

УДК 616.36-003.826:616-097:616-001.28

А. А. Чумак, О. В. Носач✉, Л. М. Овсяннікова, С. М. Альохіна, О. Я. Плєскач,
Е. О. Саркісова, О. В. Гасанова, Т. О. Шийко, Л. П. Тюпа

Державна установа “Національний науковий центр радіаційної медицини Національної академії медичних наук України”, вул. Мельникова, 53, м. Київ, 04050, Україна

ОСОБЛИВОСТІ ПЕРСИСТЕНЦІЇ ВІРУСІВ РОДИНИ HERPESVIRIDAE У ХВОРИХ НА НЕАЛКОГОЛЬНУ ЖИРОВУ ХВОРОБУ ПЕЧІНКИ, ЯКІ ЗАЗНАЛИ ДІЇ ФАКТОРІВ ЧОРНОБИЛЬСЬКОЇ АВАРІЇ

Мета дослідження – визначити особливості персистенції вірусів, що належать до родини Herpesviridae, у хворих на неалкогольну жирову хворобу печінки, які зазнали дії факторів Чорнобильської аварії.

Матеріал і методи. До основної групи включено 45 хворих чоловічої статі з неалкогольною жировою хворобою печінки, які постраждали внаслідок Чорнобильської катастрофи, з дозами зовнішнього опромінення у діапазоні 10–580 мЗв. До групи нозологічного порівняння відібрано 20 хворих чоловічої статі з дозами опромінення в межах природного радіаційного фону та регламентованих доз медичного опромінення. Вміст в сироватці крові антитіл до вірусів простого герпесу 1/2 типів (anti-HSV-1/2 IgG), цитомегаловірусу (anti-CMV IgG) та вірусу Епштейна-Барр (anti-EBV IgG) визначали імуноферментним методом відповідно до інструкції виробника.

Результати. Дослідження антитіл класу IgG, які характеризують стан персистенції, показало, що у жодній з груп не було хворих без ознак ураження герпесвірусною інфекцією. Виявлені тенденції щодо підвищення рівнів антитіл до вірусів простого герпесу 1/2 типів, цитомегаловірусу та вірусу Епштейна-Барр у серопозитивних пробах крові хворих, які зазнали дії факторів Чорнобильської аварії, порівняно з хворими групи нозологічного порівняння. В основній групі не було відмінностей між підгрупами хворих на стеатогепатоз (СГ) і неалкогольний стеатогепатит (НАСГ) за рівнями anti-HSV-1/2 IgG і anti-CMV IgG, тоді як в групі порівняння у хворих на СГ рівень anti-HSV-1/2 IgG на 60,5 % ($p < 0,05$) був вищим ніж у хворих на НАСГ, а anti-CMV IgG – на 88,2 %. При цьому у хворих на НАСГ основної групи рівень anti-CMV IgG на 79,6 % ($p = 0,02$) перевищував аналогічний рівень у хворих на НАСГ групи порівняння. В усіх групах найбільш часто визначалася мікст-інфекція вірусами простого герпесу 1/2 типів і цитомегаловірусом з наявністю прямого кореляційного зв'язку між рівнями anti-HSV-1/2 IgG і anti-CMV IgG. Маркери моно-цитомегаловірусної інфекції реєструвалися виключно у хворих на НАСГ як в основній групі, так і в групі порівняння.

Висновок. За наявності противірусних антитіл класу IgG хворим на неалкогольну жирову хворобу печінки незалежно від радіаційного впливу в анамнезі притаманна висока ураженість вірусами родини Herpesviridae: простого герпесу 1/2 типів, цитомегалії та Епштейна-Барр. В групі хворих, які зазнали впливу факторів Чорнобильської аварії, відносно показників групи порівняння реєструвалися більша частка серопозитивних результатів і більш високі середні значення титрів досліджуваних антитіл. У більшості хворих зареєстрована мікст-інфекція вірусами простого герпесу 1/2 типів і цитомегалії з існуванням прямого кореляційного зв'язку між рівнями anti-HSV-1/2 IgG та anti-CMV IgG.

Ключові слова: неалкогольна жирова хвороба печінки, герпесвірусна інфекція, постраждалі внаслідок Чорнобильської аварії.

Проблеми радіаційної медицини та радіобіології. 2014. Вип. 19. С. 361–370.

✉ Носач Олена Василівна, e-mail: nosach@i.com.ua

A. A. Chumak, O. V. Nosach✉, L. M. Ovsyannikova, S. M. Alekhina, O. Ya. Pleskach, E. O. Sarkisova, O. V. Gasanova, T. O. Shyiko, L. P. Tyupa

State Institution "National Research Center for Radiation Medicine of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Melnykov str., 53, Kyiv, 04050, Ukraine

Peculiarities of viruses Herpesviridae family persistence in patients with non-alcoholic fatty liver disease who had been exposed to the factors of Chernobyl NPP accident

Objective – to define the features of viruses persistence belonging to the Herpesviridae family in patients with non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) who had been exposed to the factors of Chernobyl NPP accident.

Material and methods. The main group included 45 male NAFLD patients sufferers of Chernobyl NPP accident with absorbed doses of external irradiation in the range of 10-580 mSv. The group of nosology comparison consisted of 20 male NAFLD patients with the doses of irradiation within the limits of natural radiation background and regulated doses of medical irradiation. Antibodies to the viruses of herpes simplex 1/2 types (anti-HSV-1/2 IgG), cytomegalovirus (anti-CMV IgG) and Epstein-Barr virus (anti-EBV IgG) were determined by ELISA according to instructions of manufacturer.

Results. There were no patients in both groups without IgG antibodies characterizing persistence of some Herpesviridae representative. Tendencies to the increase of antibodies levels to the viruses of herpes simplex, cytomegaly and Epstein-Barr in the seropositive patients, who had been exposed to the factors of Chernobyl NPP accident relative to the patients of group of nosology comparison were found. There were no differences between the subgroups of patients with steatohepatosis (SH) and nonalcoholic steatohepatitis (NASH) in the main group by anti-HSV-1/2 IgG and anti-CMV IgG levels while in the group of comparison SH patients had 60.5 % higher level of anti-HSV-1/2 IgG ($p < 0.05$) than NASH patients and anti-CMV IgG – 88.2 % respectively. Besides for NASH patients of main group anti-CMV IgG level exceeded 79.6 % ($p = 0.02$) analogical level for NASH patients in the group of comparison. The mixt infection by the viruses of 1/2 types herpes simplex and cytomegaly was most often determined in all groups with the direct correlation between the levels of anti-HSV-1/2 IgG and anti-CMV IgG. The markers of cytomegalovirus mono-infection were registered only in NASH patients both in main group and in the group of comparison.

Conclusion. According to the presence of class IgG antiviral antibodies, NAFLD patients regardless of radiation influence in anamnesis have high prevalence of Herpesviridae family viral infection: herpes simplex 1/2 types, cytomegalovirus and Epstein-Barr virus. In the group of patients who had been exposed to the factors of Chernobyl NPP accident greater part of seropositive results and higher mean values of the probed antibodies titres were registered than in the groups of comparison. The mixt infection by the viruses of herpes simplex 1/2 types and cytomegaly was registered in most patients with existence of direct correlation between the levels of anti-HSV-1/2 IgG and anti-CMV IgG.

Key words: nonalcoholic fatty liver disease, herpes viral infection, Chernobyl NPP accident sufferers.

Problems of radiation medicine and radiobiology. 2014;19:361-370.

ВСТУП

Тривалі спостереження за станом здоров'я осіб, які зазнали дії факторів Чорнобильської аварії, свідчать про хронічний перебіг соматичних захворювань зі сполучнотканинною трансформацією органів і судин та розвитком функціональної недостатності. Особливістю патологічних процесів у цієї категорії хворих є їх поліорганність на тлі різноманітних метаболічних змін (у т. ч. метаболічного синдрому), імунної дисфункції та ендотоксикозу [1].

Протягом останнього десятиріччя триває накопичення даних щодо патогенетичних механізмів формування неалкогольної жирової хвороби печінки

INTRODUCTION

The prolonged follow-up of the health state of Chernobyl NPP accident sufferers testify to chronic time-course of somatic diseases with connective tissue transformation of organs and vessels and development of functional insufficiency. The peculiarity of pathological processes at this category of patients is their polyorganity against a background of various metabolic changes (including metabolic syndrome), immune disfunction and endotoxiosis [1].

The lately accumulation of information lasts in relation to the pathogenetic mechanisms of nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) development

(НАЖХП) та її прогресування від стеатогепатозу (СГ) до неалкогольного стеатогепатиту (НАСГ) та фіброзу печінки [2]. Проте дотепер чинники, що сприяють поступовому поглибленню ураження печінки, та конкретні механізми реалізації їх впливу лишаються нез'ясованими. Одним із перспективних напрямів досліджень є визначення значення запального процесу низьких градацій в перебігу НАЖХП [3].

На сьогодні окреслені два напрями розвитку запального процесу та фіброзу в печінці які залежать від рівня дії етіологічних факторів: 1) запальний процес в печінці ініційований факторами, що впливають безпосередньо на печінкові тканини та викликають їх пошкодження; 2) хронічне запалення в печінці виникає на тлі різноманітних імунодефіцитних станів внаслідок запуску запального процесу факторами, що продукуються в осередку хронічної інфекції у віддаленому органі [4]. До переліку чинників, що можуть викликати пошкодження печінки обома цими шляхами, належать герпесвірусні інфекції (ГВІ), основною особливістю яких є схильність до персистенції [5, 6]. Тому окреслення можливого вкладу ГВІ в патогенетичні механізми і клінічний перебіг НАЖХП є важливим для удосконалення заходів щодо запобігання її прогресуванню.

МЕТА ДОСЛІДЖЕННЯ

Метою дослідження було визначити особливості персистенції вірусів, що належать до родини Herpesviridae, у хворих на НАЖХП, які зазнали дії факторів Чорнобильської аварії.

МАТЕРІАЛ І МЕТОДИ

Основну групу склали 45 осіб чоловічої статі, хворих на НАЖХП (МКХ-10 K76.0), які зазнали дії зовнішнього опромінення у 1986–1987 роках під час ліквідації наслідків Чорнобильської катастрофи (діапазон доз 10–580 мЗв): 14 хворих на СГ віком ($56,7 \pm 2,7$) року, підгрупа I, і 31 хворий на НАСГ віком ($54,5 \pm 1,1$) року, підгрупа II. До групи нозологічного порівняння відібрано 20 хворих чоловічої статі, з дозами опромінення в межах природного радіаційного фону та регламентованих доз медичного опромінення: 8 хворих на СГ віком ($54,1 \pm 2,5$) року, підгрупа III, і 12 хворих на НАСГ віком ($46,2 \pm 4,0$) року, підгрупа IV. Серед коморбідних нозологій в обох групах реєструвалися хвороби серцево-судинної та бронхолегеневої систем, органів травлення та судинні захворювання головного мозку.

and its progress from steatohepatosis (SH) to non-alcoholic steatohepatitis (NASH) and liver fibrosis [2]. However to this day factors which promote gradual deepening of liver lesions, and the exact mechanisms of realization their influence remain unclear. One of perspective directions of researches is determination of value of low gradations inflammatory process in the course of NAFLD [3].

Two directions of development of inflammatory process and fibrosis in liver which depend on the influence level of etiologic factors are outlined for today: 1) an inflammatory process in a liver is initiated by factors which influence directly on hepatic tissue and cause its damage; 2) chronic inflammation in a liver arises up against the background of various immunodeficient states as a result of start of inflammatory process by factors which are produced in the nidus of chronic infection in a remote organ [4]. To the list of factors which can cause the damage of liver by both these ways, belong herpes viral infections (HVI) which the basic feature is propensity to persistency [5, 6]. Therefore a delineation of possible input of HVI in pathogenetic mechanisms and clinical course of NAFLD is important for the improvement of measures on prevention of its progress.

OBJECTIVE

The objective of the study was to define the peculiarities of persistency of viruses which belong to the Herpesviridae family for NAFLD patients, Chornobyl NPP accident sufferers.

MATERIALS AND METHODS

The main group was composed by 45 male NAFLD patients (ICD-10 K76.0), who have been exposed to external irradiation in 1986–1987 during clean-up works of the Chornobyl catastrophe (doses range 10–580 mSv): 14 patients with SH, mean age (56.7 ± 2.7) years, subgroup I, and 31 patient with NASH, mean age (54.5 ± 1.1) years, subgroup II. To the group of nosology comparison 20 male NAFLD patients were selected, with the doses of irradiation within the limits of natural radiation background and regulated doses of medical irradiation: 8 patients with SH, mean age (54.1 ± 2.5) years, subgroup III, and 12 patients with NASH, mean age (46.2 ± 4.0) years, subgroup IV. As comorbide nosologies cardiovascular, bronchopulmonary and digestive systems pathologies and cerebrovascular diseases were registered.

Критеріями включення пацієнтів у дослідження були наявність СГ або НАСГ в анамнезі, виявлення структурних змін печінки при інструментальних дослідженнях, а також підвищення рівня аланінаміно-трансферази (КФ 2.6.1.2) або аспартатаміно-трансферази (КФ 2.6.1.1) при біохімічному дослідженні крові. До критеріїв виключення віднесено вік хворих понад 70 років, наявність алкогольної хвороби печінки, хронічних вірусних або аутоімунних гепатитів, цирозу печінки (діагностика яких проводилася у відповідності до положень клінічних протоколів надання медичної допомоги хворим на основні гастроентерологічні захворювання, затверджених наказом МОЗ України від 13.06.2005 № 271), онкологічної патології чи стану після хіміотерапії.

Персистенцію вірусів родини Herpesviridae визначали за рівнем вмісту в крові антитіл класу IgG до вірусів простого герпесу 1/2 типів (anti-HSV-1/2 IgG), цитомегаловірусу (anti-CMV IgG), до ядерного (anti-EBV NA IgG) та до раннього антигену вірусу Епштейна-Барр (anti-EBV EA IgG) імуноферментним методом з використанням вітчизняних діагностичних наборів фірм "Diaproph.Med" та "Vitrotest. PS "Ramintek" Ltd".

Статистичну обробку результатів здійснювали за допомогою статистичного пакету SPSS (v.16.0 for Windows). Проводили дескриптивний аналіз кожної вибірки з розрахунком середнього значення (M) та стандартної похибки (m). Для порівняльного аналізу двох незалежних вибірок використовували U-тест Манна-Уїтні (Mann-Whitney U-test), тест χ^2 за Пірсоном (Pearson Chi-Square) та точний тест Фішера (Fisher's Exact Test), декількох вибірок – H-тест за методом Крускала та Уолліса (Kruskal Wallis H-test). Характер зв'язку між змінними визначався шляхом розрахунку коефіцієнту кореляції Спірмена.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Дослідження антитіл класу IgG, які характеризують стан персистенції, показало, що у жодній з груп не було хворих без ознак ураження ГВІ. Наявність anti-HSV-1/2 IgG реєструвалася у 39 з 43 обстежених (90,7 % хворих) основної групи та у 17 з 20 обстежених (85,0 %) групи порівняння, anti-CMV IgG – відповідно у 39 з 42 (92,8 %) і 15 з 19 (78,9 %), anti-EBV NA IgG – відповідно у 18 з 23 (78,3 %) і 10 з 11 (90,9 %), anti-EBV EA IgG – відповідно у 15 з 22 (68,2 %) і 6 з 11 (54,5 %). Хоча частка серопозитивних хворих була більшою в основній групі, проте відмінності не досягали вірогідних значень за жодним з досліджуваних маркерів.

The criteria of including patients in research were presence of SH or NASH in anamnesis, finding of structural changes in liver at instrumental researches and also increase of level of serum alanine aminotransferase (KF 2.6.1.2) or aspartate aminotransferase i (KF 2.6.1.1). The criteria of exclusion were age over 70 years, presence of alcoholic disease of liver, chronic viral or autoimmune hepatitis, liver cirrhosis (diagnosed in accordance with positions of Clinical Protocols of Medical Aid for Patients With Basic Gastroenterology Diseases, approved by the order of Ministry of Public Health of Ukraine from 13.06.2005 # 271), oncologic pathology or state, after a chemotherapy.

Viruses persistency of Herpesviridae family was determined by the level of class IgG antibodies in blood serum to the viruses of herpes simplex 1/2 types (anti-HSV-1/2 IgG), cytomegalovirus (anti-CMV IgG), to nuclear (anti-EBV NA IgG) and early antigens of Epstein-Barr virus (anti-EBV EA IgG) using commercial diagnostic kits "Diaproph.Med" and "Vitrotest. PS "Ramintek" Ltd" (both Ukraine).

Statistical analysis and data processing was carried out by application software SPSS (v.16.0 for Windows). The descriptive analysis of every selection was conducted with the calculation of mean value (M) and standard error (m). For the comparative analysis of two independent selections Mann-Whitney U test, Pearson Chi-square test and Fisher's Exact test, for several selections – Kruskal Wallis H-test were used. Character of connection between variables was determined by the calculation of Spirmen coefficient of correlation.

RESULTS AND DISCUSSION

Assay of class IgG antibodies peculiar for the state of persistency, revealed no patients without signs of HVI in any group. The anti-HSV-1/2 IgG was registered in 39 from 43 examined (90.7 %) patients of main group and in 17 from 20 (85.0 %) persons in group of comparison, anti-CMV IgG – accordingly in 39 from 42 (92.8 %) and 15 from 19 (78.9 %), anti-EBV NA IgG – accordingly in 18 from 23 (78.3 %) and 10 from 11 (90.9 %), anti-EBV EA IgG – accordingly in 15 from 22 (68.2 %) and 6 from 11 (54.5 %). Although fraction of seropositive patients was greater in the main group differences, however did not reach reliable values for none of the probed markers.

Таблиця 1

Рівні антитіл до вірусів простого герпесу 1/2 типів, цитомегаловірусу та вірусу Епштейна-Барр у пробах крові серопозитивних хворих

Table 1

Levels of antibodies to the viruses of herpes simplex 1/2 types, cytomegalovirus and to the Epstein-Barr virus in the blood samples of seropositive patients

Група обстеження Patients	Anti-HSV-1/2 IgG		Anti-CMV IgG		Anti-EBV NA IgG		Anti-EBV EA IgG	
	n	M±m, ум.од./RVU	n	M±m, ум. од./RVU	n	M±m, ум. од./RVU	n	M±m, ум. од./RVU
Основна група / main group								
Хворі на НАЖХП, з них: NAFLD patients, including:	39	9,617 ± 0,687	39	8,246 ± 0,670	18	10,374 ± 3,398	15	7,617 ± 2,206
хворі на стеатогепатоз (I) steatohepatosis patients (I)	11	10,171 ± 1,188 <i>p_{I-IV} = 0,048</i>	10	8,507 ± 1,284	8	11,486 ± 4,745	5	3,789 ± 1,214
хворі на стеатогепатит (II) NASH patients (II)	28	9,399 ± 0,844	29	8,156 ± 0,798	10	9,426 ± 5,112	10	9,531 ± 3,131
Група порівняння / comparison group								
Хворі на НАЖХП, з них: NAFLD patients, including:	17	7,617 ± 0,843	15	6,770 ± 1,094	10	6,341 ± 1,460	6	6,212 ± 1,172
хворі на стеатогепатоз (III) steatohepatosis patients (III)	8	8,980 ± 1,382	6	8,944 ± 1,818	2	*	2	*
хворі на стеатогепатит (IV) NASH patients (IV)	9	7,014 ± 0,987	9	5,562 ± 1,263	8	6,975 ± 1,763	4	5,504 ± 1,646

Примітка. * – значення не наводяться у зв'язку малою кількістю обстежених.

Note. * – data are not presented because of paucity of investigated patients.

В основній групі середні значення рівнів антитіл до досліджуваних типів ГВІ були дещо вищими, ніж у групі порівняння: anti-HSV-1/2 IgG – на 26,2 %, anti-CMV IgG – на 21,8 %, anti-EBV NA IgG – на 63,6 %, anti-EBV EA IgG – на 22,6 % (табл. 1).

Підвищення рівня anti-HSV-1/2 IgG у хворих на СГ з обтяженим радіаційним анамнезом (підгрупа II) було достовірним ($p < 0,05$) відносно хворих на НАСГ IV підгрупи в групі нозологічного порівняння. Тенденція щодо більш високих значень показників серопозитивності також відмічалася й стосовно рівнів антитіл до вірусу Епштейна-Барр: середнє значення рівня anti-EBV NA IgG у хворих на НАСГ підгрупи II основної групи на 35,1 % перевищувало значення підгрупи IV в групі нозологічного порівняння та рівня anti-EBV EA IgG – на 73,1 %.

Отже, в цілому наявні тенденції щодо підвищення рівнів антитіл до вірусів простого герпесу 1/2 типів, цитомегаловірусу та вірусу Епштейна-Барр у серопозитивних пробах крові хворих, які зазнали дії факторів Чорнобильської аварії, порівняно з хворими групи нозологічного порівняння, проте відмінності не досягають вірогідних значень. Це, можливо, пов'язане з обмеженою чисельністю пацієнтів у групах, що потребує проведення подальших досліджень.

Mean levels of antibodies to the probed types of HVI in the main group were some higher vs. in comparison group: anti-HSV-1/2 IgG – 26,2 %, anti-CMV IgG – 21,8 %, anti-EBV NA IgG – 63,6 %, anti-EBV EA IgG – 22,6 % (Table 1).

Anti-HSV-1/2 IgG increase in SH patients with complicated radiation history (subgroup II) was significant ($p < 0.05$) relative to patients with NASH of IV subgroup in the group of nosological comparison. The trend towards higher values of seropositivity was recorded on the level of antibodies to Epstein-Barr virus: mean level of anti-EBV NA IgG in patients with NASH of subgroup II main group was 35.1 % higher than the value of subgroup IV of nosology comparison group as well as the level of anti-EBV EA IgG – 73.1 %.

Thus in general, trends exist in increased levels of antibodies to herpes simplex virus type 1/2, cytomegalovirus and Epstein-Barr virus in seropositive blood samples of patients who were exposed to the Chernobyl accident factors, compared to patients of nosological comparison group, but the differences did not reach plausible values. This is probably due to the limited number of patients in the groups that require further research.

Таблиця 2

Розподіл хворих, уражених герпесвірусною інфекцією, за наявністю антитіл до вірусів простого герпесу 1 / 2 типів і цитомегаловірусу

Table 2

Distribution of patients infected with herpes virus infection by the presence of antibodies to herpes simplex virus 1/2 types and cytomegalovirus

Група обстеження Patients	Кількість хворих (осіб) / number of patients		
	Anti-HSV-1/2 IgG “+” Anti-CMV IgG “+”	Anti-HSV-1/2 IgG “+” Anti-CMV IgG “-”	Anti-HSV-1/2 IgG “-” Anti-CMV IgG “+”
Main group			
Хворі на НАЖХП, з них / NAFLD patients, including:	36	3	3
хворі на стеатогепатоз (I) / steatohepatosis patients (I)	10	1	0
хворі на стеатогепатит (II) / NASH patients (II)	26	2	3
Comparison group			
NAFLD patients, including / Хворі на НАЖХП, з них:	13	4	2
хворі на стеатогепатоз (III) / steatohepatosis patients (III)	6	2	0
хворі на стеатогепатит (IV) / NASH patients (IV)	7	2	2

Зважаючи на те, що підвищені рівні anti-HSV-1/2 IgG і anti-CMV IgG реєструвалися найчастіше (табл. 1), що відповідає літературним даним (серопозитивність до вірусів простого герпесу 1-го та 2-го типів і цитомегаловірусу становить 80,9; 9,9 та 89,2 %, відповідно [7], сягаючи 98, 87 та 100 %, відповідно, у ВІЛ-інфікованих хворих [8]), було проаналізовано розподіл хворих за наявністю антитіл при моно- та мікст-інфекціях цих вірусів (табл. 2).

В усіх групах найбільш часто визначалися антитіла до ГВІ 1, 2-го та 5-го типів (мікст-інфекція вірусів простого герпесу 1/2 типів і цитомегаловірусу): в основній групі у 36 з 39 (92,2 %) ГВІ 1/2-серопозитивних хворих, в групі порівняння – у 13 з 17 (76,5 %). Маркери моно-цитомегаловірусної інфекції реєструвалися виключно у хворих на НАСГ як в основній групі, так і в групі порівняння, що потребує поглиблених досліджень для пояснення цих результатів.

У хворих основної групи з мікст-інфекцією середні значення рівнів anti-HSV-1/2 IgG і anti-CMV IgG були більш високими; зокрема, збільшення рівня anti-CMV IgG сягало 31,2 %. (табл. 3).

Привертає увагу те, що в основній групі не було відмінностей між підгрупами хворих на СГ і НАСГ за рівнями anti-HSV-1/2 IgG і anti-CMV IgG, тоді як в групі порівняння у хворих на СГ рівень anti-HSV-1/2 IgG на 60,5 % ($p < 0,05$) був вищим, ніж у хворих на НАСГ, а anti-CMV IgG – на 88,2 %. При цьому у хворих на НАСГ основної групи рівень anti-CMV IgG на 79,6 % ($p = 0,02$) перевищував аналогічний рівень у хворих на НАСГ групи порівняння.

З огляду на повідомлення про можливість взаємодію впливу герпесвірусів різних типів [8, 9], проаналізо-

As the elevated levels of anti-HSV-1/2 IgG and anti-CMV IgG were recorded most frequently (Table 1), which corresponds to the literature (seropositivity to herpes simplex virus type 1 and 2 and cytomegalovirus is 80.9, 9.9 and 89.2 %, respectively [7], reaching 98, 87 and 100 %, respectively, in HIV-infected patients [8]), the distribution of patients was analyzed for the presence of antibodies as mono and mixed infections of these viruses (Table. 2).

In all groups mixed infection with herpes simplex virus and cytomegalovirus was identified most frequently: in the main group in 36 of 39 (92.2 %) seropositive patients and in 13 of 17 (76.5 %) patients in comparison group. Markers mono-CMV infection were recorded only in patients with NASH both in the study group and in the comparison group, which requires in-depth research to explain these results. In patients of the main group with mixed infection the average levels of anti-HSV-1/2 IgG and anti-CMV IgG were higher; in particular, the increase in anti-CMV IgG reached 31.2 % (Table 3).

Notably, in the main group there were no differences between subgroups of patients by the level of anti-HSV-1/2 IgG and anti-CMV IgG, while in the comparison group of patients with SH level anti-HSV-1/2 IgG was 60.5 % ($p < 0.05$) and anti-CMV IgG – 88.2 % higher than in patients with NASH. Besides in patients with NASH of main group anti-CMV IgG levels exceeded by 79.6 % ($p = 0.02$) that level in patients with NASH of comparison group.

Taking into account the possibility of interference of different types of herpes viruses [8, 9] the correla-

Таблиця 3

Рівні антитіл у хворих, уражених мікст-інфекцією вірусів простого герпесу 1 / 2 типів та цитомегаловірусу

Table 3

Levels of antibodies in patients affected by mixed infection with herpes simplex virus 1/2 types and cytomegalovirus

Група обстеження Patients	n	Anti-HSV-1/2 IgG M±m, ум.од./RVU	Anti-CMV IgG M±m, ум.од./RVU
Main group			
Хворі на НАЖХП, з них / NAFLD patients, including:	36	9,555 ± 0,718	8,526 ± 0,706
хворі на стеатогепатоз (I) / steatohepatosis patients (I)	10	9,975 ± 1,296	8,507 ± 1,284
хворі на стеатогепатит (II) / NASH patients (II)	26	9,392 ± 0,874	8,534 ± 0,860
			<i>p_{I-IV} = 0,020</i>
Comparison group			
NAFLD patients, including / Хворі на НАЖХП, з них:	13	8,537 ± 0,907	6,498 ± 1,027
хворі на стеатогепатоз (III) / steatohepatosis patients (III)	6	10,712 ± 1,037	8,944 ± 1,817
		<i>p_{III-IV} = 0,022</i>	
хворі на стеатогепатит (IV) / NASH patients (IV)	7	6,674 ± 1,016	4,751 ± 0,723
P _{I, II, III, IV}		0,239*	0,105*

Примітка. * – розраховано з використанням Н-тесту за методом Крускала та Уолліса.
Note. * – calculated by Kruskal Wallis H test.

вано наявність кореляційних зв'язків між anti-HSV-1/2 IgG і anti-CMV IgG. Базою для розрахунку вибрано показники всіх хворих з мікст-інфекцією, оскільки між групами не було вірогідних відмінностей за цими показниками. Встановлено, що у хворих з мікст-інфекцією вірусів простого герпесу 1/2 типів і цитомегаловірусу існує прямий кореляційний зв'язок між anti-HSV-1/2 IgG та anti-CMV IgG ($r = 0,481$, $p = 0,001$).

Обговорюючи отримані результати, слід зазначити, що НАЖХП розглядається як важлива проблема світової медичної практики у зв'язку з її значною розповсюдженістю в різних популяціях населення. Вважається, що приблизно у 10–25 % пацієнтів СГ прогресує до НАСГ. До факторів, що сприяють реалізації генетичної схильності до розвитку цього захворювання, відносять накопичення ліпідів в печінці з наступною ініціацією прооксидантних процесів, розвитком ретикулоендотеліального стресу, збільшенням продукції цитокінів та хемоатрактантів, активацією печінкових зірчастих клітин і, нарешті, збільшенням продукції компонентів екстрацелюлярного матриксу та хронізацією системного запального процесу [10, 11].

Відомо, що тривале існування персистоючої інфекції викликає зміни функціонування основних гомеостатичних систем і структурні перебудови як окремих тканин, так і органів в цілому. Хоча випадки фульмінантних ГВІ-асоційованих гепатитів трапляються досить рідко, проте поступово накопичуються

tion between the presence of anti-HSV-1/2 IgG and anti-CMV IgG was analyzed. The indicators of all patients with mixed infection were selected as a basis for calculation, as between the groups there were no probable differences in these parameters. It was found that in patients with mixed infection by herpes simplex virus 1/2 types and cytomegalovirus was a direct correlation between anti-HSV-1/2 IgG and anti-CMV IgG ($r = 0,481$, $p = 0.001$).

Discussing the results, it should be noted that NAFLD is regarded as an important problem of the world medical practices due to its significant prevalence in different populations of people. It is believed that about 10–25 % of SH patients are progressing to NASH. Factors contributing to the realization of genetic susceptibility to this disease include the accumulation of lipids in the liver, followed by initiation of prooxidant processes, development of reticuloendothelial stress, increased production of cytokines and chemoattractants, activation of hepatic stellate cells and, finally, increased production of components of extracellular matrix and chronic systemic inflammation [10, 11].

It is known that the permanent existence of persistent infection causes changes in the functioning of basic homeostatic systems and structural rearrangement of individual tissues and organs in general. Although cases of fulminant HVI-associated hepatitis are rare, but clinical reports are

клінічні повідомлення щодо ураження печінки вірусами простого герпесу 1/2 типів [12], цитомегаловірусом [13] та вірусом Епштейна-Барр [14] за відсутності ознак інфікування вірусами гепатиту А, В, С, D, E або впливу будь-яких гепатотоксичних чинників. Більш часто такі гепатити виникають на тлі імунної дисфункції, ре- або суперінфекції ГВІ. Окремі ланки механізму розвитку ГВІ-індукованої імунодепресії досить детально описані [15], проте ще залишається низка відкритих питань, зокрема щодо клінічного значення персистенції ГВІ у перебігу НАЖХП.

Одним із можливих наслідків ГВІ-індукованої імунодепресії є розвиток хронічного запалення з системною альтерацією, яка провокує генералізацію базових механізмів програми запального процесу поза межами локусу запалення та розвиток феномену вторинного системного пошкодження. Невід'ємною складовою системного запалення є розвиток оксидативного стресу з активацією процесів окислювальної модифікації макромолекул. Високотоксичні продукти вільнорадикального окислення накопичуються в організмі та спричиняють деполімеризацію матриксу сполучної тканини безпосередньо, або шляхом активації протеолітичних ферментів і матриксних металопротеїназ, активують лейкоцитарну колагеназу, сприяють розвитку апоптозу та некрозу ендотеліоцитів і подальшій інтенсифікації запально-деструктивних процесів. Тому у подальшому буде проведена оцінка перебігу процесів ліпопероксидації у хворих на НАЖХП, уражених ГВІ.

ВИСНОВКИ

1. За наявності противірусних антитіл класу IgG, хворим на НАЖХП (СГ, НАСГ) незалежно від радіаційного впливу в анамнезі притаманна висока ураженість вірусами родини Herpesviridae: простого герпесу 1/2 типів, цитомегалії та Епштейна-Барр.
2. В групі хворих, які зазнали впливу факторів Чорнобильської аварії, відносно показників групи порівняння реєструвалися більша частка серопозитивних результатів і більш високі середні значення титрів досліджуваних антитіл.
3. У більшості хворих зареєстрована мікст-інфекція вірусами простого герпесу 1/2 типів і цитомегалії з існуванням прямого кореляційного зв'язку між рівнями anti-HSV-1/2 IgG і anti-CMV IgG.

gradually accumulating on liver damage by herpes simplex virus type 1/2 [12], cytomegalovirus [13] and Epstein-Barr virus [14] in the absence of infection with hepatitis viruses A, B, C, D, E or influence any hepatotoxic factors. More often, this hepatitis arises against immune dysfunction, re- or super infection by HVI. Individual links of mechanism of immunosuppression induced by HVI are quite detailed [15], but still remains a number of open questions, including the clinical significance of persistent HVI for the course of NAFLD.

One of the possible consequences of HVI induced immunosuppression may be the development of chronic inflammation with systemic alteration that triggers generalization of the basic mechanisms of the inflammation program beyond the locus of inflammation and the development of the secondary system damage phenomenon. An integral part of systemic inflammation is the development of oxidative stress with activation of oxidative modification of macromolecules. Highly toxic free radical oxidation products accumulate in the body and cause depolymerization matrix of connective tissue directly or through the activation of proteolytic enzymes and matrix metalloproteinases, activate leukocyte collagenase, contribute to the development of apoptosis and necrosis of endothelial cells and further intensification of inflammatory and destructive processes. Therefore, in the future processes of lipid peroxidation will be assessed in NAFLD patients infected by HVI.

CONCLUSIONS

1. According to the presence of class IgG antiviral antibodies, NAFLD patients regardless of radiation influence in anamnesis have high prevalence of Herpesviridae family viral infection: herpes simplex 1/2 types, cytomegalovirus and Epstein-Barr virus.
2. In the group of patients, who had been exposed to the factors of Chernobyl NPP accident greater part of seropositive results and higher mean values of the probed antibodies titres were registered than in the groups of comparison.
3. The mixt infection by the viruses of herpes simplex 1/2 types and cytomegaly was registered in most patients with existence of direct correlation between the levels of anti-HSV-1/2 IgG and anti-CMV IgG.

Подяка

Дослідження проведені за планом Національної академії медичних наук України (НДР № 536, номер державної реєстрації 0113U002327). Автори вдячні президенту благодійної організації “KIHEV Kinderhilfe Kiew e.V.” Т.Хармсу за підтримку в придбанні діагностичних наборів.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Health effects of the Chernobyl Accident – a Quarter of Century Aftermath / eds. A. Serdiuk, V. Bebeshko, D. Bazyka, S. Yamashita. – Kyiv : DIA, 2011. – 648 p.
2. Vanni E. From the metabolic syndrome to NAFLD or vice versa? / E. Vanni, E. Bugianesi, A. Kotronen [et al.] // *Dig. Liver Dis.* – 2010. – Vol. 42, No. 5. – P. 320–330.
3. Byrne C. D. Fatty liver : role of inflammation and fatty acid nutrition / C. D. Byrne // *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids.* – 2010. – Vol. 82, No. 4–6. – P. 265–271.
4. Пат. 2455988 RU, МПК А61К31/4045 (2006.01) А61Р1/16 (2006.01) А61Р29/00 (2006.01) Способ профилактики поражения печени при формировании синдрома сочетанных дистрофически-дегенеративных изменений мезенхимальных производных при локальном хроническом воспалительном процессе и средство для его осуществления [Электронный ресурс] / Маринкин И. О. (RU), Жураковский И. П. (RU), Пустоветова М. Г. (RU), Кунц Т. А. (RU), Битхаева М. В. (RU), Шантурова Т. В. (RU); заявитель и патентообладатель ГОУ высшего проф. образования “Новосибирский государственный медицинский университет Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию” (RU). – № 2011100512/15; заявл. 11.01.2011; опублик. 20.07.2012, Бюл. № 20, 2012 г. – Режим доступа : <http://www.fips.ru/cdfi/fips.dll?ty=29&docid=2455988&cl=9&path=http://195.208.85.248/Archive/PAT/2012FULL/2012.07.20/DOC/RUNWC1/000/000/002/455/988/document.pdf>. – Назв. с экрана.
5. Крюгер О. О. Герпесвіруси: здатність вислизати від системи комплексу / О. О. Крюгер, А. В. Бобришева // Вірусні хвороби. ВІЛ-інфекція / СНІД : матеріали Всеукраїнської наук.-практ. конф. з міжнар. участю і пленуму Асоціації інфекціоністів України, 3–4 жовтня 2013, Судаку, Україна. – Тернопіль : ТДМУ, Укрмедкнига, 2013. – С. 88–89.
6. Grinde B. Herpesviruses: latency and reactivation – viral strategies and host response [Electronic resource] / B. Grinde // *J. Oral Microbiol.* – 2013. – Available from : <http://www.journaloforalmicrobiology.net/index.php/jom/article/view/22766/30743>. – Title from the screen.
7. Conde-Glez C. Seroprevalences of varicella-zoster virus, herpes simplex virus and cytomegalovirus in a cross-sectional study in Mexico / C. Conde-Glez, E. Lazcano-Ponce, R. Rojas [et al.] // *Vaccine.* – 2013. – Vol. 31, No. 44. – P. 5067–5074.
8. High seroprevalence of human herpesviruses in HIV-infected individuals attending primary healthcare facilities in rural South Africa [Electronic resource] / E. Schaftenaar, G. M. Verjans, S. Getu [et al.] // *PLoS One.* – 2014. – Vol. 9, No. 6. – e99243. – Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4051661/pdf/pone.0099243.pdf>. – Title from the screen.

Acknowledgements

This study is supported by the National Academy of Medical Sciences of Ukraine (grant № 536, state registration № 0113U002327). The authors are grateful to the President of the Charitable Organization “KIHEV Kinderhilfe Kiew e.V.” T.Harms for support in the acquisition of diagnostic kits.

REFERENCES

1. Serdiuk A, Bebeshko V, Bazyka D, Yamashita S, editors. Health effects of the Chernobyl Accident – a Quarter of Century Aftermath. Kyiv: DIA; 2011. 648 p.
2. Vanni E, Bugianesi E, Kotronen A, De Minicis S, Yki-Jarvinen H, Svegliati-Baroni G. From the metabolic syndrome to NAFLD or vice versa? *Dig Liver Dis.* 2010 May;42(5):320-30.
3. Byrne CD. Fatty liver : role of inflammation and fatty acid nutrition. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 2010 Apr-Jun;82(4-6):265-71.
4. Marinkin IO, Zhurakovskij IP, Pustovetova MG, Kunc TA, Bitshaeva MV, Shanturova TV, inventors; Gosudarstvennoe obrazovatel'noe uchrezhdenie vysshego professional'nogo obrazovaniya “Novosibirskij gosudarstvennyj meditsinskij universitet Federal'nogo agentstva po zdravookhraneniю i sotsial'nomu razvitiю” [Novosibirsk State Medical University], assignee. [Method of preventing liver injury in formation of syndrome of combined dystrophic-degenerative changes of mesenchymal derivatives in case of local chronic inflammatory process and means for its realization]. Russian Federation patent RU 2455988. 2012 Jul 20. Russian.
5. Krjuger OO, Bobrysheva AV. [Herpesviruses: the ability to elude the complement system]. In: Andreychyn MA, Bogadjelnykov IV, Vasylyeva NA, Vozianova Zhl, Golubovska OA, Ivahiv OL, et al., editors. [Viral diseases. HIV- infection / AIDS: Proceedings of the All-Ukrainian scientific-practical conference with international participation and plenum of Infectious Disease Association of Ukraine, 2013 Oct 3-4; Sudak, Ukraine. Ternopil: Ternopil State Medical University], Ukrmedknyga; 2013. – P. 88-89. Ukrainian.
6. Grinde B. Herpesviruses: latency and reactivation – viral strategies and host response [Internet]. *J Oral Microbiol.* 2013 Oct 25;5:22766:[about 9 p.]. Available from: <http://www.journaloforalmicrobiology.net/index.php/jom/article/view/22766/30743>.
7. Conde-Glez C, Lazcano-Ponce E, Rojas R, DeAntonio R, Romano-Mazzotti L, Cervantes Y, et al. Seroprevalences of varicella-zoster virus, herpes simplex virus and cytomegalovirus in a cross-sectional study in Mexico. *Vaccine.* 2013 Oct 17;31(44):5067-74.
8. Schaftenaar E, Verjans GM, Getu S, McIntyre JA, Struthers HE, Osterhaus AD, et al. High seroprevalence of human herpesviruses in HIV-infected individuals attending primary healthcare facilities in rural South Africa [Internet]. *PLoS One.* 2014 Jun

9. Reactivation of multiple viruses in patients with sepsis [Electronic resource] / A. H. Walton, J. T. Muenzer, D. Rasche [et al.] // PLoS One. – 2014. – Vol. 9, No. 2. – e98819. – Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4053360/pdf/pone.0098819.pdf>. – Title from the screen.
10. Translational approaches: From fatty liver to non-alcoholic steatohepatitis / N. Rosso, N. C. Chavez-Tapia, C. Tiribelli, S. Bellentani [Electronic resource] // World J. Gastroenterol. – 2014. – Vol. 20, No. 27. – P. 9038–9049. – Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4112858>. – Title from the screen.
11. Tilg H. Evolution of inflammation in nonalcoholic fatty liver disease : the multiple parallel hits hypothesis / H. Tilg, A. R. Moschen // Hepatology. – 2010. – Vol. 52, No. 5. – P. 1836–1846.
12. Poley R. A. Herpes simplex virus hepatitis in an immunocompetent adult : a fatal outcome due to liver failure [Electronic resource] / R. A. Poley, J. F. Snowdon, D. W. Howes // Case Rep. Crit. Care. – 2011 : 138341. – Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4010022/>. – Title from the screen.
13. An immunocompetent adult patient with hepatitis and guillain-barre syndrome after cytomegalovirus infection [Electronic resource] / Y. Ma, J. Feng, Y. Qi, X. G. Dou // Virology Journal. – 2011. – Vol. 8. – P. 95. – Available from : <http://www.virologyj.com/content/8/1/95>. – Title from the screen.
14. Acute hepatitis: a rare complication of Epstein-Barr virus (EBV) infection [Electronic resource] / M. Ulug, M. K. Celen, C. Ayaz [et al.] // J. Infect. Dev. Ctries. – 2010. – Vol. 4, No. 10. – P. 668–673. – Available from: <http://www.jidc.org/index.php/journal/article/view/21045362/456>. – Title from the screen.
15. Melchjorsen J. Activation and evasion of innate antiviral immunity by herpes simplex virus [Electronic resource] / J. Melchjorsen, S. Matikainen, S. R. Paludan // Viruses. – 2009. – Vol. 1, No. 3. – P. 737–759. – Available from: <http://www.mdpi.com/1999-4915/1/3/737/htm>. – Title from the screen.
- 10;9(6):e99243:[about 7 p.]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4051661/pdf/pone.0099243.pdf>.
9. Walton AH, Muenzer JT, Rasche D, Boomer JS, Sato B, Brownstein BH, et al. Reactivation of multiple viruses in patients with sepsis [Internet]. PLoS One. 2014 Jun 11;9(2):e98819:[about 13 p.]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4053360/pdf/pone.0098819.pdf>.
10. Rosso N, Chavez-Tapia NC, Tiribelli C, Bellentani S. Translational approaches: From fatty liver to non-alcoholic steatohepatitis [Internet]. World J Gastroenterol. 2014 Jul 21;20(27):9038-9049. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4112858>.
11. Tilg H, Moschen AR. Evolution of inflammation in nonalcoholic fatty liver disease : the multiple parallel hits hypothesis. Hepatology. 2010 Nov;52(5):1836-46.
12. Poley RA, Snowdon JF, Howes DW. Herpes simplex virus hepatitis in an immunocompetent adult : a fatal outcome due to liver accident [Internet]. Case Rep Crit Care. 2011 Dec 7;2011:138341:[about 4 p.]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4010022>.
13. Ma Y, Feng J, Qi Y, Dou XG. An immunocompetent adult patient with hepatitis and guillain-barre syndrome after cytomegalovirus infection [Internet]. Virology Journal. Virol J. 2011 Mar 4;8:95:[about 3 p.]. Available from : <http://www.virologyj.com/content/8/1/95>.
14. Ulug M, Celen MK, Ayaz C, Geyik MF, Hosoglu S. Acute hepatitis: a rare complication of Epstein-Barr virus (EBV) infection [Internet]. J Infect Dev Ctries. 2010 Oct 28;4(10):668-73. Available from: <http://www.jidc.org/index.php/journal/article/view/21045362/456>.
15. Melchjorsen J, Matikainen S, Paludan SR. Activation and evasion of innate antiviral immunity by herpes simplex virus [Internet]. Viruses. 2009 Dec;1(3):737-59. Available from: <http://www.mdpi.com/1999-4915/1/3/737/htm>.

Стаття надійшла до редакції 1.08.2014

Received: 1.08.2014