

Андропова В.Л.

СОВРЕМЕННАЯ ЭТИОТРОПНАЯ ХИМИОТЕРАПИЯ ЦИТОМЕГАЛОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ ЧЕЛОВЕКА: КЛИНИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ, МОЛЕКУЛЯРНЫЙ МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ, ЛЕКАРСТВЕННАЯ УСТОЙЧИВОСТЬ, НОВЫЕ ТЕНДЕНЦИИ И ПЕРСПЕКТИВЫ. ЧАСТЬ 2

ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почётного академика Н.Ф. Гамалеи»
Минздрава России, 123098, г. Москва

Ряд синтетических соединений, таких как нуклеозидный аналог ганцикловир, его L-валиновый эфир (представляющий собой метаболический предшественник ганцикловира) и пирофосфатный аналог фоскарнет, разрешены ВОЗ для лечения заболеваний, вызываемых цитомегаловирусом (ЦМВ) человека, в европейском регионе. Биомиметизм этих препаратов является вирусная ДНК-полимераза. Однако проведение стандартной анти-ЦМВ-терапии сопровождается тяжёлыми побочными эффектами, а также развитием у вируса лекарственной резистентности, главным образом в условиях иммунодефицита.

В этом обзоре мы сконцентрировали внимание на вирусных протеинах, представляющих интерес в качестве новых потенциальных мишеней, и их ингибиторах, таких как ингибитор терминазы ЦМВ человека летермовир, показавший высокую активность в III фазе клинических испытаний, ингибиторы вирусной циклин-зависимой киназы (maribavir, cyclopropavir) и целый ряд соединений, проявляющих анти-ЦМВ-активность, проходящих доклинические испытания в эксперименте. Включение в стандартные профилактические и лечебные схемы новых анти-ЦМВ-агентов, активных против резистентных к ганцикловиру/фоскарнету штаммов ЦМВ, позволит значительно повысить эффективность терапии ЦМВ-инфекции, в том числе в случаях, когда стандартная терапия оказывается неэффективной.

Области поиска: международные базы данных MEDLINE, PubMed, eLIBRARY.RU, ClinicalTrials.gov и другие с целью получения информации о соединениях, проявляющих селективное действие в отношении ЦМВ человека, наиболее перспективных для создания лекарственных препаратов.

Ключевые слова: обзор; цитомегаловирус человека; противовирусный агент; лекарственный препарат.

Для цитирования: Андропова В.Л. Современная этиотропная химиотерапия цитомегаловирусной инфекции человека: клиническая эффективность, молекулярный механизм действия, лекарственная устойчивость, новые тенденции и перспективы. Часть 2. *Вопросы вирусологии*. 2018; 63(6):250-260.

DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0507-4088-2018-63-6-250-260>

Andronova V.L.

MODERN ETHIOTROPIC CHEMOTHERAPY OF HUMAN CYTOMEGALOVIRUS INFECTION: CLINICAL EFFECTIVENESS, MOLECULAR MECHANISM OF ACTION, DRUG RESISTANCE, NEW TRENDS AND PROSPECTS. PART 2

National Research Centre for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N.F. Gamaleya,
Moscow, 123098, Russian Federation

A number of synthetic compounds, such as the nucleoside analog ganciclovir, its L-valine ester (a metabolic precursor of ganciclovir) and pyrophosphate analog foscarnet, are permitted for the treatment of HCMV-related diseases in the WHO European Region. The viral DNA- polymerase is used by all these drugs as a bio-target. However, the usage of standard anti-CMV therapy is accompanied by severe side effects, as well as the development of drug resistance in the virus, mainly in conditions of immunodeficiency.

In this review, we focused on viral proteins of interest as new potential targets and their inhibitors, such as the inhibitor of human CMV terminase, letermovir, which showed great activity in the third phase of clinical trials, inhibitors of viral cyclin-dependent kinase (maribavir, cyclopropavir) and a number of compounds exhibiting anti-HCMV-activity, undergoing only preclinical trials in the experiment. Inclusion of new anti-CMV agents that are active against GCV/PFA/CDV-resistant strains of CMV into standard prophylactic and therapeutic regimens, will allow to increase the effectiveness of anti-CMV therapy, including in cases when standard therapy is ineffective. Areas covered: the international databases such as MEDLINE, PubMed, eLIBRARY.RU, ClinicalTrials.gov., etc. with the purpose of obtaining information on compounds showing selective action against the human cytomegalovirus, the most promising for the development of drugs.

Key words: review; human cytomegalovirus; antiviral agent; drug.

For citation: Andronova V.L. Modern ethiotropic chemotherapy of human cytomegalovirus infection: clinical effectiveness, molecular mechanism of action, drug resistance, new trends and prospects. Part 2. *Voprosy Virusologii (Problems of Virology, Russian journal)*. 2018; 63(6):250-260. (In Russ.). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0507-4088-2018-63-6-250-260>

Для корреспонденции: Андропова Валерия Львовна, канд. биол. наук, вед. науч. сотрудник лаборатории химиотерапии вирусных инфекций ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почётного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, 123098, г. Москва. E-mail: andronova.vl@yandex.ru

For correspondence: Valeriya L. Andronova, Ph.D., Leading Researcher at the Laboratory of Chemotherapy of Viral Infections, “N.F. Gamaleya NRCEM”, Moscow, 123098, Russian Federation. E-mail: andronova.vl@yandex.ru

Information about authors:

Andronova V.L., <http://orcid.org/0000-0002-2467-0282>

Acknowledgment. The study had no sponsorship.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Received 15 November 2017

Accepted 12 December 2017

Введение

Цитомегаловирус (ЦМВ) человека, или вирус герпеса человека 5-го типа (семейство *Herpesviridae*, подсемейство *Betaherpesvirinae*) широко распространён во всем мире, что объясняется многообразием путей передачи инфекции (контактно-бытовым, половым, перинатальным, трансплацентарным, трансфузионным и т. д.), способностью вируса устанавливать пожизненную латентную инфекцию (вероятно, в миелиоидных клетках костного мозга) со спорадической реактивацией [1] и передаваться не только от больного в период развития острой ЦМВ-инфекции (ЦМВИ), но и от вирусоносителя при бессимптомном её течении. Региональные различия в выявляемых антител к ЦМВ у населения (от 30 до 90%) [2] определяют уровень социально-экономического развития страны, а также условиями проживания (плотность населения, соблюдение санитарно-гигиенических правил и др.).

Обычно первичный эпизод ЦМВИ (цитомегалии) с последующим пожизненным вирусоносительством протекает бессимптомно. Однако у лиц с тяжёлым иммунодефицитом (с числом лимфоцитов CD4 менее 100/мкл), например, у ВИЧ-инфицированных лиц, реципиентов солидных органов и гемопоэтических стволовых клеток (ГСК), у онкологических больных на фоне проведения курса агрессивной химиотерапии, ЦМВ может вызвать диссеминированную инфекцию с высокой летальностью, а также привести к инвалидизации. Так, даже при своевременном лечении ЦМВ-ретинита сохраняется риск потери зрения, обусловленный необратимыми органическими изменениями в сетчатке глаза [3]. Системному распространению вируса в организме человека способствует широкий клеточный тропизм ЦМВ (способность инфицировать и реплицироваться в различных клетках, включая эпителиальные, эндотелиальные, мышечные, дендритные клетки, фибробласты, макрофаги, гепатоциты) [4]. Возможно поражение мозга, лёгких, печени, поджелудочной железы, почек, надпочечников, кишечника, но наиболее часто встречаются пневмония, язвенный эзофагит, колит и энцефалит. В европейском регионе ЦМВИ признана ВОЗ одной из наиболее распространённых оппортунистических инфекций [5].

ЦМВ человека также является ведущей инфекционной причиной врождённых неврологических заболеваний, передаваемых через плаценту от матери к ребёнку [6]. Инфицирование плода в первой половине беременности при первичном заражении беременной приводит к гибели плода, выкидышам, врождённым уродствам, а внутриутробная ЦМВИ во второй половине беременности или заражение новорождённого при грудном вскармливании – к развитию эпилепсии, церебральному

параличу, нарушению обучаемости, умственной отсталости, потере слуха и зрения [7, 8].

Европейское региональное бюро ВОЗ, членом которого является Российская Федерация, специально для европейского региона разработало протоколы лечения и профилактики ЦМВИ при ВИЧ/СПИДе (2007 г.), в соответствии с которыми этиотропными химиотерапевтическими препаратами (ЭХТП) 1-го ряда являются ганцикловир (ГЦВ, препарат для внутривенного (в/в) введения и глазной имплантат) и его пролекарство – валганцикловир (вал-ГЦВ, пероральный препарат), препаратом 2-го ряда – фоскарнет (ФМК, препарат для в/в введения). Однако эксперты ВОЗ подчёркивают, что все эти препараты могут вызывать нейтропению, анемию и другие нежелательные побочные эффекты, данные об их эффективности в качестве профилактических средств у ЦМВ-серопозитивных лиц с иммунодефицитом (с числом лимфоцитов CD4 < 50/мкл) противоречивы, увеличение выживаемости не доказано. Для достижения максимального лечебного эффекта введение ГЦВ и ФМК необходимо проводить длительно (в течение 2–3 нед и 10–14 дней, соответственно), затем переходить на поддерживающую терапию. Однако в условиях продолжительного курса химиотерапии на фоне иммунодефицита высок риск развития лекарственной устойчивости у вируса. Кроме того, эти препараты имеют высокую стоимость [5].

ГЦВ, относящийся к классу модифицированных нуклеозидов, для проявления биологической активности нуждается в трифосфорилировании. Для фосфорилирования ГЦВ до монофосфата необходима активность вирусной протеинкиназы *pUL97*. Клеточные ферменты катализируют последующие этапы фосфорилирования с образованием ди- и трифосфатов. В форме трифосфата ГЦВ ингибирует активность вирусной ДНК-полимеразы (ДНК-*pol*). ФМК, как аналог пирофосфата, не нуждается в предварительной активации и, связываясь с ДНК-*pol*, ингибирует её активность. Использование ГЦВ и ФМК в качестве биомиметической герпетической ДНК-*pol* обуславливает сходство механизмов формирования резистентности к ним у вируса и в ряде случаев приводит к развитию множественной лекарственной резистентности, что ограничивает выбор или даже делает невозможным применение этих ЭХТП. Поэтому поиск новых соединений, способных эффективно ингибировать ДНК-*pol* ЦМВ независимо от его чувствительности к коммерческим ЭХТП, а также поиск соединений, ингибирующих другие критические для репродукции вируса ферменты и белки с иным функциональным назначением, является одним из приоритетных направлений разработки новых анти-вирусных агентов.

Жизненный цикл цитомегаловируса человека

Понимание процессов, лежащих в основе репродуктивного цикла вируса, позволяет определить потенциальные вирусные мишени. В соответствии с современными представлениями, инфекционные частицы ЦМВ адсорбируются на клеточной поверхности в результате связывания расположенных на наружной поверхности вириона гликопротеинов с клеточными рецепторами и проникают в клетку путём рецепторного эндоцитоза. При слиянии внешней липопротеидной оболочки вириона со стенкой эндоцитарной вакуоли нуклеокапсид и белки тегумента проникают в цитозоль. Нуклеокапсид транспортируется к ядру через систему микротрубочек клетки-хозяина и далее в ядро, вероятно, благодаря белкам тегумента, связанным с капсидом [9, 10]. В ядре осуществляются транскрипция, репликация вирусного генома и инкапсидация геномной ДНК.

Регуляция экспрессии генов ЦМВ осуществляется по упорядоченному во времени каскадному механизму, включающему экспрессию сверххранных (IE), ранних (E) и поздних (L) генов вируса. Белки тегумента инициируют экспрессию IE-генов, IE-белки включают экспрессию E-генов, а E-белки инициируют репликацию вирусного генома и экспрессию L-генов [9]. Сверххранная фаза продолжается первые 24 ч после инфицирования. В этот период синтезируются четыре IE-белка, структура которых кодируется главным IE-геном, – IE-p72 (IE1), IE-p86 (IE2), IE-p55 и IE-p56. IE-белки играют кардинальную роль в инициации цикла транскрипции/репликации вируса и дальнейшем развитии ЦМВИ. Основные регуляторные белки IE1 и IE2 контролируют экспрессию E- и L-генов [11]. Для экспрессии вирусных генов IE не требуется синтез вирусных белков *de novo*. Она индуцируется белками тегумента вируса *pUL82* (pp71) и *pUL69* в комбинации с различными клеточными транскрипционными факторами [9, 12]. Ранняя фаза определяется от начала синтеза вирусной ДНК (спустя 2–4 ч после инфицирования) и длится 24–72 ч. На этом этапе синтезируются кодируемые E-генами белки, которые осуществляют синтез вирусной ДНК, в том числе ДНК-*pol*, в то время как L-гены кодируют белки для компонентов вирионов. Поздняя фаза начинается спустя 24–48 ч после инфицирования и заканчивается гибелью клетки. На этом этапе структурные вирусные белки транспортируются в ядро, где экспрессия L-генов инициирует сборку капсидов. После инкапсидации вновь синтезированных вирусных геномных ДНК нуклеокапсиды выходят из ядра через двойную ядерную мембрану в цитозоль и переносятся в вирусный сборочный комплекс (assembly complex, AC), включающий компоненты эндоплазматического ретикулума, аппарата Гольджи и эндосомального аппарата [13, 14]. Нуклеокапсиды дополнительно приобретают тегумент и вирусную оболочку во внутриклеточных везикулах в AC. Сформированные инфекционные частицы, а также неинфекционные частицы, так называемые плотные тела, высвобождаются во внутриклеточное пространство.

Анти-ЦМВ-агенты с альтернативным механизмом действия

В настоящее время ведётся активный поиск антивирусных агентов, воздействующих на различные био-

мишени (вирусные и клеточные белки), вовлечённые в жизненный цикл ЦМВ на различных этапах и необходимые для эффективной репродукции вируса. В этой статье представлен ряд новых разработок, особое внимание уделено соединениям, проходящим стадию клинических испытаний.

Ингибиторы ДНК-*pol* герпесвирусов

PNU-182171 и **PNU-183792** – производные 4-гидрокси-хинолин-3-карбоксамиды (4-HQC, см. таблицу) представляют класс ненуклеозидных высокоселективных ингибиторов ДНК-*pol* герпесвирусов. PNU-183792 проявляет активность *in vitro* в отношении ЦМВ человека в концентрации около 0,94 мкМ (ИД₅₀ – концентрация соединения, ингибирующая на 50% развитие индуцированного вирусом цитопатогенного эффекта), что хорошо сопоставимо с ИД₅₀ ГЦВ 3,1–3,5 мкМ на моделях вирусов простого герпеса 1-го и 2-го типов (ВПГ-1, ВПГ-2) и вируса герпеса человека 8-го типа (ВГЧ-8), вируса Варицелла-Зостера (ВВЗ, ИД₅₀ 0,34 мкМ), вируса Эпштейна-Барр (ВЭБ, ИД₅₀ 0,17 мкМ), но не влияет на репродукцию ВГЧ-6 в концентрации до 100 мкМ. Соединения этого класса не активны в отношении неродственных ДНК- и РНК-содержащих вирусов, не ингибируют ДНК-*pol* человека α , β , γ и δ даже при использовании высоких концентраций, в 60 раз и более превосходящих концентрации, необходимые для ингибирования вирусных ДНК-*pol*, что указывает на специфичность взаимодействия соединений с ДНК-*pol* герпесвирусов [15, 16].

PNU-182171 и PNU-183792 сохраняют высокую антивирусную активность в отношении ГЦВ-устойчивых штаммов ЦМВ и АЦВ-устойчивых штаммов ВПГ-1 и ВПГ-2 благодаря тому, что механизмы действия производных 4-HQC и модифицированных нуклеозидов различны. Резистентность ЦМВ к PNU-183792 связана с единственной заменой V823A в домене III ДНК-*pol*. Интересно, что V823 консервативен у ВПГ-1, ВПГ-2, ЦМВ, ВВЗ, ВЭБ и ВГЧ-8, а ДНК-*pol* ВГЧ-6 и ВГЧ-7 содержат в положении 823 аланин и резистентны к производным 4-HQC. Однако ВГЧ-6 с заменой A823V в ДНК-*pol* чувствителен к PNU-183792. Очевидно, соединения этого класса связываются с V823 вирусной ДНК-*pol* и нарушают её взаимодействие с праймером матричной ДНК или сдвигают матрицу из активного сайта ДНК-*pol*, нарушая таким образом связывание и/или включение поступающего в репликативный комплекс дезоксиНТФ с ДНК-*pol* [16].

Показана высокая противовирусная активность PNU-183792 при оральном введении мышам на моделях летальных ВПГ- и ЦМВ-инфекций [16]. Сведения о дальнейших доклинических исследованиях производных 4-HQC в доступной литературе отсутствуют.

Создание лекарственных препаратов на базе соединений, в отличие от базовых анти-ЦМВ-ЭХТП, не влияющих на функциональную активность вирусной ДНК-*pol*, а использующих в качестве биомишени иные вирусные или клеточные белки и с более благоприятным профилем безопасности, с большой долей вероятности позволяют контролировать ЦМВИ, резистентную к ГЦВ и ФМК.

Ингибиторы циклин-зависимой Ser/Thr-киназы (cdk) ЦМВ

Все герпесвирусы кодируют собственные cdk семейства HvU_L: у ЦМВ это *pUL97*, у ВПГ – *pUL13*, у ВВЗ

– *pORF47*, у ВЭБ – *pBGLF4*, у ВГЧ-6 и ВГЧ-7 – *pU69*, у ВГЧ-8 – *pORF36* [17]. Герпетические cdk участвуют в фосфорилировании процессивной субъединицы вирусной ДНК-*pol*. Но *pUL13* ВПГ делает это опосредованно, активируя клеточный фермент cdk2, который, в свою очередь, вместе с клеточной cdk25 фосфорилирует *pUL42* [18], а *pUL97* ЦМВ и *pBGLF4* ВЭБ фосфорилируют соответствующие белки напрямую [19, 20]. Герпетические cdk воздействуют также на клеточные ферменты, функции которых регулируются путём фосфорилирования клеточными cdk. *pUL97* ЦМВ, *pUL13* ВПГ и *pBGLF4* ВЭБ фосфорилируют, например, фактор элонгации 1delta (EF-1) [21] и С-концевой домен РНК-*pol* II [22]. Модифицированные таким образом клеточные белки переключаются с клеточного синтеза на вирусный.

Герпетические cdk содержат ряд участков, характеризующихся значительной гомологией, но существенно различаются в других. Несмотря на наличие одинаковых функций, каждая из них имеет и уникальные [17]. Поэтому соединения, супрессирующие активность герпетических cdk, могут обладать как широким спектром действия на герпесвирусы, так и являться высокоселективными ингибиторами того или иного герпесвируса.

Серин-треониновая cdk ЦМВ человека *pUL97* представляет собой многофункциональный фермент, который: 1) обладает тимидинкиназной активностью (способен фосфорилировать ГЦВ; дезокситимидин и дезоксцитидин фосфорилирует в 3,6 и 60 раз хуже, чем ГЦВ, и не фосфорилирует дезоксигуанозин и дезоксиаденозин); 2) выполняет функции, аналогичные cdk2/cdk1, фосфорилирует вирусные белки, участвующие в репликации вирусной ДНК, например, процессивный фактор *pUL44*; 3) автофосфорилируется; 4) регулирует важнейшие этапы вирусной репродукции, например, созревание капсида и приобретение текумента связаны с активностью *pUL97*, который фосфорилирует белок текумента pp65, связывается с ним и в составе этого комплекса включается в вирионы, участвует в упаковке вирусной ДНК в капсид; 5) участвует в модификации клеточного цикла [23]; 6) большой размер капсидов ЦМВ не позволяет им проникать в сетчатую структуру ядерных ламинов в процессе выхода из ядра, поэтому для перераспределения ядерных ламинов требуется активность cdk ЦМВ: *pUL97* фосфорилирует клеточный белок p32, образует с ним комплекс, который связывается с рецептором Ламин В ядерной мембраны [24]. Очевидно, что *pUL97* является перспективной биомишенью для создания ЭХТП.

Маривавир (МБВ, см. таблицу) представляет собой рибонуклеозид, эффективный в отношении ЦМВ человека (ИД₅₀ 0,12–24 мкМ) и ВЭБ (ИД₅₀ 10 мкМ) [25]. В присутствии МБВ супрессируется синтез ДНК ЦМВ, что связано с высокоспецифичным ингибированием киназной активности *pUL97*, фосфорилирующего процессивный фактор *pUL44*, входящий в ДНК-*pol*-комплекс вируса [23].

Мутации в *pUL97*, которые приводят к понижению чувствительности к МБВ в 9–200 раз и более (V353A, L397R, T409M, H411L/N/Y), локализованы вблизи АТФ-связывающего центра фермента или лежат за пределами консервативных доменов и, как правило, отличаются от мутаций, связанных с резистентностью к ГЦВ [26]. Благодаря отсутствию перекрёстной резистентности

ГЦВ-резистентных штаммов к МБВ это соединение может использоваться для лечения ЦМВИ с лекарственной резистентностью. Однако описаны мутации, например, V466G или P521L, обуславливающие перекрёстную резистентность ЦМВ к ГЦВ (снижение величины ИД₅₀ в 11 и 17 раз) и к МБВ (снижение величины ИД₅₀ в 321 и 428 раз) [25]. Необходимо учитывать также, что ингибирование активности киназы *pUL97* в присутствии МБВ может существенно снизить эффективность активации ГЦВ при совместном использовании этих соединений.

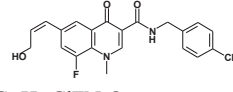
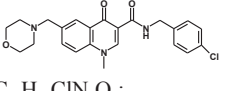
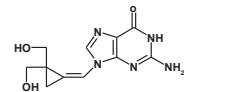
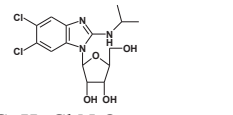
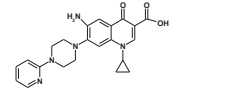
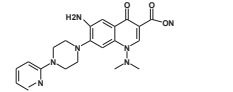
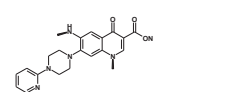
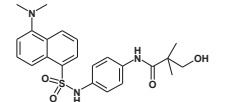
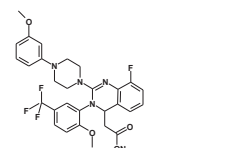
Следует отметить, что большая часть штаммов ЦМВ с низкоуровневой резистентностью к МБВ, полученных в лабораторных условиях, содержит мутации в гене *UL27*, а не в *UL97* [27]. Объяснить это можно тем, что *pUL27* способствует снижению уровня активности клеточных cdk [28], дублирующим некоторые функции *pUL97*, включая кинирование клеточного белка ретинобластомы (Rb) [29] и деградацию ядерной мембраны [24]. При потере функциональной активности мутантного *pUL27* сохранение активности cdk клетки может компенсировать снижение уровня активности киназы *pUL97*. С этим предположением согласуется тот факт, что эффективность МБВ снижается в делящихся клетках, в которых возрастает активность cdk. В покоящихся клетках белок Rb связан с клеточным фактором транскрипции E2F, ингибируя тем самым его активность. Во время клеточного цикла клеточные cdk фосфорилируют Rb, что приводит к высвобождению E2F, который стимулирует транскрипцию факторов, вовлечённых в синтез ДНК, регуляцию клеточного цикла, митоза и апоптоза [30].

МБВ обладает благоприятными фармакокинетическими параметрами и хорошо переносится. Биодоступность при оральном введении крысам превышает 90%, у обезьян – около 50%. ЛД₅₀ при оральном и в/в введении мышам составляют 518 и 39,3 мг/кг, соответственно. Для крыс эти показатели выше и равны 1092 и 100,9 мг/кг.

МБВ успешно прошёл 2 первые фазы клинических испытаний (NCT00002373, NCT02775240, NCT00223925). При оральном приёме ЦМВ-позитивными ВИЧ-инфицированными пациентами с бессимптомным течением ЦМВИ в дозах 100, 200 и 400 мг 3 раза в день или 600, 900 или 1200 мг 2 раза в день в течение 28 дней МБВ быстро абсорбируется из кишечника, достигая С_{max} уже через 1,5–2,5 ч. Показатели С_{max} и АУС не отличаются существенно на протяжении всего срока наблюдения и носят дозозависимый характер (для минимальной и максимальной доз препарата они составляли 3,5–40 мкг/мл и 16–228 г × ч/мл). Период полувыведения из плазмы t_{1/2} = 4,5–7 ч. Метаболит МБВ, N-деалкилированный аналог, по-видимому, не активен. Уровни МБВ в головном мозге, спинномозговой жидкости и стекловидном теле составляют 4–20%, 1–2% и < 1% от концентрации в плазме, соответственно. Уровень связывания МБВ с белками плазмы более 98%. Выводится МБВ главным образом с жёлчью, с мочой элиминируется не более 3%. С приёмом препарата были связаны изменение вкуса (в 82% случаев по сравнению с 19% в группе, получавшей плацебо), диарея – 26% против 12%, тошнота – 23% против 13%, а также сыпь – 19% против 6%, зуд – 19% против 6%, лихорадка – 11% против 0% [31, 32].

К сожалению, в 2 исследованиях III фазы испытаний эффективности МБВ в качестве профилактического

Анти-ЦМВ-агенты, структурно не родственные традиционным противоицицировальным соединениям, использующие в качестве биомимики различные вирусные белки

Структурная формула соединения	Название	Дополнительная информация
Ненуклеозидные ингибиторы герпетической ДНК-полимеразы		
 C ₂₃ H ₁₈ ClFN ₂ O ₃ ; Mr 400,83	PNU-182171 ; AC1057HM; YRJSPSHBIUBSBT-IHWYRQMZSA-N; SCHEMBL6697923 и др.; <i>N</i> -[(4-хлорфенил) метил]-8-фтор-6-[(<i>Z</i>)-3-гидроксипроп-1-енил]-1-метил-4-оксо-хиолин-3-карбоновая кислота	Показана активность <i>in vitro</i> и <i>in vivo</i> (при оральном введении на модели летальной инфекции ЦМВ мышей)
 C ₂₃ H ₂₄ ClN ₃ O ₃ ; Mr 425,91	PNU-183792 , BDBM50172526, SXLQSQMKOYVAAW-UHFFFAOYSA-N; SCHEMBL194433; SCHEMBL6699690; AC1LAOUP; и др.; <i>N</i> -[(4-хлорфенил) метил]-1-метил-6-(морфолин-4-илметил)-4-оксохиолин-3-карбоксамид	
Ингибиторы герпетической циклин-зависимой киназы		
 C ₁₁ H ₁₃ N ₅ O ₃ ; Mr 263,26	Циклопропавир (Филоцикловир, CPV, ZSM-I-62, MBX-400, A-5021; UNII-EA00TD9B13) и др., 2-амино-9-[(<i>Z</i>)-[2,2-бис-(гидроксиметил)-цикло-пропилиден]метил]-3H-пурин-6-он	Показана активность <i>in vitro</i> и <i>in vivo</i> на модели ЦМВ человека. Иницирована II фаза клинических испытаний
 C ₁₅ H ₁₉ Cl ₂ N ₃ O ₄ ; Mr 376,23	Маривавир (МБВ, 1263W94, SPH620, UNII-PTV4X93-HE1, Benzimidavir, 176161-24-3, BW1263W94 и др., (2 <i>S</i> , 3 <i>S</i> , 4 <i>R</i> , 5 <i>S</i>)-2-[5,6-дихлор-2-(пропан-2-иламино)-бензимидазол-1-ил]-5-(гидрокси-метил)оксолан-3,4-диол	Активен <i>in vitro</i> и <i>in vivo</i> на модели ЦМВ человека. Иницированы клинические испытания III фазы (лечение мультирезистентной ЦМВИ)
Ингибиторы функции сверхранных белков		
 C ₂₂ H ₂₃ N ₅ O ₃ ; Mr 405,46	WC5 , WC-5, SCHEMBL127498; AC1LA40A; CTK7D6019; 6-амино-1-циклопропил-4-оксо-7-(4-пиридин-2-илтиперазин-1-ил) хиолин-3-карбоновая кислота	Активны <i>in vitro</i> на модели ЦМВ человека.
 C ₂₁ H ₂₄ N ₆ O ₃ ; Mr 408,46	Соединение 9; 6-амино-1-(диметиламино)-4-оксо-7-(4-пиридин-2-илтиперазин-1-ил) хиолин-3-карбоновая кислота	
 C ₂₁ H ₂₃ N ₅ O ₃ ; Mr 393,49	Соединение 14; 6-метиламино-1-метил-4-оксо-7-(4-пиридин-2-илтиперазин-1-ил) хиолин-3-карбоновая кислота	
Ингибиторы герпетической терминазы		
 C ₂₃ H ₂₇ N ₃ O ₄ S; Mr 441,55	BAU 384766 (Tomoglovir; UNII-0YRQ-44B589; 233254-24-5 и др. <i>N</i> -[4-[[5-(ди-метиламино) нафталин-1-ил]сульфонил-амино]фенил]-3-гидрокси-2,2-диметилпропанамид	Активен <i>in vitro</i> в отношении ЦМВ человека, включая клинические изоляты, резистентные к ГЦВ, ГЦВ+ФМК, ГЦВ+ЦДВ. Подтверждена активность <i>in vivo</i> на модели ЦМВ мышей
 C ₂₉ H ₂₈ F ₄ N ₄ O ₄ ; Mr 572,56	Летермовир , AIC246, MK-8228, UNII-1H09Y5WO1F; 917389-32-3; 1H09Y5WO1F и др. 2-[(4 <i>S</i>)-8-фтор-2-[4-(3-метоксифенил)типеразин-1-ил]-3-[2-метокси-5-(трифтор-метил)фенил]-4H-хиназолин-4-ил]-уксусная кислота	Иницирована III фаза клинических испытаний. Принимается <i>per os</i> для предотвращения развития ЦМВИ. Не проявляет гематологической токсичности и нефротоксичности

Примечание. Систематические (ИЮПАК) наименования соединений в таблице даны курсивом.

средства для предотвращения развития ЦМВИ у пациентов после трансплантации аллогенных стволовых клеток и печени (NCT00411645 и NCT00497796) получены негативные результаты, что послужило основанием для остановки его клинических испытаний [33, 34]. Возможно, клиническая неэффективность МБВ была связана с выбором недостаточно высокой дозы (100 мг 2 раза/день в течение 12 нед). Во втором случае при использовании той же дозы МБВ в течение 14 нед профиль безопасности препарата был благоприятен, а полученные результаты эффективности МБВ как профилактического анти-ЦМВ-средства были неоднозначны, и по показателям эффективности МБВ уступал ГЦВ (1000 мг *per os* 3 раза в день).

Позже были опубликованы результаты лечения ЦМВИ у 12 пациентов, перенёсших трансплантацию ГСК или солидных органов, терапевтическое использование у которых ГЦВ/Вал-ГЦВ, ФМК или ЦДВ не привело к снижению вирусемии. В ряде случаев в клинических изолятах ЦМВ были идентифицированы мутации в гене *UL97*, обуславливающие резистентность к ГЦВ (L595S/P/F, M460V, A594V G603W), в *pol*-гене *UL54*, связанные с резистентностью к ФМК (V715V/M) или с множественной лекарственной резистентностью к ГЦВ и ФМК (A809V), ГЦВ и ЦДВ (L545S, P522S). При приёме МБВ (*per os* по 400 мг 2 раза в день) наблюдалось значительное снижение вирусемии у половины пациентов (> 1,5 lg копий/мл), ещё у 4 пациентов вирусная нагрузка также снижалась, но медленнее, у одного эффект оказался слабым. В одном случае лечебный эффект отсутствовал (у серонегативного реципиента почки от серопозитивного донора, у которого после лечения Вал-ГЦВ и ФМК развилась резистентность; обнаружены делеция Del603-605 в *pUL97* и замена A505V в *pUL54*) [35].

Успешно завершена II фаза клинических испытаний МБВ NCT01611974 (400, 800 или 1200 мг 2 раза в день) для лечения ЦМВИ, резистентной к ГЦВ и/или ФМК. Полученные результаты послужили основанием для инициирования ирландской фармацевтической компанией «Shige» (получившей права на дальнейшую разработку МБВ после слияния с ViroPharma) III фазы клинических испытаний МБВ (завершается набор участников) в качестве лечебного средства при ЦМВИ, резистентной к используемым в настоящее время ЭХТП – ГЦВ/Вал-ГЦВ, ФМК или ЦДВ (NCT02931539) и с целью сравнения эффективности и безопасности МБВ с Вал-ГЦВ для лечения ЦМВИ у бессимптомных реципиентов трансплантатов ГСК (NCT02927067). МБВ планируется использовать в форме таблеток по 400 мг 2 раза/день.

Результаты лечения ЦМВИ с использованием последовательно ГЦВ, ФМК, ЦДВ и МБВ (400 мг 2 раза в день *per os*) у 13-летней пациентки, страдающей от рефрактерной цитопении после трансплантации костного мозга, свидетельствуют о том, что высокая вирусная нагрузка способствует быстрой селекции резистентных ЦМВ-мутантов. Соответствующие мутации, приводящие к устойчивости к нуклеотидным и пирофосфатным аналогам, а затем к МБВ, устанавливались последовательно после каждой замены ЭХТП. Резистентность к МБВ, связанная с множественными мутациями (T409M, H411Y/N), развилась очень быстро, менее чем через 6

нед [36]. По мнению авторов статьи, это необходимо принять во внимание при разработке дизайна исследования лечебной эффективности МБВ.

Следует отметить, что при комбинированном использовании МБВ с ЦДВ или ФМК наблюдается выраженный взаимоусиливающий эффект, а сочетанное использование МБВ и ГЦВ обеспечивает суммирование эффектов препаратов [37], что может иметь практический интерес. Комбинированное использование ЭХТП позволяет не только уменьшить их дозы без потери терапевтического эффекта, но и снижает вероятность развития лекарственной резистентности у вирусов.

Циклопропанавир (ЦПВ, см. таблицу) представляет собой метиленициклопропановый аналог гуанозина. Не активен в отношении ВПГ-1, ВПГ-2 и ВВЗ, но эффективно ингибирует репродукцию ЦМВ человека (ИД₅₀ 1,2 мкМ) и ВГЧ-6В (ИД₅₀ ~ 0,7 мкМ) при ЦД₅₀ > 380 мкМ, а также проявляет активность *in vitro* против ВГЧ-6А (ИД₅₀ 7,82 мкМ), ВЭБ (ИД₅₀ 45 мкМ) и ВГЧ-8 (ИД₅₀ 6,5 мкМ) [38].

Показана эффективность ЦПВ *in vivo* на модели мышей, инфицированных ЦМВ человека, которым была имплантирована (1) ткань сетчатки плода человека в переднюю камеру глаза или (2) ткань тимуса и печени плода человека под почечную капсулу. В обоих случаях репликация ЦМВ в ткани имплантатов в контроле увеличивалась до 28 дней, затем постепенно снижалась и через 8 нед не определялась. Введение ЦПВ орально в дозе 45 мг/кг 1 раз в день через 24 ч после заражения и затем в течение 28 дней полностью подавляло репликацию вируса. При снижении дозы до 15 мг/кг вирус в незначительном титре удалось изолировать из ткани имплантата только на 21-й день инфекции, к 28-му дню титр вируса снизился до неопределяемого уровня. Эффект препарата был выше, чем у ГЦВ (в/в введение по той же схеме в дозе 45 мг/кг) [39].

Для проявления противовирусной активности ЦПВ требуется киназа *pUL97* ЦМВ, фосфорилирующая ЦПВ до монофосфата. Фосфорилирование до трифосфата катализируется гуанозинмонофосфаткиназой [40]. В форме трифосфата ЦПВ ингибирует вирусную ДНК-*pol*, что приводит к остановке синтеза вирусной ДНК [38].

Но ЦПВ, вероятно, ингибирует активность не только ДНК-*pol pUL54*, но и киназы *pUL97*. Это предположение базируется на следующих результатах. При секвенировании геномов полученных *in vitro* вариантов ЦМВ, резистентных к ЦПВ, была идентифицирована мутация в гене *UL27*, приводящая к сдвигу рамки. В результате синтезировался укороченный белок, у которого отсутствовал концевой карбоксильный домен, важный для функциональной активности белка [41]. Селекция ЦПВ-резистентного мутанта ЦМВ по гену *UL27* в процессе пассирования вируса в присутствии этого соединения свидетельствует о том, что потеря активности *pUL27* может компенсировать вызываемое ЦПВ нарушение киназной функции *pUL97*, как подробно описано на примере МБВ.

Существенным недостатком ЦПВ является то, что он не может использоваться в качестве универсального ингибитора штаммов ЦМВ, резистентных к базовым ЭХТП. Несмотря на то, что большинство ГЦВ-резистентных клинических изолятов сохраняет чувствительность к ЦПВ, установлен ряд мутаций в *pUL97*

(M460I, H520Q, C592G, C603R) и *pUL54* (M844T, E756K, A809V), связанных с резистентностью к ГЦВ, приводящих к кросс-резистентности к ЦПВ. Подобные мутанты формируются в процессе проведения терапии ГЦВ. В *pUL54* установлены также мутации, обуславливающие кросс-резистентность к ЦПВ и ФМК (T700A) и мультирезистентность к ГЦВ, ЦДВ, ФМК и ЦПВ (M844V) [42].

Завершено первое клинические плацебо-контролируемое исследование безопасности и фармакокинетических параметров ЦПВ при однократном пероральном приёме капсулированного препарата в дозах 35, 100, 350, 700, 1000 и 1350 мг здоровыми волонтерами (NCT01433835). Второе клиническое испытание этого соединения в рамках фазы I при пероральном приёме в дозах 100, 350, 750 и 1000 мг по схеме 1 раз в день в течение 7 дней здоровыми волонтерами (NCT02454699) было остановлено. Официальная информация о полученных результатах на сайте фирмы-разработчика («Microbiotix Inc.», США) отсутствует.

Ингибиторы функции сверххраненного белка IE2

Для репликации ДНК ЦМВ требуется целый ряд клеточных ферментов, синтез которых осуществляется только при вступлении клетки в пресинтетическую фазу G1 клеточного цикла. Стратегия вируса заключается в стимулировании перехода клетки-хозяина из состояния покоя (фаза G0) в фазу G1 с последующим блокированием вступления клетки в фазу синтеза ДНК (S), то есть сначала включается процесс подготовки клетки к синтезу ДНК, затем инициация репликации клеточной ДНК блокируется, а репликация вирусной ДНК поддерживается. Ведущая роль в реализации этой стратегии принадлежит сверххраненному белку ЦМВ человека IE2 (продукту гена *UL122*), который активирует клеточные гены циклина E, транскрипционных факторов, в том числе E2F-1 и NF-κB, регуляторных факторов клеточного цикла (p53, p21, Rb), ферментов тимидинкиназы, дигидрофолатредуктазы, рибонуклеотидредуктазы, тимидилаткиназы и др. белков, необходимых для репликации. Кроме того, IE2 регулирует активацию транскрипции ранних генов ЦМВ путём связывания с вирусной ДНК в участках промоторов [11, 43].

Недавно было показано, что соединение *WC5*, относящееся к классу 6-аминохинолинов (см. таблицу), ингибирует репродукцию ЦМВ человека, в том числе клинических изолятов и штаммов вируса, резистентных к ГЦВ, ФМК, ЦДВ (ИД₅₀ 1 мкМ, ХТИ 401), но существенно менее активно на моделях ВГЧ-6 и ВГЧ-8. В комбинации с ГЦВ действует синергидно [44]. Близкую анти-ЦМВ-активность проявили два аналога *WC5* – соединения 9 и 14 (см. таблицу, ИД₅₀ 1,2 и 1,1 мкМ, химиотерапевтический индекс (ХТИ) 305 и > 454, соответственно) [45].

Установлено, что *WC5* не мешает взаимодействию IE2 с ТАТА-связывающим белком и экспрессии стимулируемых IE2 клеточных генов, но влияет на способность IE2 регулировать деятельность чувствительных вирусных промоторов. Действительно, *WC5* блокирует IE2-зависимую отрицательную регуляцию активности промотора главного IE-гена (major immediate-early promoter – MIEP) ЦМВ, предотвращая связывание IE2 с элементом cis (cis-regression sequence), расположенным между блоком ТАТА и сайтом старта транскрипции. Кроме того, *WC5* снижает IE2-

зависимую трансактивацию промотора раннего гена *UL54*, а также ингибирует трансактивацию промотора раннего гена *E1* ЦМВ мышей белком IE3, гомологичным IE2. Можно заключить, что анти-ЦМВ активность *WC5* зависит от его способности специфически мешать IE2-зависимой регуляции вирусных промоторов. Приводимые результаты указывают на целесообразность дальнейшей доклинической оценки *WC5* на животных моделях [46].

Ингибиторы терминазы ЦМВ

В процессе репликации ДНК ЦМВ формирует σ-структуры, «хвостовая» часть которых представляет собой разветвлённые конкатемеры – множественные копии вирусного генома, которые подвергаются сайт-специфическому нарезанию и последующей упаковке полученных отдельных линейных двухнитевых геномов в капсиды [47]. Этот процесс осуществляется терминазным комплексом, состоящим из двух вирус-специфических белков – продуктов генов *UL56* и *UL89*. Большая субъединица терминазы *pUL56* обеспечивает сайт-специфическое связывание с конкатемером вирусной ДНК, а малая субъединица *pUL89* нарезает дуплексную ДНК. *pUL51* является третьим компонентом терминазного комплекса и необходим для нарезания конкатемерной ДНК, хотя механизм его действия до конца не ясен. По крайней мере ещё три вирусных белка вовлечены в этот процесс (продукты генов *UL52*, *UL77* и *UL93*). Кроме того, терминаза взаимодействует с вирусным порталным белком *pUL104*, направляя последовательное специфическое нарезание/укладку вирусного генома [48]. То, что белки, формирующие терминазный комплекс, высококонсервативны в семействе герпесвирусов и уникальны (не существует аналогичных клеточных белков), делает потенциально возможным создание малотоксичных антивирусных агентов – ингибиторов терминазного комплекса с широким спектром антигерпесвирусного действия.

Летермовир (ЛТВ, см. таблицу) относится к новому классу химических соединений – 3',4'-дигидрохинозолинам и является мощным селективным ингибитором репродукции ЦМВ человека с ХТИ > 15 000. Его ИД₅₀ по крайней мере, в 1000 раз меньше, чем у ГЦВ, и лежит в диапазоне 0,0008–0,0061 мкМ. Активность в отношении других герпесвирусов существенно ниже (ИД₅₀ для ВВЗ в 300 раз выше, для ЦМВ мышей – в 1600 раз выше) или не обнаруживается вовсе даже в присутствии ЛТВ в концентрации 10 мкМ (ВПГ-1, ВПГ-2, ВЭБ). Активность в отношении других патогенных для человека вирусов (вирус гриппа А, ВИЧ-1, вирус гепатита В, аденовирусы, флавивирусы) также не выявлена [49].

Определены специфические мутации в открытой рамке считывания гена *UL56*, опосредующие резистентность к ЛТВ, и полученные данные подтверждают, что большая субъединица терминазы ЦМВ человека (*pUL56*) является биомишенью этого соединения. ЛТВ взаимодействует с *pUL56* и ингибирует репродукцию ЦМВ, при этом не нарушается синтез дочерних вирусных ДНК и вирусных белков [50, 51]. Интересно, что резистентные к ЛТВ варианты вируса сохраняют чувствительность к другим ингибиторам терминазы – ВДСРВ (2-бром-5,6-дихлор-1-β-D-рибофуранозилбензимидазолу), GW275175X (2-бром-5,6-дихлор-1-β-D-рибопиранозил-1H-бенз-

имидазолу) и ВАУ 38-4766 (см. ниже). Возможно, это объясняется тем, что сайт связывания *pUL56* с ЛТВ отличается от сайта связывания других соединений с аналогичным механизмом действия [50].

Поскольку механизм действия ЛТВ не связан с протеинкиназой *pUL97* и ДНК-*pol* ЦМВ, это соединение сохраняет активность в отношении вариантов ЦМВ, резистентных к ГЦВ, включая клинические изоляты [49]. Показана эффективность ЛТВ при лечении пациентки, у которой после трансплантации лёгкого развилась мультирезистентная ЦМВИ, не отвечающая на терапию ГЦВ, ФМК и ЦДВ [52].

К настоящему времени завершены I и II фазы клинических испытаний ЛТВ. Установлено, что препарат хорошо переносится, не проявляет гематологической или нефротоксичности. Наиболее часто наблюдаемыми во время лечения ЛТВ побочными эффектами были диарея, тошнота и рвота – у 66% пациентов, в группе плацебо – 61%. У 24% пациентов, леченных ЛТВ, и у 30% пациентов, получавших плацебо, побочные явления в процессе лечения были ярко выраженными. Установлены некоторые фармакокинетические параметры препарата: T_{max} около 1,5 ч, $t_{1/2} = 10$ ч.

В исследовании фазы II (EudraCT Number: 2013-003831-31) 27 реципиентов почек, у которых фиксировалась активная репликация ЦМВ, получили 14-дневный пероральный курс ЛТВ (40 мг 2 раза в день или 80 мг 1 раз в день) или стандартный курс терапии ГЦВ. Во всех группах на фоне проведения терапии наблюдалось статистически значимое снижение вирусной нагрузки, при этом различия в уменьшении числа копий ДНК ЦМВ во всех 3-х группах не были статистически значимыми. Однако элиминация вируса достигнута у 6 (50%) из 12 пациентов, получавших ЛТВ, и лишь у 2 (28,6%) из 7 пациентов в группе, получавшей терапию по стандартному протоколу [53].

Как установлено в другом исследовании в рамках фазы II (NCT01063829), при оральном приёме ЛТВ с профилактической целью в дозах 60, 120 или 240 мг/день (однократное введение) в течение 84 дней в группе из 133 ЦМВ-серопозитивных пациентов, перенёвших трансплантацию костного мозга, частота развития ЦМВИ была значительно ниже, чем в группе, получающей плацебо (48, 32 и 29% против 64%). ЦМВ-антигены или вирусная ДНК в крови пациентов определялись также значительно реже: в 21, 19 или 6% случаев, соответственно, тогда как в группе плацебо – в 36% случаев. В группе исходно ЦМВ-негативных пациентов, получавших ЛТВ в дозе 240 мг, ЦМВ в крови не был обнаружен ни в одном случае [54]. От пациента, получавшего субоптимальную дозу ЛТВ (60 мг/день) изолирован вирус, резистентный к ЛТВ; обнаружена мутация в *pUL56* (V236M), ассоциированная с резистентностью [55].

В октябре 2016 г. завершена III фаза рандомизированных плацебо-контролируемых клинических испытаний ЛТВ (NCT02137772) с целью установления его безопасности и эффективности для предотвращения ЦМВИ у взрослых ЦМВ-серопозитивных реципиентов аллогенных (донорских) гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) при оральном приёме в течение 14 нед после трансплантации (240 мг 1 раз в день для пациентов, получающих циклоспорин А, и 480 мг 1 раз в день для пациентов, не получающих циклоспорин А) или в/в инфузии в группе пациен-

тов, не способных принимать таблетки. Введение препарата начинали в тот же день или не позднее 28 дней после трансплантации. Основным критерием эффективности была доля пациентов с развившейся ЦМВИ через 24 нед после трансплантации. В группе, получавшей ЛТВ, доля таких пациентов снизилась с 60,6% (группа плацебо) до 37,5%, смертность – с 15,9 до 9,8% [56].

Фармакокинетические и фармакодинамические параметры, высокая эффективность и безопасность (прежде всего отсутствие миелосупрессии), а также механизм действия (отсутствие перекрёстной резистентности с другими анти-ЦМВ ЭХТП) делают ЛТВ перспективным для использования с целью лечения и профилактики ЦМВИ у пациентов с ослабленным иммунитетом.

В 2012 г. «Merck Sharp & Dohme Corp.», США (через дочернюю компанию) приобрела права на разработку и коммерциализацию ЛТВ у «AiCuris GmbH & Co KG».

Установлены и изучаются и другие ингибиторы терминазы ЦМВ человека. Например, **ВАУ 38-4766** (см. таблицу), высокоселективный ингибитор ЦМВ человека. ИД₅₀ составляет 0,3 мкМ, ЦД₅₀ 93 мкМ, ХТИ 310. Соединение ингибирует репродукцию ЦМВ человека, включая ГЦВ-резистентные клинические изоляты, штаммы с двойной резистентностью к ГЦВ/ФМК и ГЦВ/ЦДВ, и ряд других ЦМВ обезьян и грызунов. Установлена хорошая переносимость ВАУ 38-4766: ЛД₅₀ для мышей BALB/c > 2000 мг/кг веса при оральном введении. На модели экспериментальной летальной ЦМВИ мышей показано, что противовирусная активность ВАУ 38-4766 хорошо сопоставима с ГЦВ при использовании в равных дозах 3, 10, 30 или 100 мг/кг и введении по схеме 2 раза в день в течение 8 дней, о чём судили по снижению смертности и титра вируса в слюнных железах, почках и печени.

Резистентные к ВАУ 38-4766 штаммы ЦМВ мышей и человека сохраняют чувствительность к нуклеозидным аналогам (ГЦВ и ЦДВ) и пиррофосфатному аналогу ФМК, что объясняется иным механизмом действия. Мутации, связанные с резистентностью к ВАУ 38-4766, локализованы в генах *UL89* и *UL104*, кодирующих малую субъединицу терминазы и портальный белок, вовлечённые в нарезание и упаковку вирусной ДНК [57, 58]. Вариант ЦМВ, резистентный к МБВ, сохраняет чувствительность к ВАУ 38-4766, что также указывает на различия механизмов действия этих соединений. Важно также отметить, что при комбинированном использовании ВАУ 38-4766 и ГЦВ наблюдается антагонистический характер взаимодействия, поэтому совместное использование этих препаратов нецелесообразно [37].

Заключение

ЦМВ является одной из ведущих причин заболеваемости и смертности у пациентов с ослабленным иммунитетом. Доступные на сегодняшний день ЭХТП имеют неблагоприятный профиль безопасности, характеризующийся тяжёлой, острой и долгосрочной токсичностью. Из-за низкой пероральной биодоступности некоторые ЭХТП вводят в/в, кроме того, их длительное введение сопряжено с высоким риском развития лекарственной (в том числе множественной) резистентности у ЦМВ, особенно на фоне иммунодефицита. Необходимость их использования в клинической практике обусловлена отсутствием альтернативных эффективных и безопасных анти-ЦМВ ЭХТП.

Понимание динамики развития ЦМВИ и идентификация всех основных вирусных белков позволили выявить новые биомишени для ЭХТП. Целый ряд перспективных соединений, активных в отношении ЦМВ, находятся на стадии доклинической оценки или даже клинических испытаний. Многие из них имеют биомишени, отличные от вирусной ДНК-*pol*. Их включение в арсенал анти-ЦМВ-ЭХТП предоставит новые варианты лечения ЦМВИ, особенно необходимые в случаях инфекций, не отвечающих на современную стандартную химиотерапию, в том числе из-за развития лекарственной резистентности у ЦМВ к современным ЭХТП. Сочетанное применение новых и традиционных ЭХТП с перекрывающимися механизмами действия, направленными на различные биомишени, позволит значительно повысить эффективность проводимых терапевтических мероприятий у больных с ЦМВИ, и представляет собой многообещающую стратегию для снижения вероятности появления и распространения лекарственно-устойчивых вирусов и предотвращения реактивации вируса из латентного состояния.

Механизм действия ЛТВ, фармакокинетический и фармакодинамический профили, а также высокая эффективность и безопасность, установленные в ходе клинических испытаний, делают его наиболее перспективным препаратом для создания анти-ЦМВ-ЭХТП как профилактического, так и лечебного назначения, в том числе у пациентов с ослабленным иммунитетом. Отсутствие перекрестной резистентности к другим противовирусным ЭХТП и миелосупрессии являются двумя большими преимуществами ЛТВ перед современными ЭХТП, которые могут обеспечить его широкое использование в дальнейшем. В то же время узкий спектр действия ЛТВ (отсутствие активности против других герпесвирусов, которые обычно реактивируются в условиях иммунодефицита наравне с ЦМВ) – основной недостаток этого агента. Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (Food and Drug Administration, FDA) присвоило ЛТВ статус *Fast Track*, а Европейское агентство лекарственных средств (European Medicines Agency, EMEA) – статус орфанного препарата, способствующие ускоренной разработке и утверждению проходящих клинические исследования препаратов.

Важно, что применение доступных в настоящее время коммерческих анти-ЦМВ-ЭХТП у беременных разрешено только в особо тяжёлых случаях из-за имеющегося риска для плода. Ни один из ЭХТП не одобрен для лечения врождённой ЦМВИ [59]. Учитывая высокий риск внутриутробного инфицирования плода при первичной ЦМВИ у беременной женщины, сопряжённого с различными патологиями течения беременности и с развитием тяжёлых осложнений у новорождённого, создание безвредных и эффективных ЭХТП представляется одной из приоритетных задач. *Ex vivo* получены предварительные данные, позволяющие надеяться, что применение МБВ позволит снизить вероятность трансплацентарного инфицирования плода и развития внутриутробной ЦМВИ [60]. Однако необходимы дальнейшие исследования для оценки эффективности и безопасности МБВ для матери и плода.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА (п.п. 1-4, 6, 9-60 см. REFERENCES)

5. Лечение и помощь при ВИЧ/СПИДе. Клинические протоколы для Европейского региона ВОЗ. Available at: http://www.euro.who.int/__data/assets/pdf_file/0018/78111/E90840R.pdf?ua=1
7. Микроцефалия. Информационный бюллетень ВОЗ. Available at: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/microcephaly/ru/>
8. Кочкина С.С., Ситникова Е.П. Особенности цитомегаловирусной инфекции: обзор литературы. *Доктор.Ру*. 2016; (6): 62-7.

REFERENCES

1. Reeves M., Sinclair J. Aspects of human cytomegalovirus latency and reactivation. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 2008; 325: 297-313. PMID: 18637513
2. Cannon M.J., Schmid D.S., Hyde T.B. Review of cytomegalovirus seroprevalence and demographic characteristics associated with infection. *Rev. Med. Virol.* 2010; 20(4): 202-13. PMID: 20564615 DOI:10.1002/rmv.655
3. Thorne J.E., Jabs D.A., Kempen J.H., Holbrook J.T., Nichols C., Meinert C.L., et al. Incidence of and risk factors for visual acuity loss among patients with AIDS and cytomegalovirus retinitis in the era of highly active antiretroviral therapy. *Ophthalmology.* 2006; 113(8): 1432-40. PMID: 16766032 DOI: 10.1016/j.ophtha.2006.03.021
4. Sinzger C., Digel M., Jahn G. Cytomegalovirus cell tropism. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 2008; 325: 63-83. PMID: 18637500
5. HIV/AIDS treatment and care. Clinical protocols for the WHO European Region. Available at: http://www.euro.who.int/__data/assets/pdf_file/0004/78106/E90840.pdf?ua=1
6. Lanzieri T.M., Dollard S.C., Bialek S.R., Grosse S.D. Systematic review of the birth prevalence of congenital cytomegalovirus infection in developing countries. *Int. J. Infect. Dis.* 2014; 22: 44-8. PMID: 24631522 PMID: PMC4829484 DOI: 10.1016/j.ijid.2013.12.010
7. Microcephaly. Fact sheet of WHO. Available at: <http://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/microcephaly>
8. Kochkina S.S., Sitnikova E.P. Specific features of cytomegalovirus infection: literature review. *Doktor.Ru*. 2016; (6): 62-7. (in Russian)
9. Jean Beltran P.M., Cristea I.M. The life cycle and pathogenesis of human cytomegalovirus infection: lessons from proteomics. *Expert. Rev. Proteomics.* 2014; 11(6): 697-711. PMID: 25327590 PMID: PMC4604749 DOI: 10.1586/14789450.2014.971116
10. Kalejta R.F. Functions of human cytomegalovirus tegument proteins prior to immediate early gene expression. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 2008; 325: 101-15. PMID: 18637502
11. Stinski M.F., Petrik D.T. Functional roles of the human cytomegalovirus essential IE86 protein. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 2008; 325: 133-52. PMID: 18637504
12. Winkler M., Rice S.A., Stamminger T. UL69 of human cytomegalovirus, an open reading frame with homology to ICP27 of herpes simplex virus, encodes a transactivator of gene expression. *J. Virol.* 1994; 68(6): 3943-54. PMID: 8189530 PMID: PMC236900
13. Alwine J.C. The human cytomegalovirus assembly compartment: a masterpiece of viral manipulation of cellular processes that facilitates assembly and egress. *PLoS Pathog.* 2012; 8(9): e1002878. PMID: 23028305 PMID: PMC3447744 DOI:10.1371/journal.ppat.1002878
14. Das S., Pellett P.E. Spatial relationships between markers for secretory and endosomal machinery in human cytomegalovirus-infected cells versus those in uninfected cells. *J. Virol.* 2011; 85(12): 5864-79. PMID: 21471245 PMID: PMC3126327 DOI: 10.1128/JVI.00155-11
15. Schnute M.E., Cudahy M.M., Brideau R.J., Homa F.L., Hopkins T.A., Knechtel M.L., et al. 4-Oxo-4,7-dihydrothieno[2,3-b]pyridines as non-nucleoside inhibitors of human cyto-megalovirus and related herpesvirus polymerases. *J. Med. Chem.* 2005; 48(18): 5794-804. PMID: 16134946 DOI: 10.1021/jm050162b
16. Thomsen D.R., Oien N.L., Hopkins T.A., Knechtel M.L., Brideau

- R.J., Wathen M.W., et al. Amino acid changes within conserved region III of the herpes simplex virus and human cytomegalovirus DNA polymerases confer resistance to 4-oxo-dihydroquinolines, a novel class of herpesvirus antiviral agents. *J. Virol.* 2003; 77(3): 1868-76. PMID: 12525621 PMCID: PMC140985
17. Michel D., Mertens T. The UL97 protein kinase of human cytomegalovirus and homologues in other herpesviruses: impact on virus and host. *Biochim. Biophys. Acta.* 2004; 1697(1-2): 169-80. PMID: 15023359 DOI: 10.1016/j.bbapap.2003.11.022
 18. Smith-Donald B.A., Durand L.O., Roizman B. Role of cellular phosphatase cdc25C in herpes simplex virus 1 replication. *J. Virol.* 2008; 82(9): 4527-32. PMID: 18272575 PMCID: PMC2293048 DOI: 10.1128/JVI.02021-07
 19. Gershburg E., Pagano J.S. Phosphorylation of the Epstein-Barr virus (EBV) DNA polymerase processivity factor EA-D by the EBV-encoded protein kinase and effects of the L-riboside benzimidazole 1263W94. *J. Virol.* 2002; 76(3): 998-1003. PMID: 11773375 PMCID: PMC135851
 20. Krosky P.M., Baek M.C., Jahng W.J., Barrera I., Harvey R.J., Biron K.K., et al. The human cytomegalovirus UL44 protein is a substrate for the UL97 protein kinase. *J. Virol.* 2003; 77(14): 7720-7. PMID: 12829811 PMCID: PMC161957
 21. Kawaguchi Y., Matsumura T., Roizman B., Hirai K. Cellular elongation factor 1delta is modified in cells infected with representative alpha-, beta-, or gammaherpesviruses. *J. Virol.* 1999; 73(5): 4456-60. PMID: 10196346 PMCID: PMC104232
 22. Baek M.C., Krosky P.M., Pearson A., Coen D.M. Phosphorylation of the RNA polymerase II carboxyl-terminal domain in human cytomegalovirus-infected cells and in vitro by the viral UL97 protein kinase. *Virology.* 2004; 324(1): 184-93. PMID: 15183065 DOI: 10.1016/j.virol.2004.03.015
 23. Prichard M.N. Function of human cytomegalovirus UL97 kinase in viral infection and its inhibition by maribavir. *Rev. Med. Virol.* 2009; 19(4): 215-29. PMID: 19434630 PMCID: PMC3777615 DOI: 10.1002/rmv.615
 24. Sharma M., Bender B.J., Kamil J.P., Lye M.F., Pesola J.M., Reim N.I., et al. Human cytomegalovirus UL97 phosphorylates the viral nuclear egress complex. *J. Virol.* 2015; 89(1): 523-34. PMID: 25339763 PMCID: PMC4301116 DOI: 10.1128/JVI.02426-14
 25. Chou S., Ercolani R.J., Marousek G., Bowlin T.L. Cytomegalovirus UL97 kinase catalytic domain mutations that confer multidrug resistance. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2013; 57(7): 3375-9. PMID: 23650173 PMCID: PMC3697320 DOI: 10.1128/AAC.00511-13
 26. Chou S. Cytomegalovirus UL97 mutations in the era of ganciclovir and maribavir. *Rev. Med. Virol.* 2008; 18(4): 233-46. PMID: 18383425 DOI: 10.1002/rmv.574
 27. Chou S. Diverse cytomegalovirus UL27 mutations adapt to loss of viral UL97 kinase activity under maribavir. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2009; 53(1): 81-5. PMID: 18981262 PMCID: PMC2612169 DOI: 10.1128/AAC.01177-08
 28. Reitsma J.M., Savaryn J.P., Faust K., Sato H., Halligan B.D., Terhune S.S. Antiviral inhibition targeting the HCMV kinase pUL97 requires pUL27-dependent degradation of Tip60 acetyltransferase and cell-cycle arrest. *Cell. Host Microbe.* 2011; 9(2): 103-14. PMID: 21320693 DOI: 10.1016/j.chom.2011.01.006
 29. Prichard M.N., Sztul E., Daily S.L., Perry A.L., Frederick S.L., Gill R.B., et al. Human cytomegalovirus UL97 kinase activity is required for the hyperphosphorylation of retinoblastoma protein and inhibits the formation of nuclear aggregates. *J. Virol.* 2008; 82(10): 5054-67. PMID: 18321963 PMCID: PMC2346732 DOI: 10.1128/JVI.02174-07
 30. Purves F.C., Roizman B. The UL13 gene of herpes simplex virus 1 encodes the functions for posttranslational processing associated with phosphorylation of the regulatory protein alpha 22. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1992; 89(16): 7310-4. PMID: 1323829 PMCID: PMC49699
 31. Lalezari J.P., Aberg J.A., Wang L.H., Wire M.B., Miner R., Snowden W., et al. Phase I dose escalation trial evaluating the pharmacokinetics, anti-human cytomegalovirus (HCMV) activity, and safety of 1263W94 in human immunodeficiency virus-infected men with asymptomatic HCMV shedding. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2002; 46(9): 2969-76. PMID: 12183255 PMCID: PMC127448
 32. Ma J.D., Nafziger A.N., Villano S.A., Gaedigk A., Bertino J.S., Maribavir pharmacokinetics and the effects of multiple-dose maribavir on cytochrome P450 (CYP) 1A2, CYP 2C9, CYP 2C19, CYP 2D6, CYP 3A, N-acetyltransferase-2, and xanthine oxidase activities in healthy adults. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2006; 50(4): 1130-5. PMID: 16569820 PMCID: PMC1426970 DOI: 10.1128/AAC.50.4.1130-1135.2006
 33. Marty F.M., Ljungman P., Papanicolaou G.A., Winston D.J., Chemaly R.F., Strasfeld L., et al. Maribavir prophylaxis for prevention of cytomegalovirus disease in recipients of allogeneic stem-cell transplants: a phase 3, double-blind, placebo-controlled, randomized trial. *Lancet Infect. Dis.* 2011; 11(4): 284-92. PMID: 21414843 DOI: 10.1016/S1473-3099(11)70024-X
 34. Winston D.J., Saliba F., Blumberg E., Abouljoud M., Garcia-Diaz J.B., Goss J.A., et al. Efficacy and safety of maribavir dosed at 100 mg orally twice daily for the prevention of cytomegalovirus disease in liver transplant recipients: a randomized, double-blind, multicenter controlled trial. *Am. J. Transplant.* 2012; 12(11): 3021-30. PMID: 22947426 DOI: 10.1111/j.1600-6143.2012.04231.x
 35. Alain S., Revest M., Veyer D., Essig M., Rerolles J.P., Rawlinson W., et al. Maribavir use in practice for cytomegalovirus infection in French transplantation centers. *Transplant. Proc.* 2013; 45(4): 1603-7. PMID: 23726629 DOI: 10.1016/j.transproceed.2013.01.082
 36. Schubert A., Ehler K., Schuler-Luettmann S., Gentner E., Mertens T., Michel D. Fast selection of maribavir resistant cytomegalovirus in a bone marrow transplant recipient. *BMC Infect. Dis.* 2013; 13: 330. PMID: 23870704 PMCID: PMC3720178 DOI: 10.1186/1471-2334-13-330
 37. Evers D.L., Komazin G., Shin D., Hwang D.D., Townsend L.B., Drach J.C. Interactions among antiviral drugs acting late in the replication cycle of human cytomegalovirus. *Antiviral. Res.* 2002; 56(1): 61-72. PMID: 12323400
 38. Kern E.R., Kushner N.L., Hartline C.B., Williams-Aziz S.L., Harden E.A., Zhou S., et al. In vitro activity and mechanism of action of methylenecyclopropane analogs of nucleosides against herpesvirus replication. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2005; 49(3): 1039-45. PMID: 15728900 PMCID: PMC549243 DOI: 10.1128/AAC.49.3.1039-1045.2005
 39. Kern E.R., Bidanset D.J., Hartline C.B., Yan Z., Zemlicka J., Quenelle D.C. Oral activity of a methylenecyclopropane analog, cyclopropavir, in animal models for cytomegalovirus infections. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2004; 48(12): 4745-53. PMID: 15561852 PMCID: PMC529216 DOI: 10.1128/AAC.48.12.4745-4753.2004
 40. Gentry B.G., Gentry S.N., Jackson T.L., Zemlicka J., Drach J.C. Phosphorylation of antiviral and endogenous nucleotides to di- and triphosphates by guanosine monophosphate kinase. *Biochem. Pharmacol.* 2011; 819(1): 43-9. PMID: 20846508 DOI: 10.1016/j.bcp.2010.09.005
 41. Hakki M., Drummond C., Houser B., Marousek G., Chou S. Resistance to maribavir is associated with the exclusion of pUL27 from nucleoli during human cytomegalovirus infection. *Antiviral. Res.* 2011; 92(2): 313-8. PMID: 21906628 PMCID: PMC3232008 DOI: 10.1016/j.antiviral.2011.08.019
 42. Chou S., Komazin-Meredith G., Williams J.D., Bowlin T.L. Cytomegalovirus mutants resistant to ganciclovir and cidofovir differ in susceptibilities to synguanol and its 6-ether and 6-thioether derivatives. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2014; 58(3): 1809-12. PMID: 24379208 PMCID: PMC3957852 DOI: 10.1128/AAC.02544-13
 43. Song Y.J., Stinski M.F. Effect of the human cytomegalovirus IE86 protein on expression of E2F-responsive genes: a DNA microarray analysis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2002; 99(5): 2836-41. DOI: 10.1073/pnas.052010099; PMID 11867723; PMCID PMC122434
 44. Loregian A., Mercorelli B., Muratore G., Sinigaglia E., Pagni S., Masari S., et al. The 6-aminoquinolone WC5 inhibits human cytomegalovirus replication at an early stage by interfering with the transactivating activity of viral immediate-early 2 protein. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2010; 54(5): 1930-40. PMID: 20194695 PMCID: PMC2863603 DOI: 10.1128/AAC.01730-09.

45. Massari S., Mercorelli B., Sancineto L., Sabatini S., Cecchetti V., Gribaudo G., et al. Design, synthesis, and evaluation of WC5 analogues as inhibitors of human cytomegalovirus Immediate-Early 2 protein, a promising target for anti-HCMV treatment. *Chem. Med. Chem.* 2013; 8(8): 1403-14. PMID: 23757191 DOI: 10.1002/cmde.201300106
46. Mercorelli B., Lugini A., Muratore G., Massari S., Terlizzi M.E., Tabarrini O., et al. The 6-Aminoquinolone WC5 inhibits different functions of the immediate-early 2 (IE2) protein of human cytomegalovirus that are essential for viral replication. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2014; 58(11): 6615-26. DOI: 10.1128/AAC.03309-14. PMID: 25155603 PMCID: PMC4249379
47. Tandon R., Mocarski E.S. Viral and host control of cytomegalovirus maturation. *Trends Microbiol.* 2012; 20(8): 392-401. PMID: 22633075 PMCID: PMC3408842 DOI: 10.1016/j.tim.2012.04.008
48. Neuber S., Wagner K., Goldner T., Lischka P., Steinbrueck L., Messerle M., et al. Mutual interplay between the cytomegalovirus terminase subunits pUL51, pUL56 and pUL89 promotes terminase complex formation. *J. Virol.* 2017; 91(12): e02384-16. PMID: 28356534 PMCID: PMC5446633 DOI: 10.1128/JVI.02384-16
49. Marschall M., Stamminger T., Urban A., Wildum S., Ruebsamen-Schaeff H., Zimmermann H., et al. In Vitro Evaluation of the Activities of the Novel Anticytomegalovirus Compound AIC246 (Letermovir) against Herpesviruses and Other Human Pathogenic Viruses. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2012; 56(2): 1135-7. PMID: 22106211 PMCID: PMC3264222 DOI: 10.1128/AAC.05908-11
50. Goldner T., Hewlett G., Ettischer N., Ruebsamen-Schaeff H., Zimmermann H., Lischka P. The Novel Anticytomegalovirus Compound AIC246 (Letermovir) Inhibits Human Cytomegalovirus Replication through a Specific Antiviral Mechanism That Involves the Viral Terminase. *J. Virol.* 2011; 85(20): 10884-93. PMID: 21752907 PMCID: PMC3187483 DOI: 10.1128/JVI.05265-11
51. Goldner T., Zimmermann H., Lischka P. Phenotypic characterization of two naturally occurring human Cytomegalovirus sequence polymorphisms located in a distinct region of ORF UL56 known to be involved in in vitro resistance to letermovir. *Antiviral. Res.* 2015; 116: 48-50. PMID: 25637709 DOI: 10.1016/j.antiviral.2015.01.006
52. Kaul D.R., Stoelben S., Cober E., Ojo T., Sandusky E., Lischka P., et al. First report to successful treatment of multidrug-resistant cytomegalovirus disease with the novel anti-CMV compound AIC246. *Am. J. Transplant.* 2011; 11(5): 1079-84. PMID: 21521474 DOI: 10.1111/j.1600-6143.2011.03530.x
53. Stoelben S., Arns W., Renders L., Hummel J., Mühlfeld A., Stangl M., et al. Preemptive treatment of Cytomegalovirus infection in kidney transplant recipients with letermovir: results of a Phase 2a study. *Transpl. Int.* 2014; 27(1): 77-86. PMID: 24164420 DOI: 10.1111/tri.12225
54. Chemaly R.F., Ullmann A.J., Stoelben S., Richard M.P., Bornhäuser M., Groth C., et al. Letermovir for Cytomegalovirus Prophylaxis in Hematopoietic-Cell Transplantation. *N. Engl. J. Med.* 2014; 370(19): 1781-9. PMID: 24806159 DOI: 10.1056/NEJMoa1309533
55. Lischka P., Michel D., Zimmermann H. Characterization of Cytomegalovirus Breakthrough Events in a Phase 2 Prophylaxis Trial of Letermovir (AIC246, MK 8228). *J. Infect. Dis.* 2016; 213(1): 23-30. PMID: 26113373 DOI: 10.1093/infdis/jiv352
56. Merck's Letermovir, an investigational antiviral medicine for prevention of cytomegalovirus (CMV) infection in bone marrow transplant recipients, highly effective though week 24 post-transplant in pivotal phase 3 study. Available at: <http://www.mrknewsroom.com/news-release/research-and-development-news/mercks-letermovir-investigational-antiviral-medicine-prev>
57. McSharry J.J., McDonough A., Olson B., Hallenberger S., Reefschaeger J., Bender W., et al. Susceptibilities of human cytomegalovirus clinical isolates to BAY38-4766, BAY43-9695, and ganciclovir. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2001; 45(10): 2925-7. PMID: 11557492 PMCID: PMC90754 DOI: 10.1128/AAC.45.10.2925-2927.2001
58. Reefschaeger J., Bender W., Hallenberger S., Weber O., Eckenberg P., Goldmann S., et al. Novel non-nucleoside inhibitors of cytomegaloviruses (BAY 38-4766): in vitro and in vivo antiviral activity and mechanism of action. *J. Antimicrob. Chemother.* 2001; 48(6): 757-67. PMID: 11733458
59. Manicklal S., Emery V.C., Lazzarotto T., Boppana S.B., Gupta R.K. The "silent" global burden of congenital cytomegalovirus. *Clin. Microbiol. Rev.* 2013; 26(1): 86-102. PMID: 23297260 PMCID: PMC3553672 DOI: 10.1128/CMR.00062-12
60. Morère L., Andouard D., Labrousse F., Saade F., Calliste C.A., Cotin S., et al. Ex vivo model of congenital cytomegalovirus infection and new combination therapies. *Placenta.* 2015; 36(1): 41-7. PMID: 25479789 DOI: 10.1016/j.placenta.2014.11.003