylaxis to prevent cytomegalovirus disease after allogeneic marrow transplant. *Ann Intern Med* 1993; 118(3): 173-8.
73. Spector SA, McKinley GF, Lalezari JP, Samo T, Andruckz R, Follansbee S, Sparti PD, Havlir DV, Simpson G, Buhles W, Wong R, Stempien M. Oral ganciclovir for the prevention of cytomegalovirus disease in persons with AIDS. *Roche Cooperative Oral Ganciclovir Study Group. N Engl J Med* 1996; 334(23): 1491-7.
74. Drew WL, Ives D, Lalezari JP, Crumpacker C, Follansbee SE, Spector SA, Benson CA, Friedberg DN, Hubbard L, Stempien MJ, Shadman A, Buhles W. Oral ganciclovir as maintenance treatment for cytomegalovirus retinitis in patients with AIDS. *N Engl J Med* 1995; 333(10): 615-20.
75. Merigan TC, Renlund DG, Keay S, Bristow MR, Starnes V, O'Connell JB, Resta S, Dunn D, Gamberg P, Ratkovec RM. A controlled trial of ganciclovir to prevent cytomegalovirus disease after heart transplantation. *N Engl Med* 1992; 326(18): 1182-6.
76. Baldanti F, Lurain N, Gerna G. Clinical and biologic aspects of human cytomegalovirus resistance to antiviral drugs. *Hum Immunol* 2004; 65(5): 403-9.
77. Erice A. Resistance of human cytomegalovirus to antiviral drugs. *Clin Microbiol Rev* 1999; 12(2): 286-97.
78. Yuhasz SA, Dissette VB, Cook ML, Stevens JG. Murine cytomegalovirus is present in both chronic active and latent states in persistently infected mice. *Virology* 1994; 202(1): 272-80.
79. Rawlinson WD, Farrell HE, Barrell BG. Analysis of the complete DNA sequence of murine cytomegalovirus. *J Virol* 1996; 70(12): 8833-49.
80. Scott GM, Ng HL, Morton CJ, Parker MW, Rawlinson WD. Murine cytomegalovirus resistant to antivirals has genetic correlates with human cytomegalovirus. *J Gen Virol* 2005; 86(8): 2141-51.
81. Schleiss MR, Bourne N, Bravo FJ, Jensen NJ, Bernstein DI. Quantitative-competitive PCR monitoring of viral load following experimental Guinea pig cytomegalovirus infection. *J Virol Methods* 2003; 108(1): 103-10.
82. Schleiss MR, Bourne N, Bernstein DI. Preconception vaccination with a glycoprotein B (gB) DNA vaccine protects against cytomegalovirus (CMV) transmission in the Guinea pig model of congenital CMV infection. *J Infect Dis* 2003; 188(12): 1868-74.
83. Bravo FJ, Bourne N, Schleiss MR, Bernstein DI. An animal model of neonatal cytomegalovirus infection. *Antiviral Res* 2003; 60(1): 41-9.
84. van der Strate BWA, Hillebrands JL, Lycklama à Nijeholt SS, Beljaars CA, Bruggeman CA, van Luyk MJA, Rozing J, The TH, Meijer DKF, Molema G, Harmsen MC. Dissemination of rat cytomegalovirus through infected granulocytes and monocytes in vitro and in vivo. *J Virol* 2003; 77(20): 11274-8.
85. Krogerus L, Soots A, Bruggeman C, Loginov R, Ahonen J, Lautenschlager I. CMV increases TNF-alpha expression in a rat kidney model of chronic rejection. *Transplant Proc* 2003; 35(2): 803.
86. Kravitz RH, Scibica KS, Cho K, Luciw PA, Barry PA. Cloning and characterization of rhesus cytomegalovirus glycoprotein B. *J Gen Virol* 1997; 78(8): 2009-13.
87. Sequeira G, Britt WJ, Lakeman FD, Lockridge KM, Tarara RP, Canfield DR, Zhou SS, Gardner MB, Barry PA. Experimental coinfection of rhesus macaques with rhesus cytomegalovirus and simian immunodeficiency virus: pathogenesis. *J Virol* 2002; 76(15): 7661-71.

88. Einsele H, Hebart H. CMV-specific immunotherapy. *Hum Immunol* 2004; 65(5): 558-64.
89. Lim JB, Kwon OH, Kim HS, Kim HO, Choi JR, Provenzano M, Stroncek D. Adoptive immunotherapy for cytomegalovirus (CMV) disease in immunocompromised patients. *Yonsei Med J* 2004; 45(Suppl): S18-S22.
90. André-Schmutz I, Dal Cortivo L, Hamel Y, Cavazzana-Calvo M. Gene transfer for activation of CMV specific T cells. *Hum Immunol* 2004; 65(5): 565-70.
91. Paston SJ, Dodi IA, Madrigal JA. Progress made towards the development of a CMV peptide vaccine. *Hum Immunol* 2004; 65(5): 544-9.
92. Pepperl S, Munster J, Mach M, Harris JR, Plachter B. Dense bodies of human cytomegalovirus induce both humoral and cellular immune responses in the absence of viral gene expression. *J Virol* 2000; 74(13): 6132-46.
93. Endresz V, Kari L, Berencsi K, Kari C, Gyulai Z, Jeney C, Pincus S, Rodeck U, Meric C, Plotkin SA, Gonczol E. Induction of human cytomegalovirus (HCMV)-glycoprotein B (gB)-specific neutralizing antibody and phosphoprotein 65 (pp65)-specific cytotoxic T lymphocyte responses by naked DNA immunization. *Vaccine* 1999; 17(1): 50-8.

