

UNIVERSITEIT GENT

FACULTEIT DIERGENEESKUNDE

Academiejaar 2014-2015

## **Pathogenese van cytomegalovirus infecties bij de muis**

door

Sara KOCKELBERG

Promotoren: Prof. dr. H. Nauwynck  
Dr. J. Xiang

Literatuurstudie in het kader  
van de Masterproef

© 2015 Sara Kockelberg



*Universiteit Gent, haar werknemers of studenten bieden geen enkele garantie met betrekking tot de juistheid of volledigheid van de gegevens vervat in deze masterproef, noch dat de inhoud van deze masterproef geen inbreuk uitmaakt op of aanleiding kan geven tot inbreuken op de rechten van derden.*

*Universiteit Gent, haar werknemers of studenten aanvaarden geen aansprakelijkheid of verantwoordelijkheid voor enig gebruik dat door iemand anders wordt gemaakt van de inhoud van de masterproef, noch voor enig vertrouwen dat wordt gesteld in een advies of informatie vervat in de masterproef.*

UNIVERSITEIT GENT

FACULTEIT DIERGENEESKUNDE

Academiejaar 2014-2015

## **Pathogenese van cytomegalovirus infecties bij de muis**

door

Sara KOCKELBERG

Promotoren: Prof. dr. H. Nauwynck  
Dr. J. Xiang

Literatuurstudie in het kader  
van de Masterproef

© 2015 Sara Kockelberg

## VOORWOORD

Het schrijven van een masterproef is een opdracht waar veel tijd en energie in kruipt. Gelukkig heb ik beroep kunnen doen op verschillende mensen waardoor ik deze literatuurstudie tot een goed einde heb kunnen brengen. Zij hebben geprobeerd om mij zo goed mogelijk te helpen en bij te staan waar nodig. Ik wil hen dan ook graag via deze weg van harte bedanken.

Mijn grootste dank gaat uit naar mijn promotor professor Nauwynck, die ondanks zijn drukke schema tijd kon vrijmaken voor het nalezen van mijn werk. Dankzij zijn hulp heb ik deze studie zowel inhoudelijk als structureel goed vorm kunnen geven. Daarnaast wil ik ook de medewerkers van de bibliotheek van de faculteit diergeneeskunde bedanken voor hun duidelijke uitleg over de interbibliothecaire uitleendienst, dit heeft mij een heel goede bron opgeleverd.

En als laatste wil ik graag al mijn vrienden, familie en medestudenten bedanken voor hun onvoorwaardelijke steun en geduld tijdens de momenten dat ik het eventjes niet meer zag zitten. Van harte bedankt iedereen!

## INHOUDSOPGAVE

SAMENVATTING .....	1
1. INLEIDING .....	2
2. LITERATUURSTUDIE .....	3
2.1. Klassificatie en eigenschappen .....	3
2.2. Epidemiologie en transmissie.....	3
2.3. Pathogenese.....	4
2.3.1. Factoren die de pathogenese kunnen beïnvloeden.....	4
2.3.1.1. Het weefsel .....	4
2.3.1.2. De muizenstam .....	5
2.3.1.3. De virusstam .....	5
2.3.1.4. De route van inoculatie.....	5
2.3.1.5. De leeftijd van de muis .....	5
2.3.1.6. Oorsprong van het virus .....	5
2.3.1.7. De dosis van het virus .....	5
2.3.1.8. De immuniteitsstatus van de muis .....	6
2.3.2. Effect van het virus op verschillende weefsels .....	6
2.3.2.1. De lever.....	6
2.3.2.2. Vrouwelijk voortplantingsstelsel.....	7
2.3.2.3. Mannelijk voortplantingsstelsel.....	7
2.3.2.4. Embryonaal en foetaal weefsel.....	7
2.3.2.5. Longen .....	8
2.3.2.6. Centraal zenuwstelsel .....	8
2.3.2.7. Speekselklier.....	8
2.3.2.8. Hart en bloedvaten .....	9
2.3.2.9. Oog .....	9
2.3.2.10. Oor.....	10
2.3.2.11. Bijnier.....	10
2.3.2.12. Hematopoïese .....	11
2.3.2.13. Milt en lymfoïde organen .....	11
2.4. Latentie en reactivatie .....	12
2.5. Diagnose, preventie en controle.....	12
2.6. Het humane cytomegalovirus.....	13
2.6.1. Inleiding .....	13
2.6.2. Epidemiologie en transmissie .....	13
2.6.3. Klinische gevolgen van een infectie met het humane cytomegalovirus .....	14
2.6.3.1. Congenitale infectie.....	14
2.6.3.2. Retinitis .....	14
2.6.3.3. Infectie van het centraal zenuwstelsel .....	14
2.6.3.4. Interstitiële pneumonitis.....	15
2.6.3.5. Myocarditis.....	15
2.6.3.6. Atherosclerose .....	15
2.6.3.7. Adrenalitis .....	15
2.6.3.8. HCMV na beenmergtransplantatie .....	16
2.6.3.9. Hepatitis.....	16
2.6.4. Bruikbaarheid van het muismodel.....	16
3. BESPREKING .....	18
4. LITERATUURLIJST.....	19

## **SAMENVATTING**

Het cytomegalovirus behoort tot de *β herpesvirinae*, een subfamilie van de herpesvirussen. De cytomegalovirussen staan bekend om hun strikte gastheerspecificiteit, hun trage reproductiecyclus en hun vermogen om geïnfekteerde cellen te laten vergroten (cytomegalie). Het virus kan ook latent aanwezig blijven en onder bepaalde omstandigheden terug gereactiveerd worden.

Het cytomegalovirus komt endemisch voor bij wilde muizenpopulaties verspreid over heel de wereld. In tegenstelling tot wilde muizen, zijn de meeste laboratoriummuizen vrij van het murine cytomegalovirus. Om de pathogenese van het virus te bestuderen, worden laboratoriummuizen intraperitoneaal (of via andere wegen, afhankelijk van welk orgaan men wil onderzoeken) geïnoculeerd. Naast de route van inoculatie, kan de pathogenese ook nog beïnvloed worden door andere factoren zoals de muizenstam, de virusstam, de leeftijd van de muis, de dosis van het virus en de immuniteitsstatus van de muis. De pathogenese van het virus werd al uitgebreid bestudeerd op verschillende organen.

De reden dat de pathogenese van dit virus al zo uitgebreid bestudeerd is bij de muis, is omdat het virus nog steeds een groot probleem vormt in de humane geneeskunde. Een cytomegalovirus infectie is een van de meest voorkomende perinatale besmettingen. Ook voor mensen met HIV/AIDS vormt het virus nog steeds een gevaar. Vaak ziet men bij deze patiënten retinitis, adrenalitis of encefalitis ten gevolge van een infectie met het virus. Ook na een orgaantransplantatie ziet men vaak complicaties met het cytomegalovirus. Voorbeelden hiervan zijn het ontstaan van myocarditis, interstitiële pneumonitis en hepatitis. Met het muismodel hoopt men om ook de pathogenese bij de mens beter te leren begrijpen.

**Keywords: Diseases – Human cytomegalovirus – Mouse model – Murine cytomegalovirus - Pathogenesis**

## 1. INLEIDING

In deze literatuurstudie wordt ingegaan op de pathogenese van cytomegalovirus infecties bij de muis. Het cytomegalovirus behoort tot de  *$\beta$ -herpesvirinae* en wordt gekenmerkt door een strikte gastheerspecificiteit, een zeer trage reproductiecyclus en het vermogen om geïnfekteerde cellen te laten vergroten. Het virus kan ook latent aanwezig blijven en onder bepaalde omstandigheden terug gereactiveerd worden. Het cytomegalovirus komt endemisch voor bij wilde muizen over heel de wereld. Wanneer een gezonde, wilde muis op natuurlijke wijze besmet wordt met het virus zal dit normaal asymptomatisch verlopen. Enkel wanneer de muis een onderdrukte of immature immuniteit heeft, kan de infectie met het cytomegalovirus resulteren in ziekte en soms zelfs sterfte (Shellam et al, 2006). Bij laboratoriummuizen wordt er op artificiële wijze virus geïnoculeerd om de replicatie in de verschillende organen te kunnen bestuderen. Naast de verschillende routes van inoculatie, kan de pathogenese ook beïnvloed worden door andere factoren zoals de virusstam, de muizenstam, de dosis van het virus, de leeftijd van de muis en de immuniteitsstatus van de muis. Dit wordt verder besproken in deze literatuurstudie.

Het is niet zonder reden dat de pathogenese van cytomegalovirus infecties bij muizen zo uitgebreid bestudeerd wordt. Infecties met dit virus vormen in de humane geneeskunde nog steeds een groot probleem. Net zoals bij de muis, komen infecties met het humane cytomegalovirus wereldwijd voor. Bij gezonde individuen gaat een infectie met het cytomegalovirus zelden in ziekte resulteren. Voor zwangere vrouwen vormt een primaire infectie met het cytomegalovirus wel een probleem. Er is dan kans op een congenitale infectie wat aanleiding kan geven tot mentale retardatie en doofheid bij het pasgeboren kind. Ook voor immunodeficiënte personen blijft het cytomegalovirus een gevaar. Het geeft dan ook vaak problemen bij mensen met HIV/AIDS of bij mensen die een orgaantransplantatie ondergaan hebben.

Gezien het virus heel gastheerspecifiek is, kan HCMV (humane cytomegalovirus) niet op de muis onderzocht worden. Vandaar dat men onderzoek doet naar MCMV (muriene cytomegalovirus) bij de muis om zo meer inzicht in de pathogenese van het cytomegalovirus bij de mens te verwerven. In deze literatuurstudie wordt eerst uitgebreid de pathogenese bij de muis besproken. Vervolgens worden enkele klinische ziektebeelden aangehaald die bij de mens gezien worden na een infectie met HCMV en als laatste wordt er bekeken hoe bruikbaar het muismodel kan zijn om ziektebeelden geïnduceerd door HCMV beter te begrijpen.



## 2. LITERATUURSTUDIE

### 2.1. KLASSIFICATIE EN EIGENSCHAPPEN

Het cytomegalovirus behoort tot de *β herpesvirinae*, een subfamilie van de herpesvirussen. Er zijn drie genera binnen de *betaherpesvirinae*: Cytomegalovirus, Muromegalovirus en Roseolovirus. Het humane cytomegalovirus hoort tot het genus Cytomegalovirus, terwijl het murine cytomegalovirus (alsook het rat cytomegalovirus) tot het genus Muromegalovirus behoort. Het genus Roseolovirus bevat de humane herpesvirussen 6 en 7 (Davison, 2007).

Cytomegalovirussen staan bekend om hun strikte gastheerspecificiteit, hun trage reproductiecyclus en hun vermogen om geïnfecteerde cellen te laten vergroten (cytomegalie). Een infectie met het cytomegalovirus verloopt meestal zonder symptomen tenzij de gastheer een verminderde of immature weerstand heeft. Na infectie kan het virus latent aanwezig blijven.

Cytomegalovirussen zijn grote dubbelstrengige DNA virussen met een diameter van ongeveer 230 nm. De kern met het linear, dubbelstrengig DNA wordt omgeven door het kapsied dat bestaat uit 162 kapsomeren (150 hexameren en 12 pentameren) die zorgen voor een eicosaëderische symmetrie. Tussen kapsied en envelop bevindt zich het tegument dat vergelijkbaar is met de matrix bij andere virussen en een aantal eiwitten bevat. Hierrond zit nog een envelop die bestaat uit een dubbele laag lipiden (meestal afkomstig van de gastheermembraan) en glycoproteïnen (Hudson, 1994; Shellam et al, 2006).

### 2.2. EPIDEMIOLOGIE EN TRANSMISSIE

Het murine cytomegalovirus komt endemisch voor bij wilde muizenpopulaties verspreid over heel de wereld. De natuurlijke gastheer is de *mus musculus domesticus*. In tegenstelling tot wilde muizen, zijn de meeste laboratoriummuizen vrij van MCMV. Transmissie gebeurt meestal via speeksel (hierin vinden we zeer hoge virustiters terug), maar ook andere secreties zoals tranen, urine en sperma kunnen infectieus virus bevatten. Muizen kunnen eveneens iatrogeen besmet worden via bijvoorbeeld bloedtransfusie of een harttransplantatie (Cheung en Lang, 1977; Rubin et al, 1984). Heel sporadisch vindt men ook het genoom van het cytomegalovirus terug in embryo's van een persistent besmette moeder (Chantler et al, 1979). Het is nog niet helemaal duidelijk of het virus afkomstig is van de kiemcellen of doorgegeven wordt via de placenta. Ook melk kan een mogelijke transmissieroute zijn volgens onderzoek (Wu et al, 2011). Colostrum zorgt eveneens voor de overdracht van antistoffen (Medearis en Prokay, 1978; Shellam et al, 2006). Deze zouden een acute infectie kunnen voorkomen maar men twijfelt eraan of het ook een persistente infectie kan onderdrukken.

Om het virus te kunnen overdragen is nauw contact tussen de dieren noodzakelijk. In laboratoria wordt dan ook vastgesteld dat het virus enkel spreidt tussen kooigenoten en niet tussen verschillende kooien. In de natuur zal de verspreiding van het virus afhangen van de op dat moment heersende populatiedichtheid. Tijdens periodes van een lage populatiedichtheid zal de prevalentie van MCMV

rond de 20 à 30% liggen, terwijl dit bij een hoge populatie dichtheid tot 75 à 95% kan opklimmen (Singleton et al, 2000; Shellam et al, 2006).

## 2.3. PATHOGENESE

### 2.3.1. Factoren die de pathogenese kunnen beïnvloeden

#### 2.3.1.1. Het weefsel

In principe kan het virus de meeste weefsels infecteren, maar binnen elk weefsel zijn er maar een bepaald aantal cellen die replicatie toelaten. Ook de aanwezigheid van een basaalmembraan kan ervoor zorgen dat het weefsel minder vatbaar is voor virusinfectie (Hudson, 1994).

**Tabel 1: Weefsels waar MCMV in kan vermenigvuldigen (Hudson, 1994)**

<i>Weefsel</i>	<i>Celtypes die vatbaar zijn</i>
Speekselklieren	Acinaire cellen
Pancreas	Acinaire cellen
Lever	Hepatocyten [Cellen van Kuppfer]**
Milt (lymfeknopen)	Reticulumcellen; megakaryocyten [macrofagen]
Long	Interstitiële cellen [histiocyten]
Trachea	[Epitheliale cellen]
CZS	Neuronen, gliacellen
Retina	Visuele receptoren
Nier	[Glomeruli]
Bijnier	Cortex
Hart	Spiervezel
Huid	[Dermale cellen]
Placenta	[Trofoblast]
Ovaria	Stromacellen; cellen van het corpus luteum
Testis	Cellen van Leydig
Embryo	Veel celtypes, waaronder fibroblasten
Bindweefsel	Fibroblasten
Beenmerg	[Leukocyten]; [progenitor cellen]
Bruin vet, spier	-

\* Andere cellen kunnen ook betrokken zijn, afhankelijk van de gastheer. Het virus kan ook persisteren, zonder te vermenigvuldigen in de verschillende cellen.

\*\* Van de cellen die tussen haakjes staan is er maar een deel van de populatie bij de virusrePLICATIE betrokken.

#### *2.3.1.2. De muizenstam*

Er is variatie tussen muizenstammen wat betreft de vatbaarheid voor MCMV infecties. Bij acute infecties zorgen H-2 geassocieerde en niet-H-2 geassocieerde genen (cmv-1) voor resistentie tegenover de letaliteit van MCMV. Er zijn verschillende haplotypes die zorgen voor meer of minder resistentie (Grundy et al, 1981). Bij het overwinnen van chronische infecties komen deze genen niet te pas (Shellam et al, 2006).

#### *2.3.1.3. De virusstam*

Onderzoek heeft aangetoond dat de K18 stam virulenter is dan de Smith stam. De virussen vertonen kleine verschillen in hun restrictie endonuclease profielen (Misra en Hudson, 1980; Hudson et al, 1988). De K18 stam ontstond na passage van de Smith stam over de speekselklier waarna men selecteerde op virulente varianten (Shellam et al, 2006).

#### *2.3.1.4. De route van inoculatie*

De meeste studies maken gebruik van een intraperitoneale inoculatie omdat deze makkelijk is om uit te voeren, maar inoculatie kan ook gebeuren via de voetzool, de neus, intraveneus, intramusculair, subcutaan, oraal en intra-orbitaal. Men vermoedt dat onder natuurlijke omstandigheden speeksel de meest voorkomende oorzaak van overdracht is tussen muizen. Onderzoek heeft aangetoond dat de intranasale inoculatie het best deze natuurlijke manier van besmetting benadert (Jordan, 1978; Shellam et al, 2006).

#### *2.3.1.5. De leeftijd van de muis*

Het virus is virulenter bij jonge muizen gezien zij een minder ontwikkelde immuniteit hebben dan oudere muizen. De resistentie tegenover letale MCMV infecties verbetert na het spenen en bereikt een hoogtepunt wanneer de muis 8 weken oud is (Shellam et al, 2006). Onderzoek heeft ook aangetoond dat de hersenen van neonatale muizen toegankelijker zijn voor MCMV infecties omdat de cellen nog in een fase van differentiatie zijn en de bloed-hersenbarrière nog meer permeabel is (Krpmotic et al, 2003).

#### *2.3.1.6. Oorsprong van het virus*

Virus afkomstig uit celculturen is minder virulent dan virus afkomstig uit de speekselklier. Bij infectie met virus afkomstig uit de speekselklier zal er schade aan de organen veroorzaakt worden, eventueel zelfs gepaard met mortaliteit, terwijl een infectie met virus uit celculturen vaak asymptomatisch zal verlopen. Opvallend is wel dat het virus afkomstig uit de speekselklier na een passage over een weefselcultuur zijn virulentie zal verliezen (Krpmotic et al, 2003).

#### *2.3.1.7. De dosis van het virus*

Uiteraard zal de ernst van de pathogenese ook afhangen van de dosis virus die men toedient. Sommige adulte muizen zullen bij lage dosissen bestand zijn tegenover MCMV infectie, maar als men een hoge dosis toedient, zal de resistentiebarrière toch doorbroken worden (Hudson, 1994).

### 2.3.1.8. De immuniteitsstatus van de muis

NK-cellen zijn zeer belangrijk bij het overwinnen van een MCMV-infectie. Een onderzoek met muizen die door een bepaalde mutatie geen NK-cellen hebben, toonde aan dat deze muizen na inoculatie van het virus veel hogere virustiters vertoonden in hun weefsels dan muizen die wel NK-cellen hebben (Shellam et al, 1981). De NK-respons wordt gecontroleerd door de locus *cmv-1*. Er bestaan 2 verschillende allelen die voorkomen op deze locus. Een ervan zorgt voor vatbaarheid ten opzichte van het virus, het andere zorgt voor resistentie (Krpmotic et al, 2003). Waar NK-cellen vooral een belangrijke rol spelen in het begin van de infectie, zijn T-lymfocyten belangrijk bij het beëindigen van de infectie, vooral de CD8+ T-lymfocyten. Toch is het zeer opvallend dat muizen zonder CD8+ lymfocyten er ook in slagen om de infectie onder controle te krijgen, vermoedelijk omdat de CD4+ lymfocyten en andere cellen (zoals macrofagen en B-cellen) dit tekort compenseren en voor bescherming zorgen (Jonjic et al, 1990).

### 2.3.2. Effect van het virus op verschillende weefsels

#### 2.3.2.1. Lever

Na intraperitoneale inoculatie is de lever een van de eerste weefsels dat geïnfecteerd raakt met het cytomegalovirus. De hepatocyten en in zekere mate de Kupffercellen zijn vatbaar voor virusvermeerdering. Bij gevoelige muizenstammen worden meer necrosehaarden waargenomen in de lever dan bij meer resistente stammen. Zowel bij de gevoelige als bij de resistente stammen bereikt de virustiter een hoogtepunt rond 3 à 4 dagen na inoculatie om vervolgens terug te dalen (Hudson, 1994). Ander onderzoek toonde aan dat bij toedienen van lethale dosissen MCMV aan gevoelige muizenstammen, hepatitis de oorzaak zou kunnen zijn van hun vroege overlijden. Er werden bij deze muizen ook verhoogde spiegels van transaminase en lipase in het serum waargenomen (Shanley et al, 1993). Men heeft ook vastgesteld dat het gehalte aan CD8+ T-cellen, die gamma interferon en tumor necrosis factor produceren als reactie op het virus, een invloed kunnen hebben op de ernst van de hepatitis. Hoe hoger het gehalte aan CD8+ T-cellen, hoe erger de hepatitis. Dit is wel enkel het geval bij lethale infecties van de lever, bij sublethale infecties zorgen de CD8+ T- cellen wel degelijk voor bescherming (Livingston-Rosanoff et al, 2012).

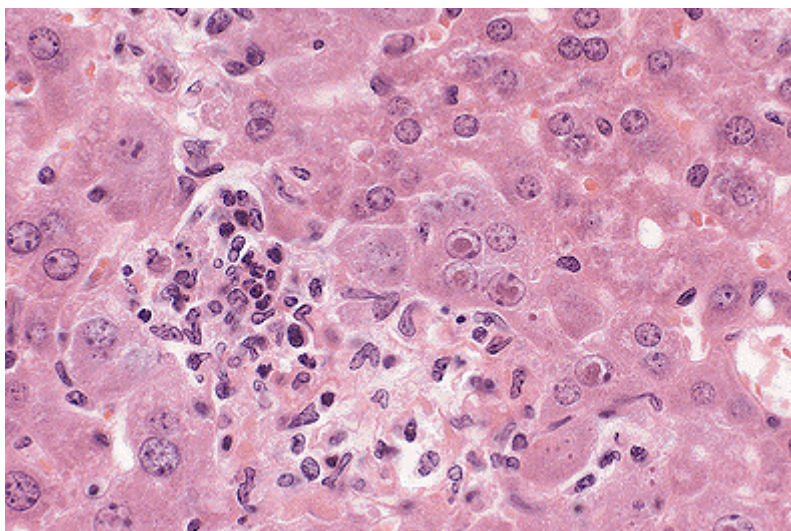


Fig. 1: Necrotiserende hepatitis bij een muis met cytomegalovirus inclusions (<http://www.askjpc.org/wsc0>)

#### *2.3.2.2. Vrouwelijk voortplantingsstelsel*

MCMV infecteert de ovaria, waar vooral de stromacellen het doelwit van het virus blijken te zijn. Men heeft aangetoond dat in het voortplantingsstelsel van pasgeboren muizen, die geïnfected zijn met MCMV, het virus veel sneller vermenigvuldigt dan in andere organen zoals het hart, de speekselklier, de lever, de thymus, de hersenen, de milt en de nier. Na 4 weken vindt men dan weer lagere virustiters terug in het voortplantingsstelsel in vergelijking met de andere organen. In de kiemcellen (oöcyten) kon men geen MCMV DNA aantonen. Bij adulte muizen die een acute infectie overleefden, vindt men kleine hoeveelheden viraal genoom terug in de ovaria en testes (2-5 MVMV gen equivalenten per 100 cellen) (Brautigam en Oldstone, 1980).

#### *2.3.2.3. Mannelijk voortplantingsstelsel*

MCMV in de testis zorgt voor ontsteking en schade aan de tubulus seminiferus wat zich uit in een complete desorganisatie en een gedaalde spermaproductie ondanks behoud van de Sertolicellen (Tebourbi et al, 2001). De gedaalde spermaproductie kan te maken hebben met het feit dat ook de Leydigcellen worden geïnfected (Balkar et al, 1983). Deze zouden het voornaamste doelwit zijn van het cytomegalovirus. Sperma uit de vas deferens was infectieus op muizenfibroblasten tot 3 dagen na inoculatie, maar er werden geen virions gevonden met de elektronenmicroscop. Met PCR kon men wel nog MCMV DNA aantonen tot 15 dagen na inoculatie. Opvallend is wel dat er nooit MCMV DNA aangetoond werd in het vrouwelijke geslachtsorgaan de dag na paring met een geïnfected mannetje. Waarschijnlijk is er toch iets van beschermende barrières aanwezig tijdens de bevruchting (Tebourbi, 2001).

#### *2.3.2.4. Embryonaal en foetaal weefsel*

MCMV kan normaal geen infectie veroorzaken bij foetussen als de zwangere moeder een infectie doormaakt. Het is nog niet helemaal duidelijk waarom het virus er niet in slaagt om de placenta te doorkuisen. Toch werd in onderzoek aangetoond dat het genoom van het cytomegalovirus kan teruggevonden worden in embryo's van persistent besmette moeders (Chantler et al, 1979). Of het virus via de placenta hierin terecht gekomen is of via de kiemcellen is nog niet helemaal duidelijk. Het gebeurt alleszins zeer zelden.

Ander onderzoek toonde wel aan dat wanneer MCMV wordt toegediend in het begin van de zwangerschap, het zorgt voor een verhoogde embryonale resorptie en een reductie in het geboortegewicht van de baby's (Huang et al, 1986; Shellam et al, 2006). De genetische achtergrond van de moeders heeft hierop een invloed: het aantal dode foetussen en de gewichtsreductie was veel hoger bij moeders met haplotype H-2d dan bij moeders met haplotype H-2k (Fitzgerald en Shellam, 1991). Wanneer men MCMV gaat inoculeren in het lumen van de baarmoeder van zwangere muizen, ziet men niet alleen een verhoogde foetale resorptie maar ook een verhoogd aantal foetussen met misvormingen (Baskar et al, 1987). Men kan dus concluderen dat een vroege infectie met MCMV niet alleen zorgt voor foetale sterfte en reductie in het geboortegewicht, maar ook interfereert met de morfogenese van de foetussen. Dit gebeurt wel louter onder artificiële omstandigheden.

#### 2.3.2.5. Longen

Via verschillende inoculatie routes treedt er virusvermeerdering op in de longen tijdens de acute fase van de infectie (Hudson, 1994). Bij volwassen muizen met normale immuniteit worden er hoge virustiters teruggevonden in de longen maar ziet men geen tekenen van pneumonie, terwijl er bij muizen met immunosuppressie zowel hoge virustiters als pneumonie teruggevonden worden. Onderzoek toonde aan dat de pneumonie waarschijnlijk eerder immunologisch gemedieerd is, in plaats van door schade veroorzaakt door het virus (Shanley et al, 1982; Tanaka 1996).

#### 2.3.2.6. Centraal zenuwstelsel

Tijdens een onderzoek werden foetussen op verschillende stadia tijdens de zwangerschap geïnoculeerd met MCMV om het effect ervan op de hersenen te kunnen bestuderen daar placentaire overdracht bij de muis normaal niet voorkomt. Foetussen op dag 8.5 van de zwangerschap, vertoonden microphthalmia en atrofie van de grote hersenen. Ook in het mesenchym werden zeer veel geïnfecteerde cellen waargenomen waarna de infectie zich uitbreidde naar de ogen, de hersenen en de plexus choroideus. Deze bevindingen tonen aan dat de infectie van de mesenchymale cellen een kritische stap kunnen zijn in de verstoring in de organogenese. Infectie op dag 15 van de zwangerschap zorgde voor enorme necrose in de hersenen (Tsutsui et al, 1995; Shellam et al, 2006).

Wanneer men pasgeboren muizen intracerebraal ging inoculeren met cytomegalovirus, resulteerde dit in necrotiserende encephalitis en misvorming van de grote hersenen. Infectie van 3-weken-oude muizen leidde tot een milde meningencefalitis (Lussier, 1973; Shellam et al, 2006). Om het effect bij volwassen muizen te bekijken, heeft men zowel immunocompetente als immunodeficiënte muizen perifeer geïnoculeerd met MCMV. De controlegroep met gezonde muizen slaagde erin om de infectie onder controle te krijgen en het virus kon de hersenen niet invaderen. Bij de groep met immunodeficiënte muizen daarentegen werd MCMV wel teruggevonden in de hersenen en in circulerende leukocyten. Men vermoedt dat het virus via deze circulerende leukocyten erin slaagt om de bloed-hersenbarrière te doorkruisen en de hersenen te infecteren (Reuter et al, 2004). Algemeen kan wel gesteld worden dat de hersenen van jonge muizen vatbaarder zijn voor hersenschade dan de hersenen van adulte muizen (Hudson, 1994).

#### 2.3.2.7. Speekselklier

Virusreplicatie is gelokaliseerd in de acinaire cellen van de submandibulaire speekselklier, de parotis en de sublinguale speekselklier. De infectie is gekenmerkt door een acute fase, gevolgd door een chronische fase waarvan de duur afhangt van de muizenstam. Bepaalde stammen kunnen sneller een effectieve immuunrespons genereren en de infectie beëindigen.

De replicatie gaat door in de nucleus van de cellen, het cytoplasma bevat vesikels die bestaan uit meer dan 100 virions met envelop. Deze vesikels versmelten met de plasmamembraan van de acinaire cellen en de virussen komen vrij in het lumen van de speekselklier waarna ze via de afvoergangen in de mondholte terecht komen samen met het speeksel. Wat opvallend is, is dat er geen beschadiging optreedt aan de geïnfecteerde cellen en dat het virus het normale secretiesysteem van de speekselklier gebruikt om zich te verspreiden (Hudson, 1994).

#### 2.3.2.8. Hart en bloedvaten

MCMV kan vermeerderen en lyse veroorzaken in de myocyten van het hart. Dit leidt tot ontsteking en necrose van de myocyten, wat op zijn beurt aanleiding kan geven tot myocarditis. Het is nog niet helemaal duidelijk wat de primaire oorzaak is van de myocarditis: komt dit door de directe schade veroorzaakt door het virus of door de virus geïnduceerde immunorespons? Er is MCMV die de myocarditis inleidt, maar waarschijnlijk spelen CD4+ en CD8+ T-cellen, alsook B-cellen die antistoffen produceren, macrofagen en neutrofielen mee een belangrijke rol in het ontstaan van een chronische myocarditis. Er zijn ook verschillen aangetoond tussen muizenstammen wat betreft de graad van myocarditis, waaruit men kan concluderen dat de genetische achtergrond van de gastheer van belang is bij de ontwikkeling van chronische myocarditis (Lenzo et al, 2002; Krmpotic et al, 2003).

Ander onderzoek toonde aan dat wanneer men BALB/c muizen inoculeert met MCMV, men virale expressie ziet in het endotheel en in de gladde spieren van de aorta. Er is ook opstapeling van inflammatoire cellen in het lumen van de aorta en een stijging van het low density lipoproteïne cholesterol (LDL-C) gehalte, dat voor het grootste aandeel van vet zorgt tijdens het ontstaan van atherosclerosis plaques. Men kan dus concluderen dat een MCMV infectie atherosclerose kan veroorzaken door de schade die aangebracht wordt door het immuunsysteem en door het verhoogde gehalte van LDL-C in het serum (Berensci et al, 1998; Krmpotic et al, 2003).

#### 2.3.2.9. Oog

Onderzoek heeft aangetoond dat wanneer men cytomegalovirus gaat injecteren in het corpus vitreum van immunocompetente muizen, deze een zelflimiterende infectie van het oog zullen doormaken. Wanneer men echter cytomegalovirus gaat inbrengen in het corpus vitreum van muizen die door het gebruik van cyclofosfamide aan immunosuppressie lijden, krijgen we een steeds erger wordende ooginfectie die zal resulteren in een retinitis gekenmerkt door necrose, cellen met cytomegalie, intranucleaire en intracytoplasmatische virusinclusies en acute en chronische ontsteking. Zowel bij de immunocompetente als bij de muizen met immunosuppressie is de virusinfectie het meest prominent aanwezig in de uvea, wat geïllustreerd wordt in figuur 2 (Holland et al, 1990; Bale et al, 1991). Bij muizen met immunosuppressie die intraveneus geïnoculeerd werden, heeft men vastgesteld dat de bloed-hersenbarrière bescherming kan bieden tegen verspreiding naar de retina (Duan et al, 1996; Zhang et al, 2005).

Men kan het virus ook gaan inoculeren via de supraciliaris, wat volgens onderzoek op adulte BALB/c muizen bij 60% een typische retinitis zal geven (Atherton et al, 1991). Samengevat zal MCMV geen retinitis veroorzaken bij gezonde muizen tenzij er geïnoculeerd wordt via de supraciliaris. (Shellam et al, 2006).

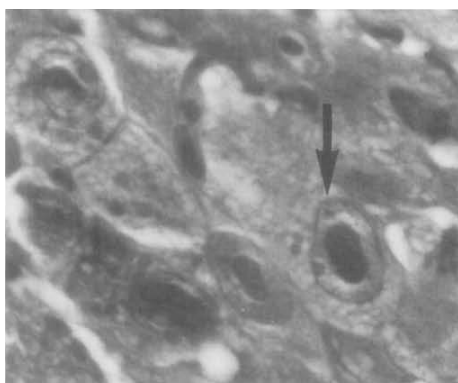


Fig. 2: Uvea van oog vijf dagen na inoculatie met MCMV (Holland et al, 1990)

#### 2.3.2.10. Oor

Om het effect van MCMV op de oren van pasgeboren muizen te onderzoeken, heeft men MCMV geïnjecteerd in de placenta van zwangere muizen op dag 12 van de zwangerschap, een periode waarin actieve neurogenese plaatsvindt in de foetus. Achteraf kon men DNA van MCMV terugvinden in het slakkenhuis (cochlea) van de nakomelingen, waar het vooral gelokaliseerd was in de neuronen van het spiraal ganglion, in de stria vascularis en in het ligamentum spirale. Men heeft de geïnfecteerde neuronen van het spiraal ganglion microscopisch bekeken en vastgesteld dat het aantal neuronen afnam naarmate de muizen ouder werden en er een duidelijke zwelling was van de organellen in de neuronen. Door deze pathologische veranderingen kunnen de neuronen geen proteïnen meer aanmaken en zal het gehoor aangetast worden, wat door de onderzoekers ook werd vastgesteld (Chen et al, 2011).

In een ander onderzoek is men pasgeboren muizen intracerebraal gaan inoculeren met MCMV waarbij men 21 dagen na de infectie zag dat de haarcellen begonnen afsterven. Vreemd genoeg was de cochlea waarin de haarcellen zich bevinden na 14 dagen volledig vrij van MCMV, dus men vermoedt dat de gehoorschade bij een MCMV infectie niet zozeer veroorzaakt wordt door de directe infectie met het virus zelf, maar door de uitgebreide labyrinthitis die ontstaat als reactie op de infectie (Schachtele et al, 2011).

#### 2.3.2.11. Bijnier

Men heeft onderzocht wat er gebeurde met de bijnier als men MCMV ging inoculeren in naakte muizen. Naakte muizen zijn een speciale muizenstam met een bepaalde mutatie die ervoor zorgt dat als de muis homozygoot is voor deze mutatie, ze geen thymus en dus ook een geïnhibeerd immuunsysteem zal hebben door de T-cel deficiëntie. Wanneer men het virus ging inoculeren bij deze naakte muizen, werd bij degenen die homozygoot zijn voor de mutatie, een duidelijke virusrePLICATIE met hoge virustiters in de bijnier waargenomen wat aanleiding gaf tot een destructieve adrenalitis. Bij de heterozygoten met een intacte thymus werd dit niet waargenomen. Opvallend was ook dat de virusrePLICATIE in de homozygote muizen verminderd kon worden door 3 weken voor de virusinfectie normale miltcellen in te brengen die zorgden voor een zekere reconstructie van het immuunsysteem (Shanley en Pesanti, 1986).

In een ander onderzoek is men er wel in geslaagd om een acute infectie van de bijnier te veroorzaken bij immunocompetente adulte muizen. Toch zorgde dit niet voor een aantasting van de werking van de bijnier. Er werd tijdens de infectie nog steeds een normale hoeveelheid circulerend ACTH gemeten en de respons op het toedienen van synthetisch ACTH was ook nog steeds normaal. Verder werd er vastgesteld dat de gehaltes aan corticosteron erg stegen na de infectie. De corticale respons was zelfs van levensbelang bij deze muizen. Muizen bij wie de bijnier werd weggenomen stierven, zelfs wanneer er een dosis gegeven werd die 5 keer lager was dan dat ze onder normale omstandigheden konden overleven (Price et al, 1996).



#### 2.3.2.12. Hematopoïese

Men heeft aangetoond dat infectie met MCMV beenmergplasie kan veroorzaken. Dit zorgt voor een verminderde aanmaak van bloedcellen in het beenmerg. Toch vermoedt men dat deze verminderde aanmaak van bloedcellen niet te wijten is aan rechtstreekse beschadiging van de stamcellen of de progenitorcellen door het virus. Wanneer men de progenitorcellen van geïnficeerd beenmerg gaat verplaatsen naar een omgeving met gezonde stromacellen, gaan deze normaal groeien en differentiëren. Men kan dus stellen dat de differentiatie van progenitorcellen tijdens een cytomegalovirus infectie gestoord worden door een gebrek aan gezonde stromacellen (Busch et al, 1991; Krmpotic et al, 2003). De stromacellen worden nochtans niet vernietigd door de MCMV infectie, maar ze worden wel functioneel aangetast. Zo is er een verminderde productie van G-SCF en IL-6 die beiden een essentiële rol vervullen in de hematopoïese (Mayer et al, 1997; Krmpotic et al, 2003).

In een ander onderzoek heeft men ook vastgesteld dat MCMV infectie de vroegste stappen in de hematopoïese verstoort, waardoor er geen herstel van het beenmerg meer kon plaatsvinden bij muizen die werden blootgesteld aan radioactieve straling. Deze muizen konden ondanks het beschadigde beenmerg toch overleven wanneer er antivirale CD8+ T-cellen werden toegediend of wanneer er een beenmergtransplantatie plaatsvond. Dit duidt op de zeer belangrijke rol van deze CD8+ T-cellen in het overleven van de infectie (Mutter et al, 1988; Shellam et al, 2006).

#### 2.3.2.13. Bloedcellen

Ondanks het feit dat viremie een normale fase is tijdens een MCMV infectie, toch kan er maar weinig virus in vrije vorm aangetoond worden. Het grootste deel van het virus is geassocieerd met de leukocyten. De enige manier om onder experimentele omstandigheden een significante infectie van het bloed te bekomen is door grote hoeveelheden virus intraveneus in te spuiten. Onder deze omstandigheden kan men het virus gedurende enkele dagen in de leukocytenfractie aantonen.

Het virus is ook in staat om veranderingen in het bloedbeeld te veroorzaken wanneer men de muizen aan lethale dosissen van het virus blootstelt. Deze zijn het meest duidelijk waar te nemen bij de eosinofielen en de bloedplaatjes. Deze veranderingen in bloedbeeld kunnen te wijten zijn aan een gestoorde ontwikkeling van de progenitorcellen van het beenmerg (Hudson, 1994).

#### 2.3.2.14. Milt en lymfoïde organen

Algemeen gesteld is de milt meestal mee betrokken in een acute infectie met MCMV, vooral wanneer het virus intraperitoneaal wordt geïnoculeerd. Toch worden er nooit echt hoge virustiters waargenomen. De andere lymfoïde organen zijn meestal nog minder bij een MCMV infectie betrokken. Vooral de reticulumcellen van de milt zijn vatbaar voor infectie. Men kon in deze cellen de typische intracellulaire inclusies waarnemen en men vermoedt ook dat ze dienen als reservoir voor latent aanwezig virus (Pomeroy et al, 1991; Pollock et al, 1995). Er werd bij sommige muizenstammen ook immunosuppressie, vergroting en necrose van de milt gezien als reactie op het virus (Hudson, 1994).

In een andere studie kon men vaststellen dat MCMV de speciale architectuur van de milt aantast door de productie van het chemokine CCL21 te inhiberen dat normaal geproduceerd wordt door de stromacellen en zorgt voor de compartimentalisatie van de T-cellen (Benedict et al, 2006).

## 2.4. LATENTIE EN REACTIVATIE

Wanneer een muis een acute infectie met het cytomegalovirus heeft doorgemaakt, kan het virus achteraf in het lichaam aanwezig blijven. Dit kan onder de vorm van een persistente infectie, waarbij er constant een kleine hoeveelheid virus wordt geproduceerd in bepaalde weefsels, maar dit kan ook onder de vorm van een latente infectie. Hierbij is het viraal genoom wel terug te vinden in sommige weefsels maar is er geen actieve virusreproductie. Het virus bevindt zich in een soort slapende toestand (Shellam et al, 2006). Verschillende onderzoeken opperen dat het cytomegalovirus toch voornamelijk latent aanwezig blijft. Men kon tijdens de periode dat het virus 'in rust was' met PCR geen infectieus virus of transcriptiefactoren aantonen waaruit men concludeert dat er op dat moment geen persistente infectie aan de gang was en het virus dus eerder latent aanwezig blijft (Kurz et al, 1997; Reddehase et al, 2002).

Vanuit deze slapende toestand kan het virus terug gereactiveerd worden wanneer de immuniteit onderdrukt wordt (Duan en Atherton, 1995; Zhang et al, 2005; Shellam et al, 2006). De immuniteit kan onderdrukt worden door verschillende oorzaken: zwangerschap (Baskar et al, 1985), cyclofosfamide (Mayo et al, 1977), corticosteroïden en anti-lymfocyten serum (Jordan et al, 1977). Meestal volgt er geen ernstige ziekte na de reactivatie, omdat er reeds immuniteit is opgebouwd (Shellam et al, 2006). In een bepaald onderzoek heeft men wel ernstige longfibrose kunnen vaststellen bij muizen na reactivatie van MCMV (Cook et al, 2006). Naast immunosuppressie, is ook transplantatie van een latent geïnfecteerd orgaan een risicofactor voor de reactivatie van MCMV (Hamilton en Seaworth, 1985; Schmader et al, 2005; Li et al, 2012).

Men heeft het DNA van latent aanwezig virus in verschillende organen kunnen aantonen: hart, nier, lever, long, milt, hersenen en speekselklieren. Wat opvallend is, is dat de hoeveelheid DNA dat men kon terugvinden bij muizen die geïnfecteerd waren op een leeftijd van 4 weken veel groter was dan bij muizen die geïnfecteerd waren op een leeftijd van 7 weken. Waarschijnlijk komt dit omdat er een veel grotere reproductie was in deze organen tijdens de acute infectie (Collins et al, 1993). Een ander onderzoek stelde vast dat de hoeveelheid latent viraal genoom in de longen vele malen hoger was dan in de milt. De long is dus een erg risicovol orgaan voor de terugkeer van MCMV (Balthesen et al, 1993).

## 2.5. DIAGNOSE, PREVENTIE EN CONTROLE

De diagnose van MCMV kan gebeuren door het aantonen van antistoffen tegen het cytomegalovirus. Tegenwoordig screent men routinematig grote groepen muizen op antistoffen met ELISA. Toch zijn er bepaalde genetisch gemodificeerde muizenstammen die door bepaalde mutaties geen IgG-antistoffen meer kunnen aanmaken, dus in dat geval moet men gebruik maken van PCR. PCR is op zich gevoeliger dan ELISA, maar het viraal genoom dat aangetoond wordt met PCR bevindt zich maar in enkele specifieke weefsels van latent geïnfecteerde muizen. Het is dus iets omslachtiger. Dankzij het uitvoeren van regelmatige screenings en het gebruik van specifieke pathogen-free muizen,

gebeuren ongewilde MCMV infecties niet meer. Er moet wel goed opgelet worden voor overdracht van MCMV wanneer men sommige muizen experimenteel gaat besmetten of wanneer er wilde muizen binnengebracht worden in het laboratorium die vaak wel natuurlijk geïnfecteerd zijn. Er is dus niet echt de behoefte om een vaccin te ontwikkelen voor muizen zelf, maar er wordt wel onderzoek naar gedaan met het oog op een vaccin vinden tegen het humane cytomegalovirus (Shellam et al, 2006).

In een onderzoek heeft men aangetoond dat DNA vaccins wel degelijk bescherming kunnen bieden tegen MCMV en dat de bescherming door geïnduceerde CD8+ T-cellen sterker is dan de specifieke antistoffen tegen glycoproteïne B (Huang et al, 2014). Naast intramusculaire vaccins, is men ook bezig met het ontwikkelen van vaccins die men intranasaal kan inbrengen. Zo heeft men in een onderzoek het vesiculair stomatitis virus gebruikt als vector vaccin dat eiwitten van het cytomegalovirus tot expressie brengt. Vervolgens wordt dit intranasaal bij muizen ingebracht. De humorale en cellulaire immuniteit werden duidelijk geactiveerd en men kon ook zien dat de infectie in de longen werd gereduceerd (Wilson et al, 2008). Iets gelijkaardig werd gedaan door Shanley, maar dan met het adenovirus als vector van het gB-proteïne. Hier werden door het intranasaal vaccin de mucosale en systemische immuniteit geactiveerd en was er ook een reductie van de virustiters in de long (Shanley et al, 2003). Dit zijn zeker dingen waarop verder gewerkt kan worden in de bestrijding van HCMV.

## 2.6. HET HUMANE CYTOMEGALOVIRUS

### 2.6.1. Inleiding

De reden dat er zoveel onderzoek naar het cytomegalovirus bij de muis (en andere proefdieren) gedaan is, is omdat het cytomegalovirus nog steeds een groot probleem vormt in de humane geneeskunde. Een cytomegalovirus infectie is een van de meest voorkomende perinatale besmettingen. Wanneer een vrouw tijdens de zwangerschap een primaire infectie met CMV doormaakt, geeft dit een congenitale infectie in 30% van de gevallen. Bij een recurrente besmetting daarentegen is de kans op een congenitale infectie zeer klein, ongeveer 0,15 tot 1%. Deze congenitale infectie kan leiden tot doofheid en mentale achterstand (Goossens et al, 2003). Ook bij immunodeficiënte individuen kan het cytomegalovirus voor veel problemen zorgen. Het is een van de meest voorkomende en levensbedreigende virale infecties bij mensen met AIDS (Tomita et al, 1990). Ook bij mensen die een orgaantransplantatie ondergaan blijft het cytomegalovirus een van de meest voorkomende infectieuze complicaties (Lumbreras et al, 2014).

### 2.6.2. Epidemiologie en transmissie

HMCV infectie komt voor over de hele wereld. De prevalentie bij jonge vrouwen varieert van 45-100%. De prevalentie varieert van land tot land en komt vaker voor in landen met een lage socio-economische status. Onafhankelijk van het ras, zijn vrouwen op jonge leeftijd vaker geïnfecteerd dan

mannen. Op een leeftijd van 65 jaar is bijna iedereen, onafhankelijk van leeftijd, ras of socio-economische status seropositief voor CMV. In Europa is gemiddeld 45% van de vrouwen seropositief bij het begin van de zwangerschap (Goossens et al, 2003; Cannon et al, 2010). De belangrijkste bron van primaire CMV-infectie bij jonge vrouwen is intrafamiliale verspreiding van het virus door een jong kind. Kinderen worden vaak op jonge leeftijd met het virus besmet, de prevalentie van het virus in kinderdagverblijven bedraagt dan ook 22 tot 57%. Het virus wordt bij geïnfecteerde personen teruggevonden in het speeksel, bloed, cervixsecreties, sperma en urine. Overdracht gebeurt dus via nauw contact. Daarnaast is er ook besmetting mogelijk van de foetus via de placenta of besmetting via bloedtransfusies en orgaantransplantaties (Goossens et al, 2003). Er kan ook overdracht plaatsvinden via borstvoeding, maar gezonde baby's gaan hier zelden ziek van worden. Voor premature of zwakke baby's daarentegen is dit wel een risicovolle transmissieroute (Lawrence en Robert, 2006; Lombardi et al, 2012).

### **2.6.3. Klinische gevolgen van een infectie met het humane cytomegalovirus**

#### *2.6.3.1. Congenitale infectie*

Het humane cytomegalovirus is nog steeds de meest voorkomende congenitale infectie. Wanneer een zwangere vrouw een primaire infectie doormaakt, is de kans op een geïnfecteerde baby 30%. Het virus kan dus via de placenta naar de foetus verspreiden. Van de 30% dat geïnfecteerd werd tijdens de zwangerschap, zijn er 5 tot 18% symptomatisch bij de geboorte. Hiervan zal ongeveer 30% sterven en 80 tot 90% van de overlevenden zal kampen met neurologische problemen zoals neurosensoriële doofheid en mentale retardatie. De baby's die bij de geboorte geen symptomen vertonen maar wel geïnfecteerd zijn, ontwikkelen vaak gezichts- en gehoorsproblemen. De kans op een congenitale infectie bij recurrenente infecties bedraagt maar 0,15 tot 1% (Goossens et al, 2003).

#### *2.6.3.2. Retinitis*

Het cytomegalovirus is de grootste oorzaak van retinitis met mogelijke blindheid tot gevolg bij AIDS patiënten of mensen met iatrogeen gemedieerde immunosuppressie. De retinitis is gekenmerkt door een hemorrhagische necrose van de retina. Soms is er uitbreiding naar de fovea. Wanneer de fovea of de oogzenuw betrokken raken in de laesies, is er verslechtering van het gezichtsvermogen. De schade die het cytomegalovirus veroorzaakt aan de retina is irreversibel. Zonder behandeling kan de volledige retina beschadigd worden in 3 tot 6 maanden (Tan et al, 2011). Chorioretinitis komt ook voor bij 20-25% van de congenitaal geïnfecteerde kinderen (Shellam et al, 2006).

#### *2.6.3.3. Infectie van het centraal zenuwstelsel*

Zoals reeds hoger vermeld kan bij een congenitale infectie met HCMV het centraal zenuwstelsel van de foetus aangetast worden. Infectie van de hersenen met HCMV zorgt voor encefalitis en ontwikkelingsstoornissen van het jonge brein wat leidt tot mentale retardatie en neurosensoriële doofheid (Goossens et al, 2003; Pugel en Cekinovic, 2011). Ook bij AIDS patiënten kan het virus het

zenuwstelsel binnendringen wat kan leiden tot encefalitis, polyradiculomyelitis en perifere neuropathie (Arribas et al, 1996; Cinque et al, 1998).

#### *2.6.3.4. Interstitiële pneumonitis*

Interstitiële pneumonitis is een complicatie die vooral gezien wordt bij patiënten die een beenmergtransplantatie ondergaan. Men is er nog niet helemaal uit hoe de ziekte juist ontstaat, maar men vermoedt dat HCMV enkel zorgt voor de initiatie van de pneumonitis en niet voor de eigenlijke schade aan de longen. In een onderzoek heeft men vastgesteld dat er geen correlatie is tussen de hoeveelheid DNA van HCMV in de longen en de schade die men via histologie kon waarnemen in de longen. Men denkt dat de CD4+ en CD8+ T-cellen die gevormd worden als reactie op de infectie met HCMV verantwoordelijk zijn voor het ontstaan van de pathologische effecten. Verder onderzoek aan de hand van het muismodel is zeker nodig (Muller et al, 1995; Shellam et al, 2006).

#### *2.6.3.5. Myocarditis*

Het cytomegalovirus kan myocarditis veroorzaken. Vaak wordt het gezien na een harttransplantatie waarbij het kan zorgen voor afstoting van het weefsel of hartfalen, maar het is ook al vastgesteld bij AIDS-patiënten. (Shellam et al, 2006). Er zijn ook studies waarbij men het cytomegalovirus heeft kunnen aantonen als oorzaak van myocarditis bij immunocompetente personen (Kyto et al, 2005; Vanstechelman en Vandekerckhove al, 2012).

#### *2.6.3.6. Atherosclerose*

Men vermoedt dat HCMV een co-factor kan zijn in het ontstaan van atherosclerose. HCMV heeft de potentie om gladde spiercellen en endotheelcellen te infecteren, wat op zijn beurt leidt tot inflammatie. Er is productie van zuurstofradicalen en NF- $\kappa$ B. De activatie van NF- $\kappa$ B zorgt voor een verhoogde synthese van proinflammatoire cytokines, chemokines en adhesiemoleculen die zorgen dat de leukocyten aan het endotheel kunnen blijven plakken. Dit is een belangrijke stap in de ontsteking en het mogelijke ontstaan van atherosclerose. De productie van chemokines zorgt voor migratie van de gladde spiercellen. Verder heeft men aangetoond dat HCMV kan interageren met p53 en hierdoor de apoptose van de gladde spiercellen inhibeert en de proliferatie ervan stimuleert. Dit leidt tot accumulatie van de gladde spiercellen in de intima van het bloedvat. HCMV kan ook de stollingscascade activeren. Dit zijn allemaal aanwijzingen dat HCMV een rol zou kunnen spelen in het ontstaan van atherosclerose. Toch moet er nog veel onderzoek naar gebeuren want er zijn ook onderzoeken die deze hypothese tegenspreken (Lozingue, 1999; Degre et al, 2002).

#### *2.6.3.7. Adrenalitis*

Adrenalitis veroorzaakt door HCMV wordt vaak gezien bij AIDS patiënten. Tijdens een studie heeft men 73 bijnieren van patiënten met AIDS onderzocht. In 40 van de bijnieren (55%) kon men duidelijk ontsteking en necrose waarnemen veroorzaakt door HCMV. De necrose werd vooral gezien in de medulla en was meestal niet ernstig genoeg om insufficiëntie van de bijnier te veroorzaken (Chiu et al,

1994). In een andere studie kon men bij 56% van de AIDS patiënten die post-mortem werden onderzocht HCMV in de bijnier aantonen (Dore et al, 1995).

#### 2.6.3.8. HCMV na beenmergtransplantatie

Cytomegalovirus is nog steeds een probleem bij mensen die een beenmergtransplantatie ondergaan. Na de transplantatie wordt de immuniteit onderdrukt en opportunistische infecties zoals het cytomegalovirus kunnen dan dikwijls de kop opsteken. Het virus zorgt vaak voor ziekte, meestal pneumonitis (zie hoger), en soms zelfs voor sterfte (Muller et al, 1995; Stocchi et al, 1999). Tegenwoordig is men er dankzij het profylactisch gebruik van antivirale middelen (zoals ganciclovir) wel in geslaagd om zowel de mortaliteit als de morbiditeit drastisch naar beneden te halen (Baldanti et al, 2008). Men heeft ook aangetoond dat het toedienen van specifieke anti-CMV CD8+ T-cellen van de donor leiden tot een vermindering van de kans op reactivatie van HCMV in de acceptor (Cobbald et al, 2005).

#### 2.6.3.9. Hepatitis

De lever is een erg vatbaar orgaan voor een infectie met het cytomegalovirus. Bij een symptomatische congenitale infectie wordt er dan ook vaak hepatitis waargenomen. Dit uit zich in verhoogde waarden van serumtransaminases en hyperbilirubinemie met geelzucht. Ook bij mensen die een levertransplantatie ondergaan wordt er regelmatig een hepatitis ten gevolge van een infectie met HCMV vastgesteld. Hier ziet men eveneens verhoogde waarden van serumtransaminases, vaak vergezeld van langdurige koorts (Bronsther et al, 1988; Shellam et al, 2006). De leverschade die gezien wordt bij mensen na een transplantatie, wordt vermoedelijk veroorzaakt door het virus zelf en niet zozeer door de immunrespons op de infectie. Bij AIDS-patiënten is de lever vreemd genoeg zelden betrokken bij een HCMV-infectie (Shellam et al, 2006).

### 2.6.4. Bruikbaarheid van het muismodel

Cytomegalovirussen staan bekend om hun strikte gastheerspecificiteit. Het is dus niet mogelijk om de pathogenese van HCMV te bestuderen op proefdieren omdat het virus hier simpelweg niet in vermenigvuldigt. Er is wel één uitzondering: wanneer er in immunodeficiëntie muizen menselijk weefsel wordt ingebracht, kan het humane cytomegalovirus wel vermenigvuldigen in dit humaan getransplanteerd weefsel. Toch heeft ook dit model duidelijke beperkingen, men ziet bijvoorbeeld niet de vermenigvuldiging van het virus in verschillende weefsels zoals bij de mens wel gezien wordt. Ook de infectie van endotheelcellen en gladde spiercellen in menselijke cellen kan op deze manier niet bestudeerd worden (Shellam et al, 2006).

De infectie van MCMV in muizen komt wel in bepaalde mate overeen met de infectie van HCMV in mensen. Het muismodel wordt nu dan ook wijdverspreid gebruikt om de pathogenese van het cytomegalovirus te bestuderen (Shellam et al, 2006). Toch zijn er uiteraard ook enkele verschillen waardoor het muismodel geen perfecte weergave is van de pathogenese zoals ze bij de mens gezien wordt. Een mooi overzicht wordt weergegeven in onderstaande tabel.

**Tabel 2: Bruikbaarheid van het MCMV model bij ziekte geïnduceerd door HCMV (Shellam et al, 2006)**

<i>Ziekte bij de mens</i>	<i>Kenmerken muismodel</i>
Congenitale infectie	Er is geen transplacentaire infectie, maar abortus na infectie van de moeder wordt wel gezien net als bij de mens. Wanneer men een foetus artificieel met MCMV inoculeert, wordt de ontwikkeling van de neurale buis verstoord.
Infectie van het CZS	Geen congenitale infectie. Artificiële inoculatie leidt tot microftalmie en atrofie van de grote hersenen bij foetale muizen. Wanneer men pasgeboren muizen intracerebraal infecteert, ziet men necrotiserende ependymitis, encefalitis en malformatie van de grote hersenen zoals bij een menselijke congenitale infectie gezien wordt. Infectie van adulte muizen die immunodeficiënt zijn resulteert in een infectie van het CZS en encefalitis.
Retinitis	Om een retinitis te induceren moet MCMV supraciliair geïnoculeerd worden. Er wordt een progressieve focale necrose waargenomen die versterkt wordt wanneer er depletie is van de CD8+ cellen.
Effect op het ontwikkelende oor	De muis kan niet gebruikt worden als model voor gehoorsverlies bij kinderen na een congenitale infectie. Infectie van de muis bij de geboorte resulteert in perilabyrinthitis, terwijl kinderen die congenitaal geïnfecteerd werden een endolabyrinthitis ontwikkelen.
Interstitiële pneumonitis	Lijkt in essentie op de ziekte die gezien wordt bij de mens; ontstaat na immunosuppressie, maar de virale replicatie is enkel indirect gerelateerd aan de pathologie die gezien wordt. De ernst van de ziekte wordt gereduceerd maar niet voorkomen door antivirale middelen. De antivirale T-cel respons is noodzakelijk voor het ontstaan van de ziekte, maar er is nog controverse over het relatief belang van de CD4+ of CD8+ T-cellen.
Hepatitis	Lijkt op de ziekte die gezien wordt bij mensen. Bij volwassenen vermenigvuldigt het virus in de hepatocyten. De plaatsen van ontsteking bestaan vooral uit T-cellen en worden geïnitieerd door NK-cellen, IFN- $\gamma$ en MIP- $\alpha$ . IFN- $\gamma$ dat geproduceerd wordt door de NK-cellen is belangrijk in het onder controle houden van de murine infectie. In lethale infecties zijn de cytopathische effecten van de virale infectie dominant aanwezig. Hoge TNF- $\alpha$ en IFN- $\gamma$ titers hebben eerder een toxisch dan een beschermend effect.
Myocarditis	Lijkt op de ziekte die gezien wordt bij de mens na een harttransplantatie. Normale muizen ontwikkelen een acute en persistente ontsteking van het hart die vooral gemedieerd wordt door CD8+ T-cellen in de aanwezigheid van kleine hoeveelheden virus. De virale dosis en de genetische achtergrond van de gastheer beïnvloeden de reactie. Autoantistoffen tegen myosine worden geïnduceerd door MCMV en zouden kunnen bijdragen tot de myocarditis. Dit is niet beschreven bij mensen.
Atherosclerose	HCMV kan bijdragen tot deze ziekte door ontsteking te veroorzaken in de bloedvaten en de migratie en proliferatie (door het blokkeren van de apoptose) van gladde spiercellen te stimuleren. Het muismodel vertoont gelijkaardige kenmerken maar wordt vooral gebruikt voor mechanische studies bij muizen waarvan enkele genen uitgeschakeld werden.
Adrenalitis	Infectie van de bijnier bij immunodeficiënte muizen lijkt op de necrose van de bijnier die gezien wordt bij HIV/AIDS patiënten.
Falen van de hematopoïese	Lijkt op wat gezien wordt bij HCMV. Na bestraling van het beenmerg zorgen de antivirale CD8+ T-cellen ervoor dat de hematopoïese stand houdt. MCMV voorkomt de reconstitutie van het beenmerg door de productie van bepaalde cytokines door stamcellen te inhiberen.

### 3. BESPREKING

De reden dat er zoveel onderzoek gedaan wordt naar de pathogenese van cytomegalovirus infecties bij de muis, is omdat het cytomegalovirus in de humane geneeskunde nog steeds een groot probleem vormt. De pathogenese van het cytomegalovirus is op nagenoeg elk orgaan van de muis uitgebreid bestudeerd.

Sommige organen raken besmet na intraperitoneale inoculatie, andere organen moeten op een meer artificiële manier geïnfecteerd worden om ziektebeelden te verkrijgen zoals deze bij de mens gezien worden. Dit is bijvoorbeeld het geval bij retinitis. Dit kan bij de muis enkel veroorzaakt worden wanneer het virus supraciliair of in het corpus vitreum geïnoculeerd wordt terwijl het bij immunodeficiënte mensen gezien wordt na een natuurlijke besmetting.

Niet alleen de wijze van inoculatie maar ook andere variabelen zoals gastheerfactoren en viruskenmerken leiden tot zeer verschillende onderzoeksresultaten. Hierdoor is het nog moeilijk om tot een algemene conclusie te komen over de orgaanspecifieke pathogenese. Een voorbeeld hiervan zijn de verschillende hypothesen over het ontstaan van gehoorschade bij pasgeboren muizen wanneer tijdstip en wijze van inoculatie anders zijn.

Een van de grootste tekortkomingen van het muismodel is echter het feit dat er geen transplacentaire infectie mogelijk is. Primaire congenitale infecties met het cytomegalovirus vormen in de humane geneeskunde nog steeds een groot probleem en er moet dus zeker nog verder onderzoek naar gebeuren. Bij de muis kunnen de effecten van het virus op de foetus wel bestudeerd worden, maar dan moet de foetus kunstmatig met MCMV geïnoculeerd worden. Daarom maakt men ook nog gebruik van andere proefdieren zoals de cavia waarbij een congenitale infectie met CMV wel mogelijk is.

Toch is het muismodel zeker een veelbelovend en bruikbaar model om de pathogenese van dit virus verder te bestuderen. Er zal nog veel onderzoek moeten gebeuren om deze complexe pathogenese volledig te begrijpen, maar het muismodel zal zeker verder kunnen bijdragen tot nieuwe inzichten en op termijn hopelijk ook tot betere preventie en behandeling van infecties met het cytomegalovirus bij de mens.



#### 4. LITERATUURLIJST

- Arribas J.R., Storch G.A., Clifford D.B., Tselis A.C. (1996).** Cytomegalovirus encephalitis. *Annals of internal medicine* 125, 577-587
- Atherton S.S., Newell C.K., Kanter M.Y., Cousins S.W. (1991).** Retinitis in euthymic mice following inoculation of murine cytomegalovirus (mcmv) via the supraciliary route. *Current Eye Research* 10, 667-677
- Baldanti F., Lilleri D., Gerna G. (2008).** Human cytomegalovirus load measurement and its applications for pre-emptive therapy in patients undergoing hematopoietic stem cell transplantation. *Hematological Oncology* 26, 123-130
- Bale J.F., Oneil M.E., Folberg R. (1991).** Murine cytomegalovirus ocular infection in immunocompetent and cyclophosphamide-treated mice – potentiation of ocular infection by cyclophosphamide. *Investigative ophthalmology and visual science* 32, 1749-1756
- Balthesen M., Messerle M., Reddehase M.J. (1993).** Lungs are a major organ site of cytomegalovirus latency and recurrence. *Journal of virology* 67, 5360-5366
- Baskar J.F., Peacock J., Sulik K.K., Huang E.S. (1987).** Early-stage developmental abnormalities induced by murine cytomegalovirus. *Journal of Infectious Diseases* 155, 661-666
- Baskar J.F., Stanat S.C., Huang E.S. (1983).** Cytomegalovirus infection of murine testicular interstitial Leydig cells. *Infection and Immunity* 40, 726-732
- Baskar J.F., Stanat S.C., Huang E.S. (1985).** Congenital-defects due to reactivation of latent murine cytomegalovirus infection during pregnancy. *Journal of infectious diseases* 152, 621-624
- Benedict C.A., De Trez C., Schneider K., Ha S., Patterson G., Ware C.F. (2006).** Specific remodeling of splenic architecture by cytomegalovirus. *Plos pathogens* 2, 164-174
- Berensci K., Endresz V., Klurfeld D., Kari L., Kritchevsky D., Gonczol E. (1998).** Early atherosclerotic plaques in the aorta following cytomegalovirus infection of mice. *Cell adhesion and communication* 5, 39-47
- Brautigam A.R., Oldstone M.B.A. (1980).** Replication of murine cytomegalovirus in reproductive tissues. *The American journal of pathology* 98, 213-223
- Bronsther O., Makowka L., Jaffe R., Demetris A.J., Breinig M.K., Ho M., Esquivel C.O., Gordon R.D., Iwatsuki S., Tzakis A., Warsh J.W.J., Mazzaferro V., Van Thiel D., Starzi T.E. (1988).** Occurrence of cytomegalovirus hepatitis in liver transplant patients. *Journal of Medical Virology* 24, 423-434
- Bush F.W., Mutter W., Koszinowski U.H., Reddehase M.J. (1991).** Rescue of myeloid lineage-committed progenitor cells from cytomegalovirus-infected bone-marrow stroma. *Journal of virology* 65, 981-984
- Cannon M.J., Schmid D.S., Hyde T.B. (2010).** Review of cytomegalovirus seroprevalence and demographic characteristics associated with infection. *Reviews in medical virology* 20, 202-213
- Chantler J.K., Misra V., Hudson J.B. (1979).** Vertical transmission of Murine Cytomegalovirus, *Journal of General Virology* 42, 621-625

- Chen J.J., Feng Y., Chen L., Liu H.Z., Wang L., Wang X.R., Xiao J.A., Liu T., Yin Z.Z., Chen S.H. (2011).** Murine model for congenital CMV infection and hearing impairment. *Virology Journal* **8**, 70
- Cheung K.S., Lang D.J. (1977).** Transmission and activation of cytomegalovirus with blood transfusion: a mouse model. *Journal of Infectious Diseases* **135**, 841-845
- Chiu B., Butany J., Kovacs K., Cheng Z. (1994).** Cytomegalovirus adrenalitis in acquired-immunodeficiency-syndrome. *Endocrine pathology* **5**, 218-222
- Cinque P., Cleator G.M., Weber T., Monteyne P., Sindic C., Gerna G., van Loon A.M., Klapper P.E. (1998).** Diagnosis and clinical management of neurological disorders caused by cytomegalovirus in AIDS patients. *Journal of neurovirology* **4**, 120-132
- Cobbold M., Khan N., Pourgheysari B., Tauro S., McDonald D., Osman H., Assenmacher M., Billingham L., Steward C., Crawley C., Olavarria E., Goldman J., Chakraverty R., Mahendra P., Craddock C., Moss P.A.H. (2005).** Adoptive transfer of cytomegalovirus-specific CTL to stem cell transplant patients after selection by HLA-peptide tetramers. *The Journal of Experimental Medicine* **202**, 379-386
- Collins T., Pomeroy C., Jordan M.C. (1993).** Detection of latent cytomegalovirus DNA in diverse organs of mice. *Journal of infectious diseases* **168**, 725-729
- Cook C.H., Zhang Y.X., Sedmak D.D., Martin L.C., Jewell S., Ferguson R.M. (2006).** Pulmonary cytomegalovirus reactivation causes pathology in immunocompetent mice. *Critical care medicine* **34**, 842-849
- Davison A.J. (2007).** Overview of classification. In: *Human Herpesviruses: biology, therapy and immunoprophylaxis*. Uitgegeven door Cambridge University Press, Cambridge
- Degré M. (2002).** Has cytomegalovirus infection any role in the development of atherosclerosis?. *Clinical Microbiology and Infection* **8**, 191-195
- Dore G.J., Marriott D.J., Duflou J.A. (1995).** Clinicopathological study of cytomegalovirus (cmv) in aids autopsies-recognition of cmv pneumonitis and cmv adrenalitis. *Australian and New Zealand Journal of Medicine* **25**, 503-506
- Duan Y., Atherton S.S. (1995).** Efficient reactivation of latent murine cytomegalovirus (mcmv) requires depletion of both CD4 and CD8 cells. *Faseb journal* **9**, 485
- Duan Y.P., Hernandez R., Pang L., Atherton S.S. (1996).** Spread of murine cytomegalovirus to inner ocular structures following disruption of the blood retina barrier in immunosuppressed BALB/c mice. *Investigative ophthalmology and visual science* **37**, 935-940
- Fitzgerald N.A., Shellam G.R. (1991).** Host genetic influences on fetal susceptibility to murine cytomegalovirus after maternal or fetal infection. *Journal of Infectious Diseases* **163**, 276-281
- Goossens L., Temmerman M., Vanhaesebrouck P. (2003).** Perinatale cytomegalovirusinfectie. *Tijdschrift voor geneeskunde* **59**, 673-679
- Grundy J.E., Mackenzie J.S., Stanley N.F. (1981).** Influence of H-2 and non H-2 genes on resistance to murine cytomegalovirus-infection. *Infection and Immunity* **32**, 277-286
- Hamilton J.D., Seaworth B.J. (1985).** Transmission of latent cytomegalovirus in a murine kidney tissue-transplantation model. *Transplantation* **39**, 290-296

- Holland G.N., Fang E.N., Glasgow B.J., Zaragoza A.M., Siegel L.M., Graves M.C., Saxton E.H., Foos R.Y. (1990).** Necrotizing retinopathy after intraocular inoculation of murine cytomegalovirus in immunosuppressed adult mice. *Investigative ophthalmology and visual science* 31, 2326-2334
- Huang Y.S., Chernoff N., Kavlock R.J., Kawanishi C.Y. (1986).** The effects of maternal murine cytomegalovirus infection on the mouse conceptus at different gestational stages. *Teratogenesis, carcinogenesis and mutagenesis* 6, 331-338
- Huang C.Y., Wang H.D., Wu S.T., Chang H.Y., Liu L.L., Peng B., Fang F., Chen Z. (2014).** Comparison of multiple DNA vaccines for protection against cytomegalovirus infection in BALB/c mice. *Virology journal* 11, 104
- Hudson J.B. (1994).** Mouse cytomegalovirus. In: *Virus infections of rodents and lagomorphs*, 85-117. Uitgegeven door A.D.M.E. Osterhaus, Elsevier
- Hudson J.B., Walker D.G., Altamirano M. (1988).** Analysis in vitro of two biologically distinct strains of cytomegalovirus. *Archives of Virology* 102, 289-295
- Jacob J., Sutherland D.R. (2004).** Murine cytomegalovirus infections in house mice: a matter of age or sex?. *Wildlife research* 31, 369-373
- Jordan M.C. (1978).** Interstitial pneumonia and subclinical infection after intranasal inoculation of murine cytomegalovirus. *Infection and Immunity* 21, 275-280
- Jordan M.C., Shanley J.D., Stevens J.G. (1977).** Immunosuppression reactivates and disseminates latent murine cytomegalovirus. *Journal of general virology* 37, 419-423
- Jonjic S., Pavic I., Lucin P., Rukavina D., Koszinowski U.H. (1990).** Efficacious control of cytomegalovirus-infection after long-term depletion of CD8+ lymphocytes-T. *Journal of Virology* 64, 5457-5464
- Krmpotic A., Bubic I., Polic B., Lucin P., Jonjic S. (2003).** Pathogenesis of murine cytomegalovirus infection. *Microbes and infection* 5, 1263-1277
- Kurz S., Steffens H.P., Mayer A., Harris J.R., Reddehase M.J. (1997).** Latency versus persistence or intermittent recurrences: Evidence for a latent state of murine cytomegalovirus in the lungs. *Journal of virology* 71, 2980-2987
- Kyto V., Vuorinen T., Saukko P., Lautenschlager I., Lignitz E., Saraste A., Voipio-Pulkki L.M. (2005).** Cytomegalovirus infection of the heart is common in patients with fatal myocarditis. *Clinical infectious diseases* 40, 683-688
- Lawrence R.M. (2006).** Cytomegalovirus in Human Breast Milk: Risk to the Premature Infant. *Breastfeeding medicine* 1, 99-107
- Lenzo J.C., Fairweather D., Cull V., Shellam G.R., James C.M. (2002).** Characterisation of Murine Cytomegalovirus Myocarditis: Cellular Infiltration of the Heart and Virus Persistence. *Journal of molecular and cellular cardiology* 34, 629-640
- Li Z., Wang X., Yan S., Zhang Z., Jie C., Sustento-Reodica N., Hummel M., Abecassis M. (2012).** A Mouse Model of CMV Transmission Following Kidney Transplantation. *American journal of transplantation* 12, 1024-1028
- Livingston-Rosanoff D., Daley-Bauer L.P., Garcia A., McCormick A.L., Huang J., Mocarski E.S. (2012).** Antiviral T cell response triggers cytomegalovirus hepatitis in mice. *Journal of Virology* 86, 12879-12890

- Lombardi G., Garofoli F., Manzoni P., Stronati M. (2012).** Breast milk-acquired cytomegalovirus infection in very low birth weight infants. *Journal of maternal-fetal and neonatal medicine* 25, 57-62
- Lozinguez O., Arnaud E., Velut J.G., Tiev K.P., Fiessinger J.N., Emmerich J. (1999).** Cytomegalovirus and arterial disease: Present concepts. *Archives des maladies du coeur et des vaisseaux* 92, 1205-1212
- Lumbreras C., Manuel O., Len O., ten Berge I.J.M., Sgarabotto D., Hirsch H.H. (2014).** Cytomegalovirus infection in solid organ transplant recipients. *Clinical microbiology and infection* 20, 19-26
- Lussier G. (1973).** Encephalitis caused by murine cytomegalovirus in newborn and weanling mice. *Veterinary Pathology* 10, 366-374
- Mayer A., Podlech J., Kurz S., Steffens H.P., Maiberger S., Thalmeier K., Angele P., Dreher L., Reddehase M.J. (1997).** Bone marrow failure by cytomegalovirus is associated with an in vivo deficiency in the expression of essential stromal hemopoietin genes. *Journal of virology* 71, 4589-4598
- Mayo D.R., Armstrong J.A., Ho M. (1977).** Reactivation of murine cytomegalovirus by cyclophosphamide. *Nature* 267, 721-723
- Medearis D.N., Prokay S.L. (1978).** Effect of immunization of mothers on cytomegalovirus-infection in suckling mice. *Proceedings of the society for experimental biology and medicine* 157, 523-527
- Misra V., Hudson J.B. (1980).** Minor base sequence differences between the genomes of two strains of murine cytomegalovirus differing in virulence. *Archives of Virology* 64, 1-8
- Muller C.A., Hebart H., Roos A., Roos H., Steidle M., Einsele H. (1995).** Correlation of interstitial pneumonia with human cytomegalovirus-induced lung infection and graft-versus-host disease after bone-marrow transplantation. *Medical microbiology and immunology* 184, 115-121
- Pollock J.L., Virgin H.W. (1995).** Latency, without persistence, of murine cytomegalovirus in the spleen and kidney. *Journal of virology* 69, 1762-1768
- Pomeroy C., Hilleren P.J., Jordan M.C. (1991).** Latent murine cytomegalovirus DNA in splenic stromal cells of mice. *Journal of virology* 65, 3330-3334
- Price P., Olver S.D., Silich M., Nador T.Z., Yerkovich S., Wilson S.G. (1996).** Adrenalitis and the adrenocortical response of resistant and susceptible mice to acute murine cytomegalovirus infection. *European journal of clinical investigation* 26, 811-819
- Pugel E.P., Cekinovic D. (2011).** Pathogenesis of congenital cytomegalovirus infection of the central nervous system. *Periodicum biologorum* 113, 51-60
- Reddehase M.J., Podlech Y., Grzimek N.K.A. (2002).** Mouse models of cytomegalovirus latency: overview. *Journal of clinical virology* 25, 23-36
- Reuter J.D., Gomez D.L., Wilson J.H., van den Pol A.N. (2004).** Systemic immune deficiency necessary for cytomegalovirus invasion of the mature brain. *Journal of Virology* 78, 1473-1487
- Rubin R.H., Wilson E.J., Barrett L.V., Medearis D.N. (1984).** Primary cytomegalovirus-infection following cardiac transplantation in a murine model. *Transplantation* 37, 306-310

- Schachtele S.J., Mutnal M.B., Schleiss M.R., Lokensgard J.R. (2011).** Cytomegalovirus-induced sensorineural hearing loss with persistent cochlear inflammation in neonatal mice. *Journal of neurovirology* 17, 201-211
- Schmader K., Henry S.C., Rahija R.J., Yu Y.H., Daley G.G., Hamilton J.D. (1995).** Mouse cytomegalovirus reactivation in severe combined immune-deficient mice after implantation of latently infected salivary-gland. *Journal of infectious diseases* 172, 531-534
- Shanley J.D., Biczak L., Forman S.J. (1993).** Acute murine cytomegalovirus-infection induces lethal hepatitis. *Journal of Infectious Diseases* 167, 264-269
- Shanley J.D., Pesanti E.L. (1986).** Murine cytomegalovirus adrenalitis in athymic nude mice. *Archives of Virology* 88, 27-35
- Shanley J.D., Pesanti E.L., Nugent K.M. (1982).** The pathogenesis of pneumonitis due to murine cytomegalovirus. *Journal of Infectious Diseases* 146, 388-396
- Shanley J.D., Wu C.A. (2003).** Mucosal immunization with a replication-deficient adenovirus vector expressing murine cytomegalovirus glycoprotein B induces mucosal and systemic immunity. *Vaccine* 21, 2632-2642
- Shellam G.R., Allan J.E., Papadimitriou J.M., Bancroft G.J. (1981).** Increased susceptibility to cytomegalovirus-infections in beige mutant mice. *Proceedings of the national academy of sciences of the united states of America-biological sciences* 78, 5104-5108
- Shellam G.R., Redwood A.J., Smith L.M., Gorman S. (2006).** Murine cytomegalovirus and other herpesviruses. In: *The mouse in biomedical research, volume 2: diseases*, 1-35. Uitgegeven door Academic Press
- Singleton G.R., Smith A.L., Krebs J.C. (2000).** The prevalence of viral antibodies during a large population fluctuation of house mice in Australia. *Epidemiology and Infection* 125, 719-727
- Stocchi R., Ward K.N., Fanin R., Baccarani M., Apperley J.F. (1999).** Management Of Human Cytomegalovirus Infection And Disease After Allogeneic Bone Marrow Transplantation. *Haematologica* 84, 71-79
- Tan S.Y., Liu S.W., Jiang S.B. (2011).** Pathogenesis and treatment of human immunodeficiency virus-associated cytomegalovirus retinitis. *Future virology* 6, 503-520
- Tanaka K., Koga Y., Zhang X.Y., Wang Y., Kimura G., Nomoto K. (1994).** Murine cytomegalovirus-associated pneumonitis in the lungs free of the virus. *Journal of Clinical Investigation* 94, 1019-1025
- Tebourbi L., Courtot A.M., Duchateau R., Loeuillet A., Testart J., Cerutti I. (2001).** Experimental inoculation of male mice with murine cytomegalovirus and effect on offspring. *Human reproduction* 16, 2041-2049
- Tomita T., Chiga M., Lenahan M., Balachandran N. (1990).** Identification of cytomegalovirus-infection in acquired-immunodeficiency syndrome. *Virchows archiv a-pathological anatomy and histopathology* 416, 497-503
- Tsutsui Y. (1995).** Developmental disorders of the mouse brain induced by murine cytomegalovirus: animal models for congenital cytomegalovirus infection. *Pathology international* 45, 91-102

- Vanstechelman F., Vandekerckhove H. (2012).** Cytomegalovirus myocarditis in an immunocompetent patient. *Acta cardiologica* 67, 257-260
- Wilson S.R., Wilson J.H., Buonocore L., Palin A., Rose J.K., Reuter J.D. (2008).** Intranasal immunization with recombinant vesicular stomatitis virus expressing murine cytomegalovirus glycoprotein B induces humoral and cellular immunity. *Comparative medicine* 58, 129-139
- Wu C., Paveglio S., Lingenheld E., Zhu L., Lefrancois L., Puddington L. (2011).** Transmission of murine cytomegalovirus in breast milk: a model of natural infection in neonates. *Journal of Virology* 85, 5115-5124
- Zhang M., Xin H., Atherton S.S. (2005).** Murine cytomegalovirus (MCMV) spreads to and replicates in the retina after endotoxin-induced disruption of the blood-retinal barrier of immunosuppressed BALB/c mice. *Journal of neurovirology* 11, 365-375
- Zhang M., Xin H., Duan Y.P., Atherton S.S. (2005).** Ocular reactivation of MCMV after immunosuppression of latently infected BALB/c mice. *Investigative ophthalmology and visual science* 46, 252-258