

Вивчення особливостей змішаного інфікування лімфоцитів вірусом імунодефіциту людини та деякими ДНК-геномними лімфотропними вірусами, що можуть бути асоційовані зі СНІДом

Н. С. Дяченко, С. Л. Рибалко¹, Т. Ф. Грицак¹, К. В. Максименок¹, С. Т. Дядюн¹,
О. Ю. Повниця, Н. В. Нестерова, В. М. Береговенко, Ю. В. Пацковський²

Інститут мікробіології та вірусології ім. Д. К. Заболотного НАН України
252143, Київ, вул. Академіка Заболотного, 154

¹ Київський науково-дослідний інститут епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л. В. Громашевського МОЗ України
252038, Київ, узвіз Протасів яр, 4

² Інститут молекулярної біології і генетики НАН України
252143, Київ, вул. Академіка Заболотного, 150

Вперше створено модель змішаної інфекції лімфобластоїдних клітин Т-фенотипу із залученням ВІЛ та окремих ДНК-геномних вірусів, які можуть бути асоційовані зі СНІДом (вірус Епштейна-Барр, ВЕБ, з родини герпесвірусів та аденовірус людини 2-го типу, Ад). Вивчено деякі прояви змішаної інфекції. Так, суперінфікування Ад, ВЕБ чи обома вірусами клітин МТ4/ВІІІ ЛБК, що хронічно інфіковані та продукують ВІЛ, призводить до зниження експресії р24 ВІЛ та гексону Ад. Подібний процес, але менш виражений, відбувається при одночасній гострій змішаній інфекції чутливих до ВІЛ клітин МТ4. Значне зниження утворення інфекційного ВІЛ, синтезу гексону Ад та капсидних білків ВЕБ спостерігається при різних варіантах послідовного подвійного чи потрійного інфікування клітин МТ4, причому репродукція ВІЛ більше гальмується в умовах потрійної інфекції. Активність зворотної транскриптази, яку можна розглядати як ВІЛ-специфічну, знижується в разі суперінфікування Ад і ВЕБ чи тільки ВЕБ клітин МТ4/ВІІІ ЛБК, хоч суперінфікування тільки Ад цих продукуючих ВІЛ клітин призводить до підвищення рівня активності ферменту. Виявлено різке зниження продукції інтерферону при потрійному інфікуванні лімфоцитів з периферійної крові ВІЛ-інфікованих та клітин МТ4, проте останні зберігають здатність синтезувати інтерферон під впливом деяких бактеріальних глікопротеїдів. Отже, потрійна чи подвійна інфекція лімфобластоїдних клітин Т-фенотипу (МТ4) із залученням ВІЛ, Ад та ВЕБ характеризується взаємною інтерференцією вірусів, про що свідчить зниження синтезу інфекційного ВІЛ, в деяких випадках експресії р24 ВІЛ, рівнів зворотної транскриптази, утворення капсидних білків Ад та ВЕБ, що є пізньою функцією геномів цих вірусів. Проте вираженість гальмівного впливу вірусів неоднакова в різних досліджених системах змішаної інфекції, а в деяких з них спостерігається підвищення рівнів зворотної транскриптази. Одержані матеріали важливі, на нашу думку, для розуміння механізмів ВІЛ-інфекції, особливо в сучасних умовах значної циркуляції латентних лімфотропних вірусів.

Вступ. Проблема вірусних асоційованих інфекцій на рівні організму і клітини надзвичайно важлива, оскільки взаємодія між вірусами може розвиватися

за типом гальмування (інтерференція) чи взаємного посилення репродукції (комплементація); іноді віруси-учасники репродукуються незалежно. Проблема ця особливо важлива в тому випадку, коли одним з асоціатів є вірус імунодефіциту людини (ВІЛ), бо відомо, що істотний внесок у розвиток клінічного симптомокомплексу СНІДу

© Н. С. ДЯЧЕНКО, С. Л. РИБАЛКО, Т. Ф. ГРИЦАК,
К. В. МАКСИМЕНКО, С. Т. ДЯДЮН, О. Ю. ПОВНИЦЯ,
Н. В. НЕСТЕРОВА, В. М. БЕРЕГОВЕНКО,
Ю. В. ПАЦКОВСЬКИЙ, 1997

вносять вірусні, бактеріальні та інші інфекції. Найвивченішими як СНІД-асоційовані є віруси цитомегалії і герпесу звичайного [1—6]. У літературі відомості щодо представника родини герпесвірусів, зокрема, вірусу Епштейна-Барр (ВЕБ) досить обмежені [7—9]. Показано неоднозначну взаємодію ВІЛ та аденовірусів (Ад) на рівні організму. Встановлено, що супутня аденовірусна інфекція у ВІЛ-інфікованих пацієнтів ускладнює або подовжує клінічний перебіг основного захворювання [10]. Є дані стосовно безпосереднього впливу продуктів ранніх генів (ділянка E1a) геному Ад на експресію ВІЛ у лімфоїдних клітинах [2, 12].

Матеріали та методи. Культури клітин. Було використано наступні культури клітин: В95-8—лейкоцити мавп мармазеток, які трансформовані вірусом Епштейна-Барр та продукують його; МТ4 — Т-лімфоцити людини, вільні від ВІЛ та чутливі до нього; МТ4/ВІІ ЛБК — Т-лімфоцити людини, що хронічно інфіковані вірусом імунодефіциту людини 1-го типу та продукують його. Всі лінії одержано з банку культур клітин Інституту вірусології РАНН (Москва). Ростовє середовище містило 90 % середовища RPMI 1640 («Flow Laboratories», США, чи НПО «Вектор», Росія) та 10 % ембріональної сироватки телят («Gibco», США).

Віруси. Джерелом ВІЛ було культуральне середовище клітин МТ4/ВІІ ЛБК. Попередньо було визначено, що інфікованість цих клітин досягала практично 100 %, за даними непрямої імунофлуоресценції з моноклональними антитілами до антигена p24 ВІЛ-1. Тотожність вірусу, що продукується клітинами МТ4/ВІІ ЛБК, з ВІЛ-1 було підтверджено в реакції нейтралізації. Для визначення титру інфекційності ВІЛ у продукуючій культурі клітин чи інших досліджуваних матеріалах готували 10-кратні розведення культурального середовища або лізату клітин та інфікували ними суспензійну культуру клітин МТ4. Досліди здійснювали в планшетах для культур клітин («Nunc», Данія) при 37 °С в атмосфері 5 % CO₂. Тестування проводили на 5-ту добу і визначали рівень p24 ВІЛ у кожному розведенні вірусмісного матеріалу за допомогою ІФА та тест-системи «HIV Ad Monoclonal» фірми «Abbott» (США). Інфекційний титр ВІЛ у продукуючій його культурі клітин МТ4/ВІІ ЛБК складав 8 Іg ІD₅₀/мл. Для моделювання різних варіантів змішаної інфекції ВІЛ використовували в розведенні, що містить 100 ІD₅₀ на пробу.

Вірус Епштейна-Барр (ВЕБ) отримували в результаті 10-добового вирощування клітин В95-8 в ростовому середовищі. Для відтворення змішаної інфекції двох ліній клітин МТ4 використовували цей культуральний вірус після термолізису клітин

та осадження детриту в розведенні 1/10, об'єм інюкуляту складав звичайно 0,1 мл на пробу. В ІФА було використано моноклональні антитіла до ЕBSK2, клон Мо AbSK1. У разі використання ВЕБ як антигена для отримання специфічної антисироватки культуральний вірус, одержаний в результаті термолізису клітин, очищали методом швидкісного центрифугування при 24 000 об/хв і зберігали при -60 °С до використання.

Використовували еталонний штаб аденовірусу людини 2-типу (Ад2), отриманий нами з колекції Інституту мікробіології Будапештського медичного університету ім. Зоммелвейса. Умови культивування Ад2, його очистка в градієнті густини хлористого цезію викладені нами раніше [12]. Титрування інфекційності Ад2 здійснювали в чутливій культурі клітин Нер-2. В умовах змішаної інфекції множинність інфікування Ад2 складала 16 вірусоутворюючих одиниць (ВУО) на клітину. Попередньо нами було встановлено здатність Ад2 репродукуватися в клітинах МТ4 з досить високою інтенсивністю.

Антитіла та білки. Використовували сироватки, специфічні до гексонів Ад1 та Ад2, очищеного в градієнті густини хлористого цезію вірусу Ад2 та до вірусу Епштейна-Барр, які отримували імунізацією кролів сумішшю рівних частин очищених білків чи вірусів і повного ад'юванта Фрейнда фірми «Difco» (США). Очищені препарати гексонів отримували методом гідрофобної та іонообмінної хроматографії на колонках з бутіл-тойоперлом 650М та ДЕАЕ-трисакрилом виробництва фірм «Toyo Soda» (Японія) та «Pharmacia» (Швеція). Використовували моноклональні антитіла до гексону Ад1 та моноклональні антитіла до поверхневих антигенів вірусу Епштейна-Барр. Використовували також антивидові антитіла проти ІgG кроля, мічені пероксидазою хрому, виробництва НДІ епідеміології та мікробіології ім. Гамалеї (Росія).

Імуно-ферментний аналіз. Антиген p24 ВІЛ-1 у культуральному середовищі визначали з використанням тест-системи «HIV Ad Monoclonal EIA» фірми «Abbott».

Для виявлення гексону аденовірусів застосовували метод подвійних антитіл [13]. Плашки «Linbro» сенсibiliзували моноклональними антитілами до гексону, потім інкубували з досліджуваними лізатами інфікованих клітин. Як джерело індикаторних антитіл використовували кролячу сироватку до очищеного Ад 1-го типу. Комплекс антиген — антитіло визначали антитілами до ІgG кроля, міченими пероксидазою хрому. Результати вимірювали на фотометрі MR700 («Dynatech», Швеція) при довжині хвилі 492 нм.

Антигени вірусу Епштейна-Барр визначали методом прямого ІФА [14] з моноклональними антитілами EBSK2, клон Мо AbSK1, чи гіперімунною антивіріонною сироваткою до повернених антигенів.

Рівень активності зворотної транскриптази вивчали за методом [15].

Рівень інтерферону визначали по запобіганню цитопатогенного ефекту, спричинюваного вірусом везикулярного стоматиту. Інтерферонвмісне середовище вносили до культури клітин та додавали в кожен зразок по 100 ЦПД₅₀ вірусу везикулярного стоматиту. Враховували реакцію при повній дегенерації клітин у контролі за найбільшим розведенням інтерферонвмісного середовища, в якому залишалося біля 50 % моношару клітин. Активність загального рівня ІФ виражали в міжнародних одиницях активності, використавши референс-препарат ІФ.

Результати та обговорення. Представлена праця започатковує цикл робіт, присвячених вивченню змішаної інфекції лімфобластодних клітин вірусом імунодефіциту людини та ДНК-геномними вірусами з реальними чи потенційними лімфотропними властивостями, що можуть бути асоційовані зі СНІДом. Моделювали змішану інфекцію ВІЛ — ВЕБ, ВІЛ — Ад та ВІЛ — ВЕБ — Ад в двох лініях чутливих до ВІЛ лімфобластодних клітин МТ4, причому одна з них (МТ4/ВІІ) хронічно інфікована ВІЛ та продукує його. В разі клітин МТ4, вільних від ВІЛ, гостра змішана інфекція відтворювалася при одночасному чи послідовному інфікуванні вказаними вірусами.

Досліджували деякі прояви змішаної інфекції, зокрема, рівні інфекційності ВІЛ, експресію *p24* ВІЛ, капсидного білка (гексону) Ад, капсидних білків ВЕБ, рівні активності зворотної транскриптази та інтерферону. Слід відмітити, що синтез гексону Ад та капсидних білків ВЕБ є пізньою функцією геномів цих вірусів, а тому на підставі зміни їх рівнів правомірно судити про зміну репродуктивної активності відповідних вірусів.

При моделюванні змішаної інфекції ВІЛ — ВЕБ, ВІЛ — Ад та ВІЛ — ВЕБ — Ад клітин МТ4/ВІІ і одночасному внесенні Ад та ВЕБ в останньому варіанті встановлено зниження експресії *p24* ВІЛ. Найбільше воно виявлене при суперінфікуванні клітин лише Ад, найменше — при внесенні суміші Ад — ВЕБ (рис. 1). В умовах гострої ВІЛ-інфекції клітин МТ4 рівні *p24* значно нижчі навіть на п'яту добу культивування. Гальмівний вплив одночасного змішаного інфікування на експресію *p24* ВІЛ у цих клітинах дещо менший, він помітніший у випадку подвійної інфекції

ВІЛ — Ад та потрійної інфекції ВІЛ — Ад — ВЕБ. Спостерігається деяке підвищення інфекційної активності ВІЛ в умовах ВІЛ — Ад-інфікування клітин МТ4. Показано, що експресія гексону Ад значно знижується в умовах подвійного ВІЛ — Ад чи потрійного ВІЛ — Ад — ВЕБ-інфікування в обох досліджених лініях клітин (рис. 2).

Таким чином, в серії дослідів з вивчення особливостей змішаної інфекції при одночасному інфікуванні клітин МТ4 ВІЛ, ВЕБ та Ад або при

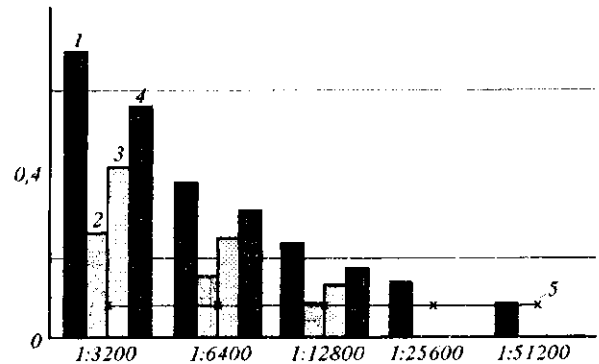


Рис. 1. Рівень експресії антигена *p24* ВІЛ-1 в клітинах МТ4/ВІІ, суперінфікованих аденовірусом та вірусом Епштейна-Барр. Імуноферментний аналіз (тест-система «HIV Ag Monoclonal» фірми «Abbott»). По осі *x* — розведення матеріалу; *y* — оптична густина. Варіанти інфікування: 1 — ВІЛ; 2 — ВІЛ — Ад; 3 — ВІЛ — ВЕБ; 4 — ВІЛ — Ад — ВЕБ; 5 — лінія внутрішнього контролю приладу (Cut off)

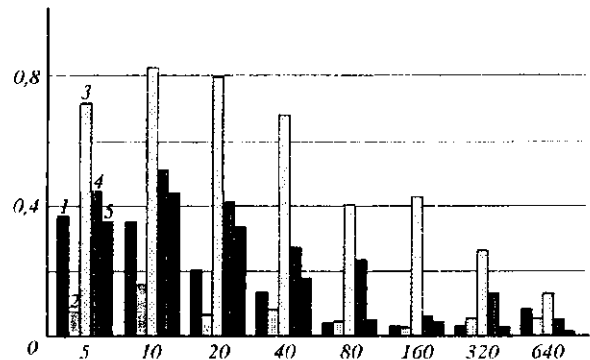


Рис. 2. Рівень експресії гексону аденовірусу людини 2-го типу в клітинах МТ4 та МТ4/ВІІ в умовах змішаного інфікування. ІФА, метод подвійних антитіл. По осі *x* — розведення матеріалу; *y* — оптична густина при 492 нм; 1 — клітини МТ4/ВІІ (продуценти ВІЛ), суперінфіковані аденовірусом (Ад); 2 — МТ4/ВІІ, суперінфіковані сумішшю Ад — ВЕБ; 3 — МТ4, інфіковані Ад (моноінфекція); 4 — МТ4, інфіковані сумішшю Ад — ВІЛ; 5 — МТ4, інфіковані сумішшю Ад — ВІЛ — ВЕБ

суперінфікуванні продукуючих ВІЛ клітин МТ4/ВІІІ Ад та ВЕБ виявлено взаємне гальмування експресії геномів ВІЛ і Ад.

Для з'ясування характеру взаємодії вірусів в умовах послідовного зараження було використано дві схеми експерименту: перший варіант — клітини МТ4 інфікували Ад або ВЕБ чи їх сумішшю, витримували протягом 24 год при 37 °С та суперінфікували ВІЛ, інкубували в термостаті при 37 °С ще протягом 5 діб і далі аналізували; другий варіант — клітини МТ4 інфікували ВІЛ, витримували 1 добу і далі суперінфікували Ад чи ВЕБ або їх сумішшю. Час інкубації до аналізу дорівнював 4 доби після суперінфікування. На рис. 3, а, представлено результати ІФА з вивчення рівня експресії гексону Ад, який значно зменшувався (у 3—8 разів). Аналогічні дані одержано і при аналізі експресії поверхневих білків капсиду ВЕБ. Особливо цей ефект виявлявся у випадку суперінфікування ВІЛ клітин МТ4, які до цього були інфіковані ВЕБ. Встановлено, що рівень експресії р24 ВІЛ в усіх варіантах одночасної змішаної інфекції залишався незмінним. У той же час інфек-

ційний титр ВІЛ зменшувався на 3 lgID₅₀ у випадку потрібної інфекції (незалежно від варіантів дослідів) і на 2 lgID₅₀ — у випадку подвійної інфекції клітин МТ4 (рис. 4).

Отже, незалежно від часу внесення вірусу при подвійній і потрібній послідовній змішаній інфекції відбувається взаємне гальмування репродукції вірусів, а саме: утворення інфекційного ВІЛ і синтезу капсидних білків Ад та ВЕБ.

Існує специфічний і адекватний тест на ВІЛ, що репродукується. Він базується на визначенні рівня активності зворотної транскриптази в супернатантах інфікованої культури клітин. Нами відпрацьовано і оптимізовано метод визначення рівня активності зворотної транскриптази в культуральному середовищі клітин МТ4/ВІІІ — продуцентів ВІЛ (в умовах хронічної інфекції) або інфікованих ВІЛ клітин МТ4 (гостра інфекція) на найвищому рівні репродукції вірусу на 5—7-му добу.

Показано, що рівень активності зворотної транскриптази в культурі клітин МТ4 в умовах моноінфекції значно нижчий, ніж в МТ4/ВІІІ. Вивчали також її рівні в умовах експериментальної

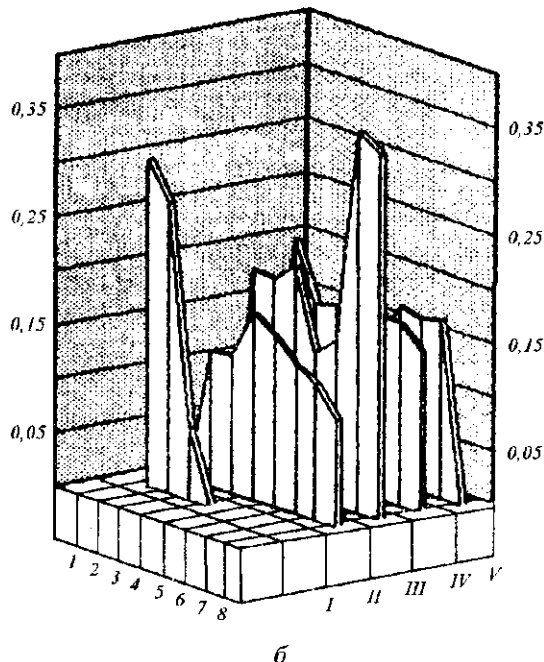
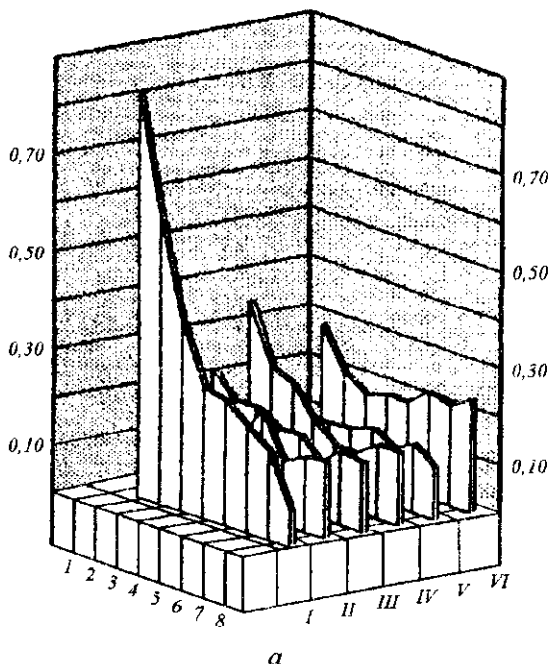


Рис. 3. Рівні експресії гексону Ад (а) та капсидних білків ВЕБ (б) в умовах одночасного змішаного інфікування лімфобластодних клітин МТ4. Імуноферментний аналіз. По осі x — розведення матеріалу; у — оптична густина при 492 нм (1 — 1:10; 2 — 1:100; 3 — 1:1000; 4 — 1:10 000; 5 — 1:100 000; 6 — 1:1 000 000; 7 — 10 000 000; 8 — 1:100 000 000); z — варіанти інфікування: первинне, **суперінфікування; а — I — *Ад; II — *Ад — **ВІЛ; III — *Ад — ВЕБ — **ВІЛ; IV — *ВІЛ — **Ад; V — *ВІЛ — **ВЕБ; VI — *ВІЛ — **Ад — ВЕБ; б — I — *ВЕБ; II — *ВЕБ — **ВІЛ; III — *ВЕБ — **Ад — ВІЛ; IV — ВІЛ — **ВЕБ; V — ВІЛ — **Ад — ВЕБ

змішаної інфекції клітин ВІЛ, ВЕБ та Ад. Суперінфікування клітин МТ4/ВІІІ аденовірусом значно збільшувало рівень активності зворотної транскриптази, проте введення в культуру клітин одного ВЕБ чи одночасно суміші ВЕБ — Ад призводило до його зниження. В умовах змішаної гострої інфекції клітин МТ4 рівень активності ферменту змінювався незначно, він дещо збільшувався у разі інфекції ВІЛ — Ад і потрійної інфекції та знижувався при подвійній ВІЛ — ВЕБ-інфекції (рис. 5).

Таким чином, внесення ВЕБ призводить до зниження рівня активності оберненої транскриптази, особливо при хронічній ВІЛ-інфекції клітин

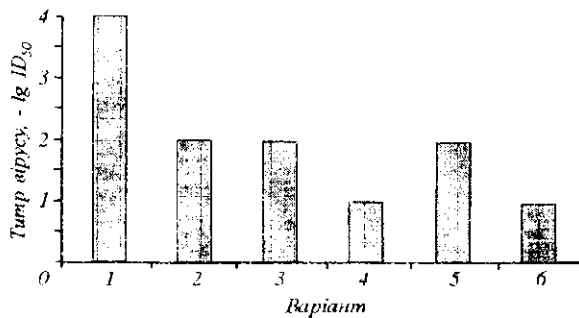


Рис. 4. Інфекційний титр ВІЛ в умовах неодноточасного змішаного інфікування лімфобластодібних клітин МТ4. Імуноферментний аналіз (тест-система «HIV Ad Monoclonal» фірми «Abbott»). По осі x — варіанти інфікування: *первинне, **суперінфікування; 1 — *ВІЛ; 2 — *ВІЛ — **Ад; 3 — *ВІЛ — **ВЕБ; 4 — *ВІЛ — **Ад — ВЕБ; 5 — *Ад — **ВІЛ; 6 — *Ад — ВЕБ — **ВІЛ; у — титр вірусу -lg ID₅₀

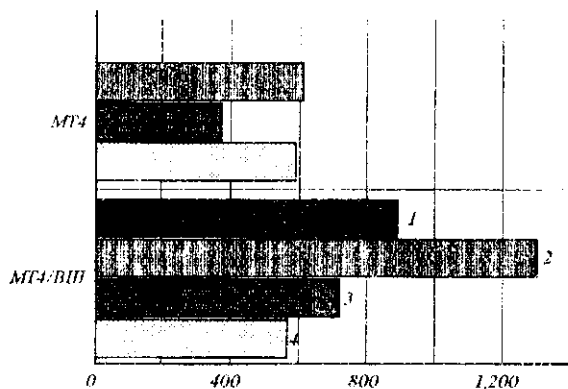


Рис. 5. Рівні активності зворотної транскриптази в культурах клітин МТ4 та МТ4/ВІІІ в умовах одночасної змішаної ВІЛ — ВЕБ — Ад-інфекції. По осі x — імн/хв; у — варіанти експерименту: 1 — ВІЛ; 2 — ВІЛ — Ад; 3 — ВІЛ — ВЕБ; 4 — ВІЛ — Ад — ВЕБ

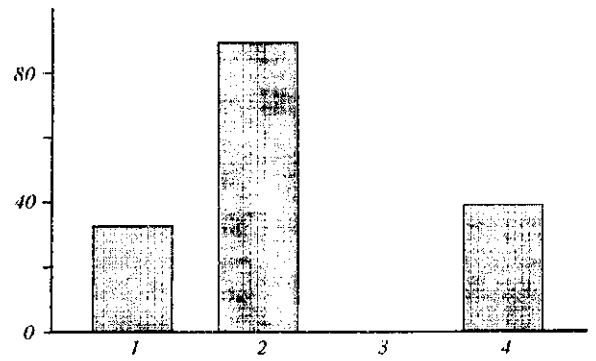


Рис. 6. Рівень інтерферону в культурі клітин лімфоцитів периферійної крові ВІЛ-інфікованого в умовах змішаного одночасного Ад-ВЕБ-ВІЛ-інфікування. По осі x — варіанти експерименту: 1 — ВІЛ — Ад; 2 — ВІЛ — ВЕБ; 3 — ВІЛ — Ад — ВЕБ; 4 — ВІЛ; у — одиниці активності

МТ4/ВІІІ. Це свідчить про деякий гальмівний вплив продуктів експресії геному ВЕБ на активність геному вірусу імунодефіциту людини. В той же час за умов подвійного інфікування обох клітинних систем з залученням Ад спостерігається підвищення рівня активності зворотної транскриптази, зумовлене, скоріш за все, стимулюючим впливом продуктів експресії геному Ад, зокрема його ранніх генів, на функціонування геному ВІЛ.

Істотним для розуміння механізмів формування змішаної інфекції ВІЛ — лімфотропні латентні віруси та розвитку СНІД-комплексу було дослідження продукції інтерферону в умовах змішаної інфекції. Так, при суперінфікуванні Ад і ВЕБ лімфоцитів від ВІЛ-інфікованих, тобто в умовах потрійної інфекції, клітини припиняють продукувати інтерферон, хоч суперінфікування тільки Ад призводить до слабого зниження продукції інтерферону, а суперінфікування ВЕБ — значного її стимулювання (рис. 6). Тенденція зниження продукції інтерферону за умов потрійної інфекції спостерігається і в клітинах МТ4, проте вона менш виражена в порівнянні з першою моделлю. Разом з тим ці клітини в умовах потрійного інфікування зберігають здатність утворювати інтерферон під впливом деяких глікопротеїнів бактеріального походження. Показано, що глікопротеїн із золотистого стафілококу найактивніше індукує інтерферон.

Одержані матеріали про взаємну інтерференцію ВІЛ, ВЕБ і Ад в умовах змішаного інфікування лімфобластодібних клітин важливі для розуміння механізму ВІЛ-інфекції, особливо за широкої циркуляції латентних лімфотропних вірусів серед населення України в сучасних екологічних умовах.

Дослідження виконані відповідно до теми 39— 92 програми «Профілактика СНІДу в Україні»

Н. С. Дяченко, С. Л. Рыбалко, Т. Ф. Грицак,
Е. В. Максименко, С. Т. Дядюн, О. Ю. Повница,
Н. В. Нестерова, В. Н. Береговенко, Ю. В. Пацковский

Изучение особенностей смешанного инфицирования лимфоцитов вирусом иммунодефицита человека и некоторыми ДНК-геномными лимфотропными вирусами, которые могут быть ассоциированы со СПИДом

Резюме

Впервые создана модель смешанной инфекции лимфобластоидных клеток Т-фенотипа с привлечением ВИЧ и некоторых ДНК-геномных вирусов, которые могут быть ассоциированы со СПИДом (вирус Эпштейна-Барр из семейства герпесвирусов и аденовирус человека 2-го типа). Выявлено значительное снижение титров инфекционности ВИЧ, образования гексона Ад и капсидных белков ВЭБ в условиях тройного (ВИЧ + Ад + ВЭБ) или двойного (ВИЧ + Ад, ВИЧ + ВЭБ) инфицирования клеток МТ4 при разных вариантах одновременного последовательного введения вирусов. Уровни экспрессии p24 ВИЧ при этом не изменялись. Активность обратной транскриптазы снижается в условиях тройного инфицирования клеток МТ4/В111, хронически инфицированных ВИЧ и продуцирующих его, тогда как суперинфицирование данных клеток Ад повышает уровень активности фермента. Установлено резкое снижение продукции интерферона в условиях тройного инфицирования лимфоцитов от ВИЧ-инфицированных и клеток МТ4. Полученные материалы о взаимной интерференции ВИЧ, Ад и ВЭБ в условиях совместного инфицирования клеток важны для понимания механизма ВИЧ-инфекции, особенно в условиях широкой циркуляции латентных лимфотропных вирусов среди населения Украины в современных экологических условиях.

N. S. Dyachenko, S. L. Rybalko, T. F. Grytsak,
E. V. Maksimenok, S. T. Djadiun, O. Ju. Povnitsa,
N. V. Nesterova, V. N. Beregovenko, Ju. V. Pazkovsky

Studying of particular features of mixed infection of lymphocytes by HIV and some DNA-genomic lymphotropic viruses which may be associated with AIDS

Summary

A model of mixed infection of lymphoblastic cells of T-phenotype was first designed using HIV and some DNA-genomic viruses which may be associated with AIDS (Epstein-Barr virus belonging to Herpesviridae and human adenovirus type 2). Considerable decreasing of HIV infection titres as well as Ad hexon and EBV capsid proteins formation under triple (HIV + Ad + EBV) or double (HIV + Ad, HIV + EBV) infection of MT4 cells in different versions of non-simultaneous consecutive introduction of each virus were revealed, while HIV p24 expression levels were unchanged. Reverse transcriptase activity decreases upon triple infection of MT4/B111 cells chronically infected by HIV and producing it, while superinfection of cells by Ad increases level of enzyme. Drastic decreasing of interferone production was observed upon triple infection of lymphocytes from HIV-infected patients and MT4 cells. Obtained data on mutual interference of HIV, Ad and EBV upon joint infection of cells are important for HIV-infection mechanism understanding, especially in conditions of latent lymphotropic viruses broad circulation among population of Ukraine in contemporary ecological conditions.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Carrigan D. R., Knox K. K., Tapper M. A. Suppression of human immunodeficiency virus type 1 replication by human herpesvirus-6 // *J. Infect. Diseases.*—1990.—162, N 4.—P. 844—851.
2. Srinivasan A., Velponi A., Monken C. E. et al. Activation and repression of HIV expression by heterologous viral genes // *J. Cell Biochem.*—1990.—Suppl. 14 D.—P. 95.
3. Lusso P., Markham P. D., De Rocco S. E., Gallo R. C. *In vitro* susceptibility of T lymphocytes from chimpanzees (Pan troglodytes) to human herpesvirus 6 (HHV-6): a potential animal model to study the interaction between HHV-6 and human immunodeficiency virus type 1 *in vivo* // *J. Virol.*—1990.—64.—P. 2751—2758.
4. Levy J. A., Loday A., Lennotte T. Human herpesvirus 6 inhibits human immunodeficiency virus type 1 replication in cell culture // *Clin. Microbiol.*—1990.—28.—P. 2462—2464.
5. Enzensberger R., Braun W., Jelly Ch. et al. Prevalence of antibodies to human herpesviruses and hepatitis B Virus in patients at different stages of human immunodeficiency virus (HIV) infection // *Infection.*—1991.—19.—P. 140—145.
6. Golden M. P., Kim S., Hammer S. M. et al. Superinfection by HSY can alter the pattern of HIV RNA expression // *J. Cell Biochem.*—1991.—Suppl. 15 E.—P. 100
7. Goldblum N., Daefler S., Liana T. Susceptibility to HIV-1 infection of a human B lymphoblastoid cell line DG-75, transfected with subgenomic DNA fragments of Epstein-Barr Virus // 21 congr. IABS progr. animal. retroviruses annex: Proc. symp. (4—6 Oct., 1989).—Basel etc., 1990.—P. 309.
8. Tremblay M., Meloche S., Sekali R. P., Wainberg M. A. Complement-mediated antibody-dependent enhancement HIV-1 infection in EBV-carrying B-cells // *J. Cell Biochem.*—1990.—Suppl. 14 D.—P. 128.
9. Dahl K. E., Buzzage T., Jones F., Miller G. Persistent non-productive infection of Epstein-Barr virus-transformed human B lymphocytes by human immunodeficiency virus type 1 // *J. Virol.*—1990.—64.—P. 1771—1783.
10. Hierholzer J. Adenovirus from patients with AIDS; A Plethora of serotypes and A description of five serotypes of subgenus D (types 43—47) // *J. Infect. Diseases.*—1988.—158.—P. 804—813.
11. Laspi M., Rice A., Mathewa M. Regulation of HIV-1 transcriptional of multiple levels: effects of HIV-1 *tat* and Adenovirus E1A on transcriptional initiation and elongation // *J. Cell Biochem.*—1990.—Suppl. 14 D.—P. 122.
12. Berencsi Gy., Dyachenko N., Tarassishin L. et al. Changes of Adenovirus hexon associated with different passage history of Ad h 1 // *Acta Microbiol. Hung.*—1986.—33 (3).—P. 233—243.
13. Тарасишин Л. А. Иммуноферментный анализ и его модификация в исследовании вирусных антигенов // *Микробиол. журн.*—1986.—49, № 4.—С. 99—104.
14. Veller A., Bartiatt A., Bidwell D. E. The detection of viruses by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) // *J. Gen. Virol.*—1976.—33, N 1.—P. 165—167.
15. Berger S. L., Waliace D. M., Puskas R. S., Eachenfeldt W. H. Reverse transcriptase and its associated ribonuclease II: interplay of two enzyme activities controls the yield of single-stranded complementary deoxyribonucleic acid // *Biochemistry.*—1983.—22.—P. 2365.

Надійшла до редакції 05.06.96