

Vliv a stanovení lidského cytomegaloviru u onkologických onemocnění

Impact and detection of human cytomegalovirus in oncological diseases

Fried A.^{1,2}, Strmisková J.^{1,2}, Magerová K.³, Hendrych M.⁴, Bartošík M.¹, Moráňová L.¹

¹ Výzkumné centrum aplikované molekulární onkologie, MOÚ Brno

² Národní centrum pro výzkum biomolekul, Přírodovědecká fakulta, MU Brno

³ Ústav experimentální biologie, Přírodovědecká fakulta, MU Brno

⁴ I. ústav patologie, LF MU a FN u sv. Anny v Brně

Souhrn

Východiska: Lidský cytomegalovirus (human cytomegalovirus – hCMV) je rozšířený herpesvirus, přičemž u imunokompetentních jedinců probíhá infekce tímto virem obvykle asymptomaticky. U imunokompromitovaných pacientů však může způsobit závažné klinické komplikace. V kontextu nádorových onemocnění hCMV vykazuje onkomodulační účinky ovlivňující nádorový růst, odpověď imunitního systému a účinnost léčby. Stále více důkazů naznačuje, že terapeutické strategie cílené na hCMV by mohly zlepšit prognózu onkologických pacientů. Přesto zůstává detekce tohoto viru v nádorové tkáni nebo tělních tekutinách problematická, přičemž výsledky se často liší v závislosti na použité metodologii a typu vzorku. **Cíl:** Tato práce poskytuje komplexní přehled o roli hCMV v nádorových onemocněních. Popisuje genom hCMV a funkci jeho klíčových proteinů se zaměřením na jejich roli v onkomodulaci. Podrobně rozebírá mechanismy virové interakce s buněčnými signálními dráhami, dopady infekce a reaktivity na klinický průběh onkologických onemocnění a zvláštní pozornost věnuje vlivu hCMV na glioblastom, vč. studií hodnotících efekt antivirové léčby. Dále jsou diskutovány standardní diagnostické metody vč. imunohistochemie, ELISA a polymerázové řetězové reakce, přičemž jsou uvedeny nejčastěji používané komerčně dostupné diagnostické sady schválené pro klinickou praxi. Závěr práce shrnuje hlavní výzvy spojené s diagnostikou a léčbou hCMV v kontextu onkologie a věnuje se perspektivám budoucích terapeutických přístupů, vč. vývoje dendritických vakcín.

Klíčová slova

lidský cytomegalovirus – glioblastom – antivirová léčba – imunohistochemie – klinická diagnostika

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

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

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

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



Mgr. Ludmila Moráňová, Ph.D.
Výzkumné centrum aplikované
molekulární onkologie
Masarykův onkologický ústav
Žlutý kopec 7
656 53 Brno
e-mail: ludmila.moranova@mou.cz

Obdrženo/Submitted: 10. 3. 2025

Přijato/Accepted: 24. 6. 2025

doi: 10.48095/ccko2025254

Summary

Background: Human cytomegalovirus (hCMV) is a widely prevalent herpesvirus that typically remains asymptomatic in immunocompetent individuals. However, in immunocompromised patients, it can cause severe clinical complications. In the context of cancer, hCMV exhibits oncomodulatory effects, influencing tumor growth, immune response, and treatment efficacy. Growing evidence suggests that therapeutic strategies targeting hCMV could improve cancer patient prognosis. Nevertheless, detecting this virus in tumor tissue or body fluids remains challenging, with results often varying depending on the methodology used and the type of sample analyzed. **Aim:** This study provides a comprehensive overview of the role of hCMV in cancer. It describes the hCMV genome and the functions of its key proteins, focusing on their involvement in oncomodulation. The study thoroughly examines the mechanisms of viral interactions with cellular signaling pathways, the effects of infection and reactivation on the clinical course of cancer, and pays special attention to the impact of hCMV on glioblastoma, including studies assessing the effectiveness of antiviral therapy. Furthermore, standard diagnostic methods, including immunohistochemistry, ELISA, and polymerase chain reaction, are discussed, along with the most commonly used commercially available diagnostic kits approved for clinical practice. The study concludes by summarizing the key challenges associated with hCMV diagnosis and treatment in oncology and explores future therapeutic approaches, including the development of dendritic cell vaccines.

Key words

human cytomegalovirus – glioblastoma – antiviral therapy – immunohistochemistry – clinical diagnostics

Úvod

Lidský cytomegalovirus (human cytomegalovirus – hCMV) je virus s dvouřetězcovou DNA z rodiny *Herpesviridae*, který se podobně jako ostatní viry této skupiny vyznačuje schopností perzistence a reaktive v hostitelském organismu. Prevalence hCMV je značně vysoká, přičemž v industrializovaných zemích dosahuje přibližně 70 % a v rozvojových zemích až 100 % [1].

U zdravé populace probíhá infekce hCMV většinou asymptomaticky, avšak u imunokompromitovaných jedinců může primoinfekce nebo reaktive vést k závažným klinickým projevům. Význam hCMV narůstá i v kontextu nádorových onemocnění, kde byly popsány jeho onkomodulační účinky, které mohou ovlivnit chování a progresi nádorů, efektivitu léčby i imunitní odpověď organismu. Studie naznačují, že cílená léčba zaměřená na hCMV nad rámec standardní terapie může zlepšit kvalitu života pacientů a přispět k delšímu celkovému přežití [2,3].

Detekce hCMV u onkologických pacientů však zůstává předmětem intenzivního zkoumání a diskuzí. Výsledky se značně liší v závislosti na použitém biologickém materiálu, metodách detekce a jejich provedení. Pozitivní nálezy se proto pohybují v širokém rozmezí od 0 do 100 %. Zlatým standardem pro detekci přesto zůstává imunohistochemické vyšetření (imunohistochemie – IHC) a polymerázová řetězová reakce (polymerase chain reaction – PCR).

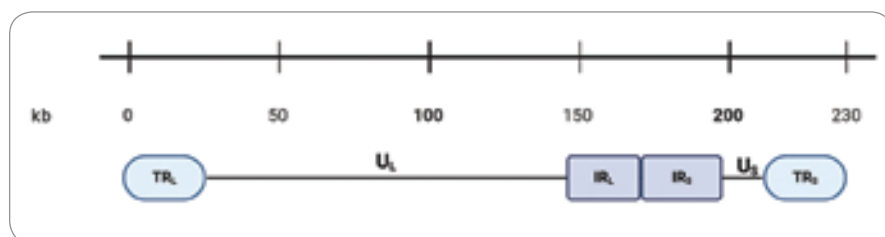
Role lidského cytomegaloviru u onkologických onemocnění

V roce 1973 byl poprvé pozorován onkogenní potenciál hCMV, kdy tento virus transformoval křeččí embryonální fibroblasty [4]. Přestože se tehdy uvažovalo o jeho možné roli v onkogenezi, nedostatek přesvědčivých důkazů vedl k tomu, že byl později považován spíše za onkomodulační virus. Onkomodulaci lze definovat jako proces, při kterém virus mění vlastnosti nádorových buněk a ovlivňuje progresi onemocnění [5]. Te-

prve v posledních letech se však objevují studie, které znovu otevírají otázku jeho přímého onkogenního potenciálu, přesto dosud nepatří mezi sedm uznávaných onkogenních virů [6,7].

Se svou velikostí 240 kbp se hCMV řadí mezi největší virové genomy infikující člověka [8]. Skládá se ze dvou domén označovaných jako unikátní dlouhá (U_L) a unikátní krátká (U_S), které jsou lemovány dvojicí inverzně se opakujících sekvencí (TR_L a IR_L , IR_S a TR_S) (obr. 1) [9]. Genotypy hCMV je možné rozlišovat podle genů kódujících některé glykoproteiny. Za základní se považuje rozdělení podle typu glykoproteinu B, který je kódován genem *UL55*, na pět genotypů gB1, gB2, gB3, gB4 a gB5. Podle glykoproteinu H kódovaného genem *UL75* se virus dále dělí na genotypy gH1 a gH2. Vysoce polymorfní gen *UL73*, který kóduje glykoprotein N, umožňuje rozlišení dalších sedmi genotypů: gN1, gN2, gN3a, gN3b, gN4a, gN4b a gN4c. Jednotlivé alely genů a jejich kombinace však nelze spolehlivě spojit s konkrétním fenotypem viru s ohledem na patogenезi nebo rezistence na antivirotika [10].

hCMV kóduje stovky proteinů, které zasahují do mnoha procesů v infikovaných hostitelských buňkách, a mají tak zásadní vliv na jejich funkci [12]. První jsou exprimovány geny označované jako immediate-early, které řídí jak virovou, tak buněčnou expresi genů za účelem optimalizace hostitelského prostředí k produkci virové DNA. Dále jsou transkribovány časné (early) virové geny ovlivňující replikaci virové DNA a nako-



Obr. 1. Schéma struktury genomu hCMV (upraveno podle [11]).

IR_L – dlouhá vnitřní repetitivní sekvence, IR_S – krátká vnitřní repetitivní sekvence, TR_L – dlouhá terminální repetitivní sekvence, TR_S – krátká terminální repetitivní sekvence U_L – dlouhá unikátní sekvence, U_S – krátká unikátní sekvence

nec jsou přepisovány geny pozdní (late) kódující strukturální proteiny viru [13].

K šíření hCMV dochází především prostřednictvím tělních tekutin (slinami, krví, transplacentárně, mateřským mlékem apod.) [14]. Po primární infekci hCMV přechází do latence a v infikovaném jedinci přetrvává po zbytek života. U hCMV můžeme rozlišovat tři subtypy infekce – primární, sekundární a superinfekci [15]. Primární infekce nastává po expozici vnímavého jedince. V monocyttech a CD34+ hematopoetických kmenových buňkách v kostní dřeni virus následně přechází do latence [16]. Dalším významným rezervoárem infekce jsou tkáňové endoteliální buňky [17]. Za určitých podmínek může nastat reaktive viru s následující sekundární infekcí. Reaktivace nastává u jedinců se sníženou funkcí imunity, např. HIV pozitivních pacientů, jedinců po transplantacích nebo s onkologickým onemocněním. O superinfekci se jedná v případech, že kontakt s infekční osobou způsobí reinfekci u jedince navzdory tomu, že již jednou infekci hCMV prodělal [15].

Na klinický dopad hCMV infekce a reaktive u onkologických pacientů je možné nahlížet dvěma způsoby. V prvním případě lze virovou infekci vnímat v kontextu oslabené imunity onkologických pacientů, kvůli čemuž se virus následně reaktivuje a může být příčinou zvýšené mortality. U těchto jedinců může reaktivace hCMV velmi rychle přejít v život ohrožující onemocnění. Pacienti mají širokou škálu příznaků vč. horečky, enterokolitidy, pneumonitidy, retinitidy, hepatitidy, encefalitidy a nefritidy [18,19]. Tento průběh infekce můžeme pozorovat i u dalších skupin imunokompromitovaných osob.

V tomto kontextu hraje u reaktive významnou roli potlačená funkce imunitního systému. Klíčovým procesem je diferenciace progenitorových buněk a cytokinová signalizace spojená se zánětem [20,21]. Diferenciace myeloidních progenitorů na makrofágy nebo dendritické buňky způsobuje reaktivaci díky indukci genového lokusu MIE (major immediate early region), nezbytného pro spuštění lytické infekce [22].

Druhý typ případu hCMV infekce u onkologických pacientů je přítomnost vi-

rové DNA a proteinů u solidních nádorů, kde je pozorován vliv viru na mikroprostředí nádoru. Mnoho studií také poukazuje na onkomodulační efekt tohoto viru [5,12]. Navíc je důležité rozlišit původ virové DNA u nádorů, jelikož se může jednat pouze o náhodný nálezný, který je zapříčiněn celkovou viremii [5].

K lepšímu pochopení vztahů mezi infekcí hCMV a nádorovou progresí je důležité zmínit i klinicky významnou souvislost mezi reaktivací latentního viru a onkologickou léčbou. Genotoxické terapie, jako je ionizující záření nebo chemoterapie, indukují poškození DNA a replikační stres ve zhoubných i zdravých buňkách [23,24]. Recentní studie ukazují, že právě stres vyvolaný genotoxickou terapií může vést k reaktivaci latentní infekce hCMV. Merchut-Maya et al. prokázali, že infekce hCMV sama o sobě zpomaluje postup replikační vidlice, zvyšuje její asymetrii a zpomaluje odpověď na poškození DNA. Dále ukázali, že poškození DNA způsobené genotoxickými látkami zvyšuje expresi časných virových genů (*IE72/86*), čímž podporuje virovou reaktivaci. Proteiny hCMV jsou častěji detekovány v rekurentních nádorech po terapii než v primárních biotických vzorcích, což naznačuje souvislost mezi léčbou, reaktivací viru a následnou progresí nádoru. Tento fenomén, kdy protinádorová terapie paradoxně podporuje virovou reaktivaci a zvyšuje replikační stres a genomovou nestabilitu, může přispívat k agresivnějšímu chování nádoru a rezistenci vůči léčbě [25,26].

Studie poukazující na souvislost mezi infekcí hCMV a progresí a rozvojem onkologických onemocnění jsou nejčastěji spojovány s karcinomem prsu [27,28], kolorektálním karcinomem [29] nebo nádory mozku [30,31].

Onkomodulační potenciál je zapříčiněn proteiny, které jsou kódovány geny hCMV. Nejčastěji jsou v této souvislosti studovány geny *UL123* (IE1), *UL122* (IE2) [32], *US28* [33] nebo *UL76* [34]. Produkty těchto genů následně zasahují do buněčných procesů a mají za následek např. deregulaci buněčného cyklu [35], necitlivost k buněčné smrti [36] nebo únik před imunitním systémem (tab. 1) [37].

Bezprostředně po vstupu viru do buňky se spouští exprese proteinů IE1 a IE2, ty následně regulují expresi dalších genů, a to jak virových, tak i genů hostitelské buňky [38]. Oba tyto proteiny se mohou vázat na členy rodiny proteinů Rb. Protein IE1 interaguje s p107, zatímco IE2 se váže na protein Rb (pRb). Tato vazba přispívá k hyperfosforylaci pRb, čímž ztrácí svou inhibiční funkci. Výsledkem je uvolnění transkripčních faktorů E2F, které podporují přechod buňky do S-fáze a následnou replikaci genetické informace [39].

Protein IE2 je schopný interagovat s p53, přičemž tato interakce vede k potlačení transkripční funkce p53 a následnému snížení transkripční aktivity p53-dependentních genů [40]. Oba tyto proteiny mohou inhibovat indukci apoptózy tumor nekrotizujícím faktorem alfa (TNF-alfa) [36]. Schopnost blokovat apoptózu je klíčová pro replikaci viru a přetrvávání v hostitelské buňce.

US28 je virový receptor spářený s G proteinem (G protein-coupled receptor – GPCR). Tento receptor je exprimovaný během lytické replikace i během virové latence, pro kterou je nezbytný. US28 se váže na širokou škálu chemokinů, ale vykazuje také obzvláště vysokou konstitutivní aktivitu. Tato aktivita moduluje širokou síť buněčných drah. Díky tomu mění prostředí hostitelské buňky ve prospěch viru [41]. Exprese US28 vyvolává pro-angiogenní a transformovaný fenotyp tím, že reguluje expresi vaskulárního endoteliálního růstového faktoru (vascular endothelial growth factor – VEGF) a aktivuje růst buněk a progresi buněčného cyklu [42]. Během lytické infekce podporuje protein US28 proliferační signály prostřednictvím mitogenem aktivované proteinkinázy (MAPK), Wnt a NFκB [43], čímž ovlivňuje chemotaktické a mitotické procesy.

Vliv lidského cytomegaloviru na léčbu onkologických onemocnění

Onkomodulační účinky hCMV byly pozorovány u řady malignit, přičemž nejvyšší prevalence hCMV-pozitivních nádorových buněk byla zaznamenána u glioblastomu (GB), IDH-wildtype a karcinomu prsu [52,53]. Recentní publikace (2024) se zaměřila na studium vlivu

Tab. 1. Funkce a onkomodulační význam klíčových proteinů hCMV.

Protein	Regulační funkce	Onkomodulační potenciál	Zdroj
pUL123 (IE1)	vstup do S fáze suprese p53 a pRb deregulace exprese cyklinu E aktivace telomerázy inhibice apoptózy indukce chromozomálních aberací	buněčné dělení necitlivost k růstovým supresorům nesmrtelnost zánět zvýšené přežívání buněk genomová nestabilita a mutace	[32,44,45]
pUL122 (IE2)	vstup do S fáze vazba na p53 aktivace PI3K/Akt dráhy indukce exprese TGF-beta	buněčné dělení necitlivost k růstovým supresorům zvýšené přežívání buněk potlačení imunitního systému	[5,32]
pUS28	aktivace dráhy IL6/JAK/STAT3 indukce exprese VEGF aktivace NF-kB	buněčné dělení růst nádorů zvýšená angiogeneze zvýšené přežívání buněk	[5,42,46]
pUL76	indukce chromozomálních aberací	genomová nestabilita a mutace	[34]
pUL97	fosforylace a inaktivace pRb	vyhýbaní se růstovým supresorům	[47]
pUL36 (vICA)	inhibice aktivace kaspázy 8 a apoptózy	zvýšené přežívání buněk	[48]
pUL37x1 (vMIA)	inhibice mitochondriemi zprostředkované apoptózy	zvýšené přežívání buněk	[49]
pUL111A (vIL10)	aktivace STAT3 produkce homologů imunosupresivních cytokininů	buněčné dělení, migrace a metastazování aktivace telomerázy potlačení imunitního systému	[50]
pUL83 (pp65)	zvýšená frekvence mutací antagonista aktivačního receptoru NKp30	genomové mutace únik před imunitním systémem	[51]

hCMV – lidský cytomegalovirus, NF-kB – nukleární faktor kappa B, TGF – transformující růstový faktor, VEGF – vaskulární endoteliální růstový faktor

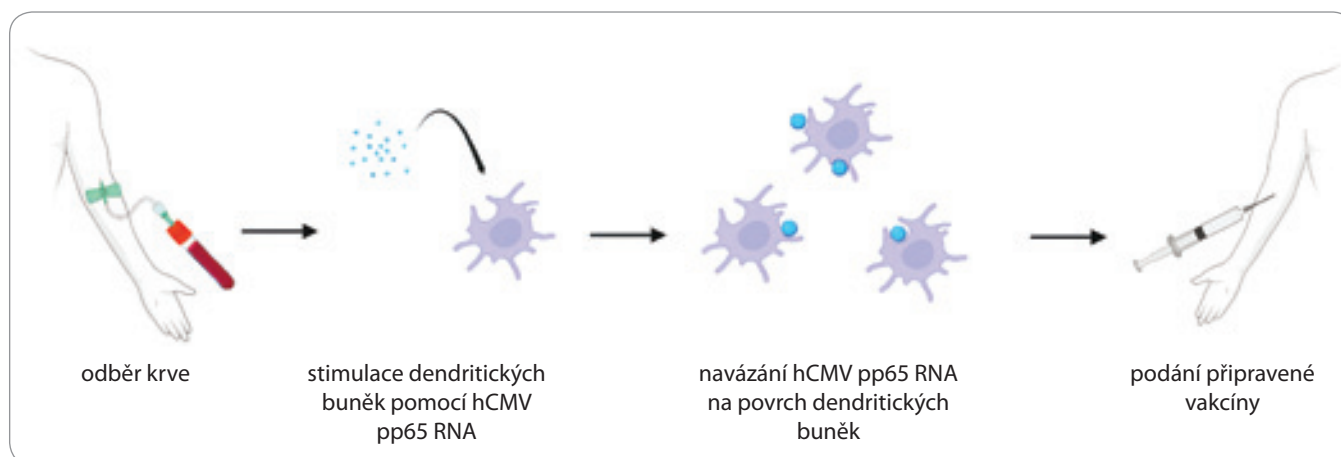
hCMV na karcinomu prsu na myších modelech a klinických vzorcích karcinomu prsu. Single-cell sekvenování (sekvenování jednotlivých buněk) společně s analýzou prostorového transkriptomu ukázalo, že přítomnost viru přispívá k imunosupresivnímu prostředí. hCMV potlačuje proliferaci a aktivaci tzv. natural killers (NK) buněk a podporuje akumulaci Th2 lymfocytů, čímž zhoršuje schopnost imunitního systému bojovat s nádorem. Na myších modelech vedla infekce myším CMV k nárůstu mozkových metastáz a kratšímu přežití [54].

GB představuje nejčastější primární nádor mozku. Přestože je standardní léčba GB velmi agresivní a zahrnuje chirurgickou resekci následovanou radioterapií a chemoterapií, medián celkového přežití zůstává přibližně 15–16 měsíců [55,56]. V posledních letech se cílená

léčba zaměřená na hCMV jeví jako slibná léčebná strategie s potenciálem prodloužit celkové přežití pacientů a zlepšit kvalitu jejich života. Princip léčby spočívá v podávání antivirotik, které inhibují virovou DNA polymerázu, či cílené imunoterapie. První klinická studie zaměřená na aplikaci antivirotika valgancikloviru byla realizována ve švédském Institutu Karolinska (2013). V této studii bylo 42 pacientů s GB rozděleno do dvou ramen – jednomu byla kromě standardní léčby po dobu 6 měsíců podávána antivirotika (dvě tablety valgancikloviru v dávce 450 mg 2× denně po dobu 3 týdnů, následně jedna tableta 2× denně až do 24. týdne), druhé rameno užívalo placebo. Přestože nedošlo ke zmenšení velikosti nádorů, medián celkového přežití pacientů léčených valganciklovirem dosahoval 24 měsíců ve srovnání se 14 měsíci u kontrolní skupiny [57]. Tato studie

byla ovšem kritizována za nevhodný metodický koncept, zejména kvůli zkreslení typu „immortal time bias“. Jedná se o zkreslení, kdy je do studie nesprávně zahrnuto období, během kterého nemohla nastat nežádoucí událost (např. smrt), což může vést k přecenení účinnosti léčby nebo intervence [58]. Novější publikovaná studie této švédské skupiny (2022), která byla navržena tak, aby lépe eliminovala podobná zkreslení, ukázala, že pacienti s relabujícím GB léčení standardní terapií doplněnou antivirotikem dosáhli mediánu přežití 12 měsíců, zatímco pacienti bez této přídavné léčby pouze 7 měsíců [2].

Důležitým prognostickým faktorem se ukázala být také hCMV séropozitivita. Pacienti diagnostikovaní IgG+ vykazovali signifikantně kratší celkové přežití ve srovnání s pacienty s hCMV IgG– (530 vs. 404 dní) [59]. Navíc bylo



Obr. 2. Schématické znázornění procesu přípravy a aplikace dendritické vakcíny (upraveno podle [64]).
hCMV – lidský cytomegalovirus

zjištěno, že pacienti s GB, u nichž bylo pomocí IHC detekováno méně než 25 % hCMV-pozitivních nádorových buněk, přežívali v průměru o 20 měsíců déle a jejich onemocnění progredovalo později než u pacientů s vyšší náloží hCMV. Tito pacienti zároveň vykazovali nižší expresi antigenu IE1 klíčového pro replikaci hCMV [60,61].

Závažným problémem, který se může objevit až u 20 % pacientů s gliomem nebo mozkovými metastázami podstupujících radioterapii, je náhlé zhoršení neurologických funkcí (např. řeči či motoriky) během 4 týdnů po zahájení léčby. Tento jev je často spojen s reaktivací hCMV, což vede ke zvýšení agresivity nádorových buněk a k možnému urychlení recidivy onemocnění. Podání antivirotik v těchto případech vede k výraznému zlepšení neurologického stavu pacientů a kvality jejich života. U pacientů s hCMV asociovanou encefalopatií byl medián přežití 99 dní (1leté přežití 22 %), zatímco u pacientů bez prokázané hCMV viremie dosahoval medián přežití 570 dní (1leté přežití 69 %) [62].

V současnosti probíhá několik klinických studií zaměřených na využití vakcín na bázi dendritických buněk. Tyto vakcíny využívají zvýšené exprese hCMV v nádorové tkáni pacientů s GB a podporují aktivaci hCMV specifické T-buněčné imunity, která následně cíleně likviduje nádorové buňky. Dendritické buňky jsou izolovány buď z periferní krve, nebo z CD34+ hematopoetických kmenových buněk pacienta. Následně

jsou *ex vivo* senzibilizovány hCMV antigeny a poté opětovně podány pacientovi s cílem podpořit vznik specifické imunitní odpovědi (obr. 2) [63,64]. Pouze 5 % takto upravených dendritických buněk dosáhne lymfatických uzlin, což snižuje jejich účinnost. Z tohoto důvodu je nezbytné použití adjuvans, např. difterického nebo tetanického toxoidu, která výrazně zvyšují efektivitu imunizace [65].

Dosavadní klinické studie v raných fázích potvrdily, že vakcíny cílené na fosfoprotein pp65 mohou vyvolat specifickou T-buněčnou imunitní odpověď [65,66]. Např. studie NCT00639639 [66] aplikovala hCMV cílené dendritické buňky jedenácti pacientům s nově diagnostikovaným GB nad rámec standardní terapie. Medián celkového přežití těchto pacientů dosahoval 41 měsíců, zatímco u kontrolní skupiny, které byly podávány neupravené dendritické buňky, bylo mediánové přežití pouze 19 měsíců [66]. Navazující studie s názvem ELEVATE (2015–2020) měla tato pozorování potvrdit na větší kohortě pacientů. Z dosavadních tří klinických studií, zahrnujících celkem 23 pacientů, přežila třetina déle než 5 let [3].

Standardní metody detekce hCMV

V současné době existuje hned několik metodických přístupů pro detekci cytomegalovirové infekce u člověka, z nichž je většina komerčně dostupná v podobě standardizovaných testovacích sad

(tab. 2). Nejčastějšími důvody pro testování hCMV u pacientů je potřeba zjištění přítomnosti viru či jeho reaktivace při transplantacích orgánů, kdy jsou pacienti imunokompromitováni, a preventivní testování těhotných žen, obzvláště pokud u nich byla prokázána séropozitivita po dřívější infekci hCMV, či novorozenců [67]. V poslední době existuje ale také předpokládaná souvislost mezi infekcí hCMV a rozvojem některých nádorových onemocnění, která vzbuzuje ještě větší potřebu testování, avšak pro tyto účely bohužel dosud nejsou schválené a komerčně dostupné testovací sady. V základním principu se testy dají rozdělit na ty, co detekují samotný virus (DNA, RNA, proteiny), a testy detekující imunitní odpověď na přítomnost viru v organismu (IgG, IgM, IgA). Dle jiného členění jsou rozlišovány testy detekující nukleové kyseliny, proteiny či cytopatický efekt.

Serologické metody cílí na detekci protilátek IgG a IgM, komplement fixační reakce nebo ELISA (z angl. enzyme-linked immunosorbent assay) patří mezi nejznámější a historicky nejvyužívanější zejména ke zjištění, zda se organizmus pacienta již dříve s infekcí hCMV setkal. Některé diagnostické postupy, vyvíjené zvláště v poslední době, jsou zaměřeny také na vyhledávání hCMV specifických T-lymfocytů (QuantiFERON-CMV, T-spot. CMV, T-track.CMV) [68]. Jejich přítomnost však odráží spíše aktuální stav imunitní odpovědi na akutně probíhající infekci než samotnou přítomnost hCMV,

Tab. 2. Komerčně dostupné sady pro testování hCMV schválené pro použití v klinické praxi.

Test	Metoda	Typ vzorku	Firma	Osvědčení pro použití k diagnostickým účelům	Zdroj
Cytomegalovirus (CMV) Total Antibody EIA	ELISA	krevní sérum/plazma	Eurofins Viracor	FDA (USA)	[77]
CLIA CMV IgG	CLIA	krevní plazma/sérum	Bio Vendor Group CLIA	CE-IVD (EU)	[78]
CMV IgG/IgM Rapid Test	sérologie – lateral flow strip assay	plná krev/plazma/sérum	CTK Biotech	IVD (EU)	[79]
LIAISON® Cytomegalovirus (CMV) Diagnostic Solution	CLIA	sérum	Diasorin	CE-IVD, FDA (EU, USA)	[80]
RealStar® CMV PCR Kit 1.0	qPCR	krevní plazma/ne-srážlivá krev (EDTA)	Altona Diagnostics	CE-IVD (EU)	[81]
GeneProof Cytomegalovirus (CMV) PCR Kit – (IVDR)	qPCR	mozkomíšni mok, nesrážlivá krev (EDTA), plazma, sérum, moč	GeneProof	CE-IVD (EU)	[82]
Cobas® CMV /COBAS Ampli-cor HCMV monitor test	qPCR	plazma (EDTA)	Roche Diagnostics	CE-IVD, FDA (EU, USA)	[83]
ABBOTT REALTIME CMV	qPCR	plná krev/plazma	Abbott	CE-IVD (EU)	[84]
Aptima® CMV Quant Assay	qPCR	plazma (EDTA, PPT), sérum	Hologic	CE-IVD, FDA (EU, USA)	[85]
QuantiFERON-CMV	CMV-specifická imunitní odpověď T-lymfocytů / ELISA detekce IFN-γ	plná krev → monoklonální buňky z periferní krve	Qiagen	CE-IVD (EU)	[86]
Dextramer® CMV Kit (IVD)	detekce CMV-specifických CD8+ T-lymfocytů, flow-cytometrie	plná krev	Immudex	IVD (EU, USA)	[87]
T track.CMV	stanovení reaktivity CD8+, CD4+ a NK buněk technologií ELISpot (IFNγ-)	Li-heparin krev → monoklonální buňky z periferní krve	Mikrogen Diagnostik	CE-IVD (EU)	[88]

CLIA – chemiluminiscenční imunoanalýza, EDTA – kyselina ethylendiamintetraoctová, ELISA – enzyme-linked immunosorbent assay, IFN-γ – interferon γ, NK – natural killer, PPT – plasma preparation tube, qPCR – kvantitativní polymerázová řetězová reakce

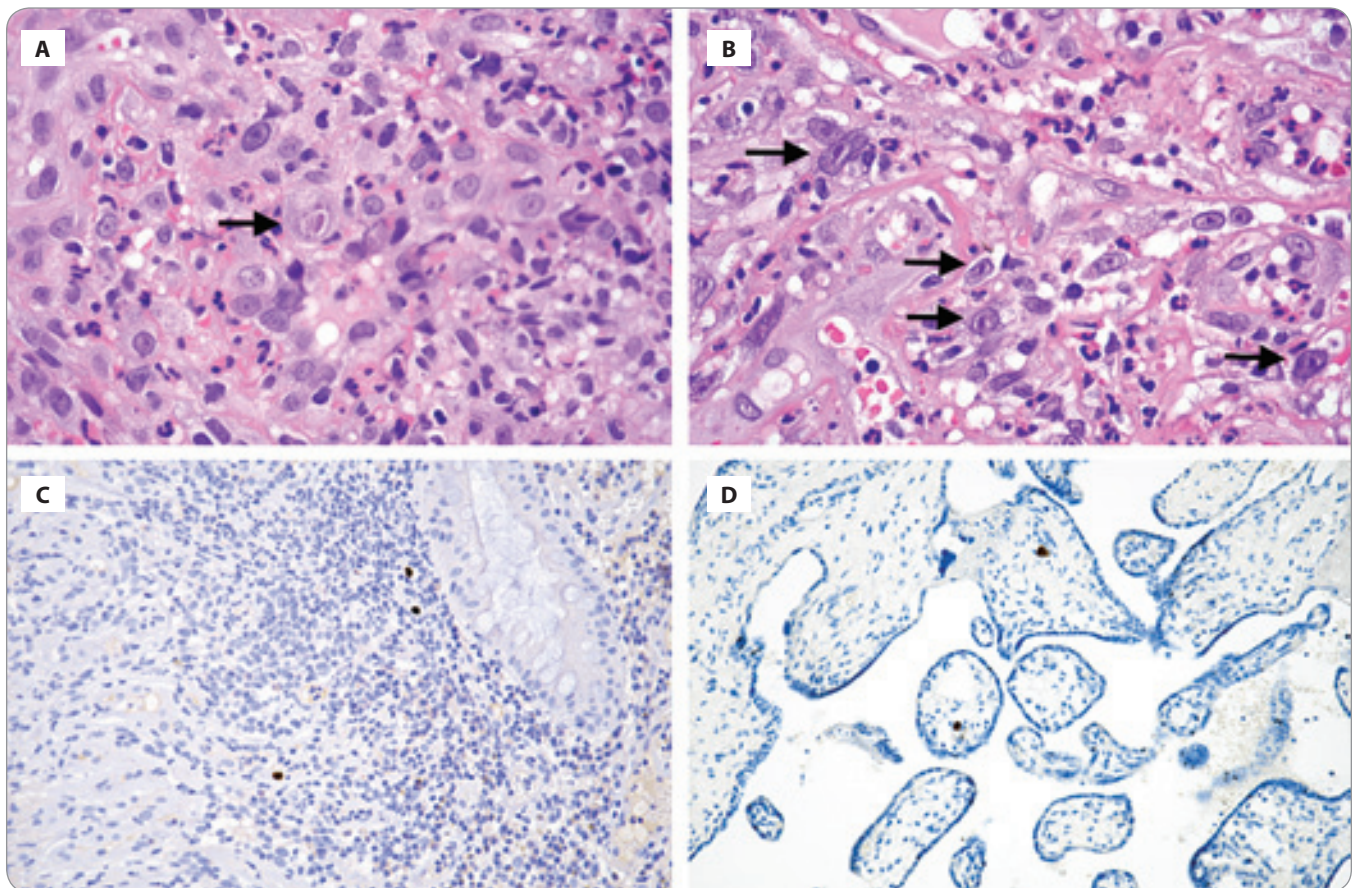
proto metoda pro stanovení hCMV u onkologických pacientů není vhodná.

Diagnostické testy zaměřené na detekci samotného viru využívají specifického rozpoznání virových antigenů či nukleových kyselin, ale také pozorování již zmíněného cytopatického efektu při kultivačních testech. Kultivační testy navíc umožňují zjištění citlivosti viru z klinického materiálu na jednotlivá antivirotika, kvůli časové náročnosti však nejsou vhodné pro prvotní rychlou diagnostiku. Histopatologie nabízí sledování hCMV antigenu a cytopatických změn přímo ve vzorku tkáně. Na začátku 90. let minulého století začal být

používán imunocytologický test Antigennemia, který umožňuje vizualizaci hCMV antigenů časně fáze v leukocytech periferní krve. Tato diagnostická metoda vyžaduje izolaci krevních leukocytů, jejich nanesení na mikroskopické sklo a následné imunoperoxidázové značení virového antigenu pomocí monoklonální myší protilátky. Připravené preparáty jsou poté manuálně vyhodnocovány pomocí mikroskopie, což metodu řadí mezi ty pracnější [69].

Detekce DNA hCMV založená na PCR je v dnešní době nejpoužívanějším postupem. V provedení s průběžnou kvan-

tifikací (kvantitativní PCR (qPCR), reverzní transkripční kvantitativní PCR (RT-PCR)) představuje účinný nástroj pro časnou detekci reaktivity hCMV stejně jako primární infekce, ale také sledování odpovědi na léčbu [70]. Před provedením qPCR testu je většinou nezbytná izolace DNA z odebraného vzorku, kterým může být široké spektrum klinického materiálu, jako je např. krevní plazma, moč, sliny, tkáň, ale také bronchoalveolární laváž. Detekce pomocí qPCR má s antigenními testy kvalitativně srovnatelné výsledky, je však citlivější a nároky na zpracování vzorků jsou zde nižší [71].



Obr. 3. Imunohistochemické barvení FFPE preparátů. A) Stromální buňka s nukleárními i cytoplazmatickými inkluzemi hCMV (šipka); B) mnohočetné stromální buňky s nukleární inkluzí hCMV (šipky); C) hCMV kolitida s průkaznými buňkami infikovanými hCMV (hnědé tečky); D) hCMV vilitida s průkaznými buňkami infikovanými hCMV (hnědé tečky). A, B): původní zvětšení 600×, barvení hematoxylin-eozin. C, D): původní zvětšení 200×, imunohistochemické barvení – Monoclonal Mouse Anti-Cytomegalovirus Clones CCH2 + DDG9 (Dako) FFPE – formalínem fixovaný a zalitý do parafinu, hCMV – lidský cytomegalovirus

Testování přítomnosti hCMV u pacientů s nádorovým onemocněním se provádí především ze samotné nádorové tkáně. Metodou, která se zde nejvíce nabízí, je IHC mikroskopických preparátů z řezů tkání (viz oddíl Imunohistochemické stanovení přítomnosti hCMV níže). Po extrakci nukleových kyselin také PCR a její modifikace, např. qPCR, RT-PCR, nebo tzv. nested PCR. Metody založené na PCR byly použity pro detekci hCMV ve vzorcích kolorektálního karcinomu [72]. V několika studiích byl také zvolen komplexnější přístup detekce hCMV ve vzorcích nádorové tkáně zahrnující kombinaci metod IHC, fluorescenční *in situ* hybridizace (FISH), průtokové cytometrie či PCR. Tyto studie byly zaměřeny zejména na neuroblastom [73], meduloblastom [74] a GB [75], přičemž v některých byl zmíněn i možný

přínos antivirotik v nádorové terapii při pozitivní infekci hCMV. Ojedinělejší strategií je detekce cirkulující virové mikroRNA hcmv-miR-UL112-3p pomocí testovací sady TaqMan. Tato metoda byla použita ve studii sledující výskyt hCMV u pacientů s GB, ale také s revmatoidní artritidou či diabetes mellitus [76].

Imunohistochemické stanovení přítomnosti hCMV

Histologické a imunohistochemické vyšetření v rutinní klinické praxi představuje zlatý standard průkazu hCMV nemoci s orgánovým postižením [89–91]. Současně IHC vykazuje vyšší senzitivitu průkazu aktivní hCMV infekce v porovnání se základním barvením hematoxylinem a eozinem (HE), a proto je toto vyšetření doporučováno k definitivní diagnostice hCMV nemoci s or-

gánovým postižením [90]. Aktivní infekce s tvorbou virionů je dominantně prokázána v endoteliálních, stromálních, epiteliálních buňkách i makrofázích. Mikroskopicky jsou v přehledovém barvení HE patrné buňky s nápadně zvětšenými nepravidelnými jádry s bazofilními intranukleárními inkluzemi (Cowdryho tělísko) a okolním projasněním. Podobné inkluze je možné zastihnout i v cytoplasmě infikovaných buněk (obr. 3A, B) [92,93].

IHC vyšetřením mohou být prokázány různé antigeny hCMV, jež jsou koordinovaně exprimovány v průběhu hCMV infekce. IHC průkaz hCMV nemoci s orgánovým postižením je založen na detekci nestrukturálního DNA vazebného proteinu p52 a immediate-early hCMV antigenu rutinně používanou bivalentní protilátkou CCH2/DDG9 (obr. 3C, D).

Využití této protilátky v diagnostice hCMV pozitivních tumorů však není vhodné [94,95]. Naopak IHC průkaz imunomodulačního proteinu pp65, nejčastěji produkovaného virového proteinu v buňce, vytvářejícího neinfekční virové částice v podobě denzních tělísek, a immediate-early 1 (IE1) antigenu byl pozitivní ve vysokém procentu rozdílných typů nádorů centrální nervové soustavy [31,96–98], ale i v karcinomech prsu [99,100], prostaty [101], kolořektu [102], slinných žláz [103], ovaria [104–106] a také v alveolárním sarkomu [107].

IHC průkaz kombinovaný spolu s PCR vede k vyšší senzitivě vyšetření. PCR je výhodnější pro kvantifikaci virové nálože. IHC kvantifikaci umožňuje hodnocení denzity, je však zatížena vyšší subjektivitou [89].

Závěr

Až 70 % populace se během života setká s hCMV infekcí, která může převážně u imunokompromitovaných jedinců způsobit závažné zdravotní potíže. Spojitost hCMV s onkologickým onemocněním může navíc výrazně ovlivnit průběh a agresivitu maligního onemocnění. Onkomodulační vlastnosti aktivního hCMV byly jednoznačně prokázány, nicméně otázka virové karcinogeneze stále vyžaduje hlubší porozumění. V současné době nebyly popsány mechanismy reaktivity, ale více studií poukazuje na významné příspěvky virových proteinů do tzv. znaků rakoviny (hallmarks of cancer) [108]. Aktuálně probíhající klinické studie cílí na hCMV využívají převážně antivirovou léčbu či dendritické vakcíny jako přídatek ke standardní protinádorové léčbě u dané diagnózy. V současnosti je zřejmě největší výzvou správná diagnostika hCMV pozitivních nádorů. Existuje spektrum diagnostických sad založených převážně na metodách PCR a ELISA, stejně tak jako standardní IHC barvení (pretransplantační vyšetření), avšak většina těchto konkrétních technik nebyla testována na využití pro diagnostiku nádorů. V důsledku toho cílí na fázi akutní infekci, nikoliv na reaktivaci, což vede v různých studiích ke značně rozdílným výsledkům, kdy např. u GB se hCMV pozitivita pohybuje v rozmezí

0–100 % v závislosti na použité metodě a biologickém vzorku [31].

Z dostupných dat a klinických studií tedy vyplývá, že cílení na hCMV vedle standardní terapie může zvýšit přežití pacientů a ovlivnit celkový dopad léčby, ale také může být vedlejším efektem podání antivirotik, kdy dojde k aktivaci imunitního systému [109,110]. Bohužel aktuálně chybějící informace objasňující biologický mechanismus virové reaktivity právě v nádorové tkáni nechává současnou medicínu spíše tápat.

Dedikace

Práce byla podpořena projekty MZ ČR – RVO (MOÚ, 00209805), AZV ČR (NU23J-08-00006) a Masarykovou univerzitou (MUNI/AV1621/2024).

Literatura

1. Cannon MJ, Schmid DS, Hyde TB. Review of cytomegalovirus seroprevalence and demographic characteristics associated with infection. *Rev Med Virol* 2010; 20(4): 202–213. doi: 10.1002/rmv.655.
2. Pantalone MR, Rahbar A, Söderberg-Naucler C et al. Valganciclovir as add-on to second-line therapy in patients with recurrent glioblastoma. *Cancers* 2022; 14(8): 1958. doi: 10.3390/cancers14081958.
3. Batich KA, Mitchell DA, Healy P et al. Once, twice, three times a finding: reproducibility of dendritic cell vaccine trials targeting cytomegalovirus in glioblastoma. *Clin Cancer Res* 2020; 26(20): 5297–5303. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-20-1082.
4. Albrecht T, Rapp F. Malignant transformation of hamster embryo fibroblasts following exposure to ultraviolet-irradiated human cytomegalovirus. *Virology* 1973; 55(1): 53–61. doi: 10.1016/S0042-6822(73)81007-4.
5. Herbein G. The human cytomegalovirus, from oncomodulation to oncogenesis. *Viruses* 2018; 10(8): 408. doi: 10.3390/v10080408.
6. White MC, Wu X, Damania B. Oncogenic viruses, cancer biology, and innate immunity. *Curr Opin Immun* 2022; 78: 102253. doi: 10.1016/j.coi.2022.102253.
7. Guyon J, Ahmad SH, El Baba R et al. Generation of glioblastoma in mice engrafted with human cytomegalovirus-infected astrocytes. *Cancer Gene Ther* 2024; 31(7): 1070–1080. doi: 10.1038/s41417-024-00767-7.
8. Murphy E, Rigoutsos I, Shibuya T et al. Reevaluation of human cytomegalovirus coding potential. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003; 100(23): 13585–13590. doi: 10.1073/pnas.1735466100.
9. Dolan A, Cunningham C, Hector RD et al. Genetic content of wild-type human cytomegalovirus. *J Gen Virol* 2004; 85(5): 1301–1312. doi: 10.1099/vir.0.79888-0.
10. Grgic I, Gorenec L. Human cytomegalovirus (HCMV) genetic diversity, drug resistance testing and prevalence of the resistance mutations: a literature review. *Trop Med Infect Dis* 2024; 9(2): 49. doi: 10.3390/tropicalmed9020049.
11. Zhao Y. Functional analysis of human cytomegalovirus (HCMV) US3 and pp71. 2001 [online]. Available from: chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://etd.ohiolink.edu/acprod/odb_etd/ws/send_file/send?accession=ohiou995293805&disposition=inline.
12. Cinatl J, Vogel JU, Kotchetkov R et al. Oncomodulatory signals by regulatory proteins encoded by human

cytomegalovirus: a novel role for viral infection in tumor progression. *FEMS Microbiol Rev* 2004; 28(1): 59–77. doi: 10.1016/j.femsre.2003.07.005.

13. Lu DY, Qian J, Easley KA et al. Automated in situ hybridization and immunohistochemistry for cytomegalovirus detection in paraffin-embedded tissue sections. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2009; 17(2): 158–164. doi: 10.1097/PAL.0b013e318185d1b5.
14. Hamprecht K, Maschmann J, Jahn G et al. Cytomegalovirus transmission to preterm infants during lactation. *J Clin Virol* 2008; 41(3): 198–205. doi: 10.1016/j.jcv.2007.12.005.
15. Griffiths P, Reeves M. Pathogenesis of human cytomegalovirus in the immunocompromised host. *Nat Rev Microbiol* 2021; 19(12): 759–773. doi: 10.1038/s41579-021-00582-z.
16. Saffert RT, Penkert RR, Kalejta RF. Cellular and viral control over the initial events of human cytomegalovirus experimental latency in CD34+ cells. *J Virol* 2010; 84(11): 5594–5604. doi: 10.1128/jvi.00348-10.
17. Jarvis MB, Nelson JA. Human cytomegalovirus persistence and latency in endothelial cells and macrophages. *Curr Opin Microbiol* 2002; 5(4): 403–407. doi: 10.1016/S1369-5274(02)00334-X.
18. García-Bustos V, Salavert M, Blanes R et al. Current management of CMV infection in cancer patients (solid tumors). *Epidemiology and therapeutic strategies. Rev Esp Quimioter* 2022; 35 (Suppl 3): 74–79. doi: 10.37201/req/s03.16.2022.
19. Hebart H, Einsele H. Clinical aspects of CMV infection after stem cell transplantation. *Hum Immunol* 2004; 65(5): 432–436. doi: 10.1016/j.humimm.2004.02.022.
20. Reeves MB, MacAry PA, Lehner PJ et al. Latency, chromatin remodeling, and reactivation of human cytomegalovirus in the dendritic cells of healthy carriers. *Proc Natl Acad Sci* 2005; 102(11): 4140–4145. doi: 10.1073/pnas.0408994102.
21. Hahn G, Jores R, Mocarski ES. Cytomegalovirus remains latent in a common precursor of dendritic and myeloid cells. *Proc Natl Acad Sci* 1998; 95(7): 3937–3942. doi: 10.1073/pnas.95.7.3937.
22. Dupont L, Reeves MB. Cytomegalovirus latency and reactivation: recent insights into an age old problem. *Rev Med Virol* 2016; 26(2): 75–89. doi: 10.1002/rmv.1862.
23. Nickoloff JA, Sharma N, Taylor L. Clustered DNA double-strand breaks: biological effects and relevance to cancer radiotherapy. *Genes* 2020; 11(1): 99. doi: 10.3390/genes11010099.
24. Nickoloff JA, Sharma N, Allen CP et al. Roles of homologous recombination in response to ionizing radiation-induced DNA damage. *Int J Radiat Biol* 2023; 99(6): 903–914. doi: 10.1080/09553002.2021.1956001.
25. Merchut-Maya JM, Bartek J, Bartkova J et al. Human cytomegalovirus hijacks host stress response fueling replication stress and genome instability. *Cell Death Differ* 2022; 29(8): 1639–1653. doi: 10.1038/s41418-022-00953-w.
26. Gaspar M, Shenk T. Human cytomegalovirus inhibits a DNA damage response by mislocalizing checkpoint proteins. *Proc Natl Acad Sci* 2006; 103(8): 2821–2826. doi: 10.1073/pnas.0511148103.
27. Diaz N, Minton S, Cox C et al. Activation of stat3 in primary tumors from high-risk breast cancer patients is associated with elevated levels of activated SRC and survivin expression. *Clin Cancer Res* 2006; 12(1): 20–28. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-04-1749.
28. Herbein G, Kumar A. The oncogenic potential of human cytomegalovirus and breast cancer. *Front Oncol* 2014; 4: 230. doi: 10.3389/fonc.2014.00230.
29. Bai B, Wang X, Chen E et al. Human cytomegalovirus infection and colorectal cancer risk: a meta-analysis. *Oncotarget* 2016; 7(47): 76735–76742. doi: 10.18632/oncotarget.12523.

30. McFaline-Figueroa JR, Wen PY. The viral connection to glioblastoma. *Curr Infect Dis Rep* 2017; 19(2): 5. doi: 10.1007/s11908-017-0563-z.
31. Peredo-Harvey I, Rahbar A, Söderberg-Nauclér C. Presence of the human cytomegalovirus in glioblastomas – a systematic review. *Cancers* 2021; 13(20): 5051. doi: 10.3390/cancers13205051.
32. Castillo JP, Yurochko AD, Kowalik TF. Role of human cytomegalovirus immediate-early proteins in cell growth control. *J Virol* 2000; 74(17): 8028–8037. doi: 10.1128/jvi.74.17.8028-8037.2000.
33. Maussang D, Langemeijer E, Fitzsimons CP et al. The human cytomegalovirus-encoded chemokine receptor US28 promotes angiogenesis and tumor formation via cyclooxygenase-2. *Cancer Res* 2009; 69(7): 2861–2869. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-08-2487.
34. Siew VK, Duh CY, Wang SK. Human cytomegalovirus UL76 induces chromosome aberrations. *J Biomed Sci* 2009; 16(1): 107. doi: 10.1186/1423-0127-16-107.
35. Kalejta RF, Shenk T. Manipulation of the cell cycle by human cytomegalovirus. *Front Biosci* 2002; 7(4): 295–306. doi: 10.2741/kalejta.
36. Zhu H, Shen Y, Shenk T. Human cytomegalovirus IE1 and IE2 proteins block apoptosis. *J Virol* 1995; 69(12): 7960–7970. doi: 10.1128/JVI.69.12.7960-7970.1995.
37. Bego MG, St Jeor S. Human cytomegalovirus infection of cells of hematopoietic origin: HCMV-induced immunosuppression, immune evasion, and latency. *Exp Hematol* 2006; 34(5): 555–570. doi: 10.1016/j.exphem.2005.11.012.
38. Klucher KM, Sommer M, Kadonaga JT et al. In vivo and in vitro analysis of transcriptional activation mediated by the human cytomegalovirus major immediate-early proteins. *Mol Cell Biol* 1993; 13(2): 1238–1250. doi: 10.1128/mcb.13.2.1238-1250.1993.
39. Hagemeier C, Caswell R, Hayhurst G et al. Functional interaction between the HCMV IE2 transactivator and the retinoblastoma protein. *EMBO J* 1994; 13(12): 2897–2903. doi: 10.1002/j.1460-2075.1994.tb0584.x.
40. Hwang ES, Zhang Z, Cai H et al. Human cytomegalovirus IE1-72 protein interacts with p53 and inhibits p53-dependent transactivation by a mechanism different from that of IE2-86 protein. *J Virol* 2009; 83(23): 12388–12398. doi: 10.1128/jvi.00304-09.
41. Daly CA, Smit MJ, Plouffe B. The constitutive activity of the viral-encoded G-protein-coupled receptor US28 supports a complex signalling network contributing to cancer development. *Biochem Soc Trans* 2020; 48(4): 1493–1504. doi: 10.1042/bst20190988.
42. Maussang D, Verzijl D, van Walsum M et al. Human cytomegalovirus-encoded chemokine receptor US28 promotes tumorigenesis. *Proc Natl Acad Sci* 2006; 103(35): 13068–13073. doi: 10.1073/pnas.0604433103.
43. Krishna BA, Miller WE, O'Connor CM. US28: HCMV's Swiss army knife. *Viruses* 2018; 10(8): 445. doi: 10.3390/v10080445.
44. Lee K, Jeon K, Kim JM et al. Downregulation of GFAP, TSP-1, and p53 in human glioblastoma cell line, U373MG, by IE1 protein from human cytomegalovirus. *Glia* 2005; 51(1): 1–12. doi: 10.1002/glia.20179.
45. Castillo JP, Kowalik TF. Human cytomegalovirus immediate early proteins and cell growth control. *Gene* 2002; 290(1): 19–34. doi: 10.1016/S0378-1119(02)00566-8.
46. Casarosa P, Bakker RA, Verzijl D et al. Constitutive signaling of the human cytomegalovirus-encoded chemokine receptor US28. *J Biol Chem* 2001; 276(2): 1133–1137. doi: 10.1074/jbc.M008965200.
47. Prichard MN. Function of human cytomegalovirus UL97 kinase in viral infection and its inhibition by maribavir. *Rev Med Virol* 2009; 19(4): 215–229. doi: 10.1002/rmv.615.
48. McCormick AL, Roback L, Livingston-Rosanoff D et al. The human cytomegalovirus UL36 gene controls caspase-dependent and -independent cell death programs activated by infection of monocytes differentiated to macrophages. *J Virol* 2010; 84(10): 5108–5123. doi: 10.1128/jvi.01345-09.
49. Sharon-Friling R, Goodhouse J, Colberg-Poley AM et al. Human cytomegalovirus pUL37x1 induces the release of endoplasmic reticulum calcium stores. *Proc Natl Acad Sci* 2006; 103(50): 19117–19122. doi: 10.1073/pnas.0609353103.
50. Jones BC, Logsdon NJ, Josephson K et al. Crystal structure of human cytomegalovirus IL-10 bound to soluble human IL-10R1. *Proc Natl Acad Sci* 2002; 99(14): 9404–9409. doi: 10.1073/pnas.152147499.
51. Tomtishen JP. Human cytomegalovirus tegument proteins (pp65, pp71, pp150, pp28). *Virol J* 2012; 9(1): 22. doi: 10.1186/1743-422X-9-22.
52. Yang T, Liu D, Fang S et al. Cytomegalovirus and glioblastoma: a review of the biological associations and therapeutic strategies. *J Clin Med* 2022; 11(17): 5221. doi: 10.3390/jcm11175221.
53. Taher C, de Boniface J, Mohammad AA et al. High prevalence of human cytomegalovirus proteins and nucleic acids in primary breast cancer and metastatic sentinel lymph nodes. *PLoS One* 2013; 8(2): e56795. doi: 10.1371/journal.pone.0056795.
54. Dong W, Akshjot P, Sheng J et al. 968 cytomegalovirus infection contributes to breast cancer brain metastasis through the creation of an immune-suppressive tumor microenvironment. *J Immunother Cancer* 2024; 12 (Suppl 2): A1084. doi: 10.1136/jitc-2024-SITC2024.0968.
55. Lakomy R, Kazda T, Selingerova I et al. Real-world evidence in glioblastoma: Stupp's regimen after a decade. *Front Oncol* 2020; 10: 840. doi: 10.3389/fonc.2020.00840.
56. Mondragon-Soto M, Rodríguez-Hernández LA, Moreno Jiménez S et al. Clinical, therapeutic, and prognostic experience in patients with glioblastoma. *Cureus* 2022; 14(10): e29856. doi: 10.7759/cureus.29856.
57. Stragliotto G, Rahbar A, Solberg NW et al. Effects of valganciclovir as an add-on therapy in patients with cytomegalovirus-positive glioblastoma: a randomized, double-blind, hypothesis-generating study. *Int J Cancer* 2013; 133(5): 1204–1213. doi: 10.1002/ijc.28111.
58. Liu CJ, Hu YW. Immortal time bias in retrospective analysis: is there a survival benefit in patients with glioblastoma who received prolonged treatment of adjuvant valganciclovir? *Int J Cancer* 2014; 135(1): 250–251. doi: 10.1002/ijc.28664.
59. Foster H, Piper K, DePledge L et al. Human cytomegalovirus seropositivity is associated with decreased survival in glioblastoma patients. *Neurooncol Adv* 2019; 1(1): vdz020. doi: 10.1093/oaajnl/vdz020.
60. Rahbar A, Orrego A, Peredo I et al. Human cytomegalovirus infection levels in glioblastoma multiforme are of prognostic value for survival. *J Clin Virol* 2013; 57(1): 36–42. doi: 10.1016/j.jcv.2012.12.018.
61. Söderberg-Nauclér C, Rahbar A, Stragliotto G. Survival in patients with glioblastoma receiving valganciclovir. *N Engl J Med* 2013; 369(10): 985–986. doi: 10.1056/NEJMc1302145.
62. Goerig NL, Frey B, Korn K et al. Early mortality of brain cancer patients and its connection to cytomegalovirus reactivation during radiochemotherapy. *Clin Cancer Res* 2020; 26(13): 3259–3270. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-19-3195.
63. Filley AC, Dey M. Dendritic cell based vaccination strategy: an evolving paradigm. *J Neurooncol* 2017; 133(2): 223–235. doi: 10.1007/s11060-017-2446-4.
64. Lynes J, Sanchez V, Dominah G et al. Current options and future directions in immune therapy for glioblastoma. *Front Oncol* 2018; 8: 578. doi: 10.3389/fonc.2018.00578.
65. Mitchell DA, Batich KA, Gunn MD et al. Tetanus toxoid and CCL3 improve dendritic cell vaccines in mice and glioblastoma patients. *Nature* 2015; 519(7543): 366–369. doi: 10.1038/nature14320.
66. Batich KA, Reap EA, Archer GE et al. Long-term survival in glioblastoma with cytomegalovirus pp65-targeted vaccination. *Clin Cancer Res* 2017; 23(8): 1898–1909. doi: 10.1158/1078-0432.Ccr-16-2057.
67. Razonable RR, Inoue N, Pinninti SG et al. Clinical diagnostic testing for human cytomegalovirus infections. *J Infect Dis* 2020; 221 (Suppl 1): S74–S85. doi: 10.1093/infdis/jiz601.
68. Gliga S, Fiedler M, Dornieden T et al. Comparison of three cellular assays to predict the course of CMV infection in liver transplant recipients. *Vaccines* 2021; 9(2): 88. doi: 10.3390/vaccines9020088.
69. The TH, van der Bij W, van den Berg AP et al. Cytomegalovirus antigenemia. *Rev Infect Dis* 1990; 12 (Suppl 7): S737–S744. doi: 10.1093/clinids/12.Supplement_7.S737.
70. Michaelides A, Facey D, Spelman D et al. HCMV DNA detection and quantitation in the plasma and PBL of lung transplant recipients: COBAS Amplicor HCMV monitor test versus in-house quantitative HCMV PCR. *J Clin Virol* 2003; 28(2): 111–120. doi: 10.1016/S1386-6532(02)00272-X.
71. Gouarin S, Vabret A, Gault E et al. Quantitative analysis of HCMV DNA load in whole blood of renal transplant patients using real-time PCR assay. *J Clin Virol* 2004; 29(3): 194–202. doi: 10.1016/S1386-6532(03)00124-0.
72. Tafvizi F, Fard ZT. Detection of human cytomegalovirus in patients with colorectal cancer by nested-PCR. *Asian Pac J Cancer Prev* 2014; 15(3): 1453–1457. doi: 10.7314/apjcp.2014.15.3.1453.
73. Wolmer-Solberg N, Baryawno N, Rahbar A et al. Frequent detection of human cytomegalovirus in neuroblastoma: a novel therapeutic target? *Int J Cancer* 2013; 133(10): 2351–2361. doi: 10.1002/ijc.28265.
74. Baryawno N, Rahbar A, Wolmer-Solberg N et al. Detection of human cytomegalovirus in medulloblastomas reveals a potential therapeutic target. *J Clin Invest* 2011; 121(10): 4043–4055. doi: 10.1172/JCI57147.
75. Yang CF, Ho HL, Lin SC et al. Detection of human cytomegalovirus in glioblastoma among Taiwanese subjects. *PLoS One* 2017; 12(6): e0179366. doi: 10.1371/journal.pone.0179366.
76. Mohammad AA, Rahbar A, Lui WO et al. Detection of circulating hcmv-miR-UL112-3p in patients with glioblastoma, rheumatoid arthritis, diabetes mellitus and healthy controls. *PLoS One* 2014; 9(12): e113740. doi: 10.1371/journal.pone.0113740.
77. Eurofins Viracor. Cytomegalovirus (CMV) total antibody EIA. 2025 [online]. Available from: <https://www.eurofins-viracor.com/test-menu/30809-cytomegalovirus-cmv-total-antibody-eia/>.
78. BioVendor Group. CLIA CMV IgG. 2021 [online]. Available from: <https://www.clia.biovendorgroup/catalogue-of-parameters/clia-cmv-igg>.
79. CTK Biotech. CMV IgG/IgM rapid test. 2025 [online]. Available from: <https://ctkbiotech.com/product/cmv-igg-igm-rapid-test/>.
80. Diasorin. LIAISON® cytomegalovirus (CMV) diagnostic solution. 2025 [online]. Available from: <https://int.diasorin.com/en/immunodiagnostics/infectious-diseases/cytomegalovirus>.
81. Altona Diagnostics. RealStar® CMV PCR Kit 1.0. 2025 [online]. Available from: <https://altona-diagnostics.com/product/realstar-cmv-pcr-kit-1-0/>.
82. GeneProof. GeneProof® cytomegalovirus (CMV) PCR kit – (IVDR). 2025 [online]. Available from: <https://www.geneproof.com/cs-cs/geneproof-r-cytomegalovirus-cmv-pcr-kit-ivdr/p6912>.
83. Roche Diagnostics. Cobas® CMV. 2025 [online]. Available from: <https://diagnostics.roche.com/global/en/products/params/cobas-cmv.html#productInfo>.
84. Abbott Molecular Diagnostics. Abbott realtime CMV. 2025 [online]. Available from: <https://www.molecularabbott/us/en/products/infectious-disease/realtime-cmv>.
85. Hologic. Aptima® CMV quant assay. 2025 [online]. Available from: <https://www.hologic.com/hologic-prod>.

- ucts/molecular-diagnostics/aptima-cmv-quant-assay#4257225834-452551118.
86. Qiagen. QuantiFERON-CMV kits. 2025 [online]. Available from: <https://www.qiagen.com/gb/products/diagnostics-and-clinical-research/transplant/quantiferon-transplant/quantiferon-cmv-assay>.
87. Immudex. Dextramer® CMV kit – in vitro diagnostics. 2025 [online]. Available from: https://www.immudex.com/products/clinical-reagents/dextramer-cmv-kit-in-vitro-diagnostics/?utm_source=google&utm_medium=cpc&utm_campaign=21117077663&utm_term=169843039868&gad_source=1&gclid=EAlalQobChMIq-ft2e7nhwMVPpCDBx2rLA5wEAAYAiAAEgl-V_D_BwE.
88. Mikrogen Diagnostik. T-Track® CMV. 2025 [online]. Available from: <https://www.mikrogen.de/en/products-automation/product-finder/t-trackr-cmv>.
89. Mills AM, Guo FP, Copland AP et al. A comparison of CMV detection in gastrointestinal mucosal biopsies using immunohistochemistry and PCR performed on formalin-fixed, paraffin-embedded tissue. *Am J Surg Pathol* 2013; 37(7): 995–1000. doi: 10.1097/PAS.0b013e31827fcc33.
90. Kotton CN, Kumar D, Caliendo AM et al. Updated International Consensus Guidelines on the management of cytomegalovirus in solid-organ transplantation. *Transplantation* 2013; 96(4): 333–360. doi: 10.1097/TP.0b013e31829df29d.
91. Razonable RR, Humar A. Cytomegalovirus in solid organ transplant recipients – Guidelines of the American Society of Transplantation Infectious Diseases Community of Practice. *Clin Transplant* 2019; 33(9): e13512. doi: 10.1111/ctr.13512.
92. Baniak N, Kanthan R. Cytomegalovirus colitis: an uncommon mimicker of common colitides. *Arch Pathol Lab Med* 2016; 140(8): 854–858. doi: 10.5858/arpa.2015-0176-RS.
93. Pritt BS, Aubry MC. Histopathology of viral infections of the lung. *Semin Diagn Pathol* 2017; 34(6): 510–517. doi: 10.1053/j.semdp.2017.06.005.
94. Baumgarten P, Michaelis M, Rothweiler F et al. Human cytomegalovirus infection in tumor cells of the nervous system is not detectable with standardized pathologic-virological diagnostics. *Neuro Oncol* 2014; 16(11): 1469–1477. doi: 10.1093/neuonc/nou167.
95. Stone RA, Lin T, Laties AM et al. Retinal dopamine and form-deprivation myopia. *Proc Natl Acad Sci* 1989; 86(2): 704–706. doi: 10.1073/pnas.86.2.704.
96. Libard S, Popova SN, Amini RM et al. Human cytomegalovirus tegument protein pp65 is detected in all intra- and extra-axial brain tumours independent of the tumour type or grade. *PLoS One* 2014; 9(9): e108861. doi: 10.1371/journal.pone.0108861.
97. Lucas KG, Bao L, Bruggeman R et al. The detection of CMV pp65 and IE1 in glioblastoma multiforme. *J Neurooncol* 2011; 103(2): 231–238. doi: 10.1007/s11060-010-0383-6.
98. Söderberg-Nauclér C. New mechanistic insights of the pathogenicity of high-risk cytomegalovirus (CMV) strains derived from breast cancer: hope for new cancer therapy options. *EBioMedicine* 2022; 81: 104103. doi: 10.1016/j.ebiom.2022.104103.
99. El Shazly DF, Bahnassey AA, Omar OS et al. Detection of human cytomegalovirus in malignant and benign breast tumors in Egyptian women. *Clin Breast Cancer* 2018; 18(4): e629–e642. doi: 10.1016/j.clbc.2017.10.018.
100. Taher C, Frisk G, Fuentes S et al. High prevalence of human cytomegalovirus in brain metastases of patients with primary breast and colorectal cancers. *Transl Oncol* 2014; 7(6): 732–740. doi: 10.1016/j.tranon.2014.09.008.
101. Samanta M, Harkins L, Klemm K et al. High prevalence of human cytomegalovirus in prostatic intraepithelial neoplasia and prostatic carcinoma. *J Urol* 2003; 170(3): 998–1002. doi: 10.1097/01.ju.0000080263.46164.97.
102. Harkins L, Volk AL, Samanta M et al. Specific localization of human cytomegalovirus nucleic acids and proteins in human colorectal cancer. *Lancet* 2002; 360(9345): 1557–1563. doi: 10.1016/S0140-6736(02)11524-8.
103. Melnick M, Sedghizadeh PP, Allen CM et al. Human cytomegalovirus and mucoepidermoid carcinoma of salivary glands: cell-specific localization of active viral and oncogenic signaling proteins is confirmatory of a causal relationship. *Exp Mol Pathol* 2012; 92(1): 118–125. doi: 10.1016/j.yexmp.2011.10.011.
104. Yin M, Chen A, Zhao F et al. Detection of human cytomegalovirus in patients with epithelial ovarian cancer and its impacts on survival. *Infect Agent Cancer* 2020; 15(1): 23. doi: 10.1186/s13027-020-00289-5.
105. Carlson JW, Rådestad AF, Söderberg-Naucler C et al. Human cytomegalovirus in high grade serous ovarian cancer possible implications for patients survival. *Medicine* 2018; 97(4): e9685. doi: 10.1097/md.0000000000009685.
106. Rahbar A, Pantalone MR, Religa P et al. Evidence of human cytomegalovirus infection and expression of 5-lipoxygenase in borderline ovarian tumors. *J Med Virol* 2021; 93(6): 4023–4027. doi: 10.1002/jmv.26664.
107. Price RL, Harkins L, Chiocca EA et al. Human cytomegalovirus is present in alveolar soft part sarcoma. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2017; 25(9): 615–619. doi: 10.1097/pai.0000000000000354.
108. Hanahan D. Hallmarks of cancer: new dimensions. *Cancer Discov* 2022; 12(1): 31–46. doi: 10.1158/2159-8290.CD-21-1059.
109. Weber F. Antiviral innate immunity: introduction. *Encyclopedia Virol* 2021; 577–583. doi: 10.1016/B978-0-12-809633-8.21290-9.
110. Komarova NL, Barnes E, Klennerman P et al. Boosting immunity by antiviral drug therapy: a simple relationship among timing, efficacy, and success. *Proc Natl Acad Sci* 2003; 100(4): 1855–1860. doi: 10.1073/pnas.0337483100.