دراسة معدل انتشار و تاثير مقاومة الانسولين فى حالات الالتهاب الكبدى المزمن بفيروس سى نمط وراثى 4

رسالة مقدمة الى

كلية الطب – جامعة الاسكندرية

ايفاءا جزئيا لشروط الحصول على درجة

الدكتوراه

فى الميكروبيولوجيا الطبية و المناعة

من

سارة لطفى عبد اللطيف عصر

بكالوريوس الطب و الجراحة (الاسكندرية)

ماجستير الميكروبيولوجيا الطبية و المناعة

مدرس مساعد

بقسم الميكروبيولوجيا الطبية و المناعة (الاسكندرية)

كلية الطب

جامعة الاسكندرية

2015

المشرفون

ا.د. اميرة فتحى عامر

استاذ الميكروبيولوجيا الطبية والمناعة

كلية الطب- جامعة الاسكندرية

ا.د. منال محمد بدور

استاذ الميكروبيولوجيا الطبية والمناعة

كلية الطب- جامعة الاسكندرية

ا.د. محمد احمد صبحى الشاذلى

استاذ طب المناطق الحارة

كلية الطب- جامعة الاسكندرية

ا.د. جيلان عبد الشافى فضالى

استاذ الباثولوجى

معهد البحوث الطبية- جامعة الاسكندرية

المشرف المشارك

د. نسرين فتحى حنفى

استاذ مساعد الميكروبيولوجيا الطبية والمناعة

كلية الطب- جامعة الاسكندرية

و ذلك لخبرتها فى مجال البيولوجيا الجزيئية

لجنة الاشراف على الرسالة **موافقون**

ا.د. اميرة فتحى عامر
استاذ الميكروبيولوجيا الطبية والمناعة .....
كلية الطب- جامعة الاسكندرية

ا.د. منال محمد بدور
استاذ الميكروبيولوجيا الطبية والمناعة .....
كلية الطب- جامعة الاسكندرية

ا.د. محمد احمد صبحى الشاذلى
استاذ طب المناطق الحارة .....
كلية الطب- جامعة الاسكندرية

ا.د. جيلان عبد الشافى فضالى
استاذ الباثولوجى .....
معهد البحوث الطبية- جامعة الاسكندرية

د. نسرين فتحى حنفى
استاذ مساعد الميكروبيولوجيا الطبية والمناعة .....
كلية الطب- جامعة الاسكندرية

التاريخ

دراسة معدل انتشار و تاثير مقاومة الانسولين فى حالات الالتهاب الكبدى المزمن بفيروس سى نمط وراثى 4

مقدمة من

سارة لطفى عبد اللطيف عصر

بكالوريوس الطب و الجراحة (الاسكندرية 2003)

للحصول على درجة الدكتوراه

فى الميكروبيولوجيا الطبية والمناعة

لجنة المناقشة و الحكم على الرسالة	موافقون
ا.د. فائقة محمود غنيم استاذ الميكروبيولوجيا الطبية والمناعة كلية الطب- جامعة الاسكندرية	.....
ا.د. اميرة فتحى عامر استاذ الميكروبيولوجيا الطبية والمناعة كلية الطب- جامعة الاسكندرية	.....
ا.د. محمد عبد الرازق الفراش استاذ الميكروبيولوجيا الطبية والمناعة كلية الطب- جامعة المنصورة	.....
ا.د. منال محمد بدور استاذ الميكروبيولوجيا الطبية والمناعة كلية الطب- جامعة الاسكندرية	.....

التاريخ

AKNOWLEDGEMENT

Thanks to Allah who enabled me to accomplish this work.

I would like to express my deep thanks and sense of gratitude to ***Prof. Amira Amer*** *for her valuable advice, continuous guidance and meticulous supervision.*

A special word of gratitude to ***Prof. Manal Baddour*** *for her unlimited support, endless co-operation and valuable guidance.*

I am also so grateful for ***Prof. Mohamed El-Shazly*** *for his generous efforts and valuable support.*

I am deeply indebted to ***Prof. Geylan Fadali*** *for her generous advice and constructive supervision.*

I would also like to express my deep gratitude to ***Assistant Prof. Nesrine Hanafi*** *for her unmatched cooperation and endless guidance.*

It is also my pleasure to extend my gratitude to all members of the Medical Microbiology Department and my colleagues for their sincere help and support.

I would also like to include my beloved family in this word of gratitude for their support and encouragement.

CONTENTS

AKNOWLEDGEMENT	i
CONTENTS	ii
LIST OF TABLES	iii
LIST OF FIGURES	v
ABBREVIATIONS	vii
INTRODUCTION	1
AIM OF THE WORK	46
SUBJECTS	47
METHODS	49
RESULTS	62
DISCUSSION	77
SUMMARY	87
CONCLUSIONS	89
RECOMMENDATIONS	90
REFERENCES	91
PROTOCOL	
ARABIC SUMMARY	

LIST OF TABLES

Table	Page
Table (1): Functions and molecular weight of HCV proteins	6
Table (2): Risk factors for chronic Hepatitis C	12
Table (3): Risk factors for development of cirrhosis in HCV infection	13
Table (4): Hepatitis C regional prevalence	15
Table (5): Definitions of virologic response to HCV treatment	29
Table (6): Protocol of HCV genotype amplification	53
Table (7): Flourescence channels in RT-PCR HCV genotyping	54
Table (8): Results of amplification of control samples.	54
Table (9):Demographic characteristics of the study subjects	62
Table (10):Body Mass Index and Lipid profile of the studied genotype 4 CHC patients	63
Table (11): Distribution of the studied cases according to Histopathological findings	64
Table (12):Basal Viral load among the studied genotype 4 Chronic Hepatitis C group of patients	65
Table (13):HOMA-IR values of the studied genotype 4 CHC patients and control subjects	66
Table (14): Univariate analysis of correlations between Pre-treatment HOMA-IR and clinical and biological variables in the studied genotype 4 CHC patients	68
Table (15): Linear regression analysis for factors associated with high pre-treatment HOMA-IR in patients with genotype 4 CHC	69
Table (16): Pretreatment variables associated with end of treatment response in genotype 4 CHC patients receiving pegylated interferon and ribavirin	71

Table (17): Multivariate logistic regression analysis for factors affecting end-of-treatment response in genotype 4 CHC patients receiving pegylated interferon and ribavirin	72
Table (18): Relationship between pretreatment values of HOMA-IR and response to therapy in patients with genotype 4 chronic hepatitis C infection	73
Table (19): Comparison between HOMA-IR values at the start of therapy, after 12 weeks and after 48 weeks of therapy in cEVR group of patients	74
Table (20): Relation between IHC and Pre-treatment HOMA-IR	75

LIST OF FIGURES

Figure	Page
Figure (1): HCV genomic organization, polyprotein processing and functions of mature HCV proteins	1
Figure (2). Topological arrangements of HCV proteins	2
Figure (3): HCV Replication Cycle	7
Figure (4): Components of HCV antiviral immune response	8
Figure (5): Natural history of HCV	11
Figure (6): Hepatitis C global prevalence	15
Figure (7): Global HCV distribution according to genotypes	16
Figure (8): HCV genotype distribution in Egypt	17
Figure (9): Algorithm of management of HCV infection	30
Figure (10): Pathophysiology of development of insulin resistance in HCV patients	42
Figure (11): AmpliSens®/*HCV*-FRT PCR genotyping kit	50
Figure (12): Real-Time PCR Applied Biosystems StepOne Instrument	54
Figure (13): Amplification plot of HCV isolates of genotype	55
Figure (14): RT-PCR COBAS Ampliprep instrument	56
Figure (15): Cobas e immunoassay analyzers	58
Figure (16): Liver section showing severe degree of macrosteatosis and lymphocytic infiltration.	63
Figure (17): Liver section showing absent steatosis with minimal degree of lymphocytic infiltration.	64
Figure (18):Basal Viral load among the studied genotype 4 Chronic Hepatitis C group of patients	65
Figure (19):HOMA-IR values of the studied genotype 4 CHC patients and control subjects	67
Figure (20):Correlation between pre-treatment HOMA-IR and basal viral load	69

Figure (21): Work flow chart of genotype 4 CHC patients included in the study	70
Figure (22): Immunohistochemistry for IRS-1	76

LIST OF ABBREVIATIONS:

AMPK	AMP-activated Protein Kinase
CAP/ATM	COBAS AmpliPrep/ Cobas TaqMan HCV Test
cEVR	Complete early Virological Responder
CHC	Chronic Hepatitis C
DAA	Directly Acting Antiviral
DC	Dendritic cells
EVR	Early Virological Response
ETR	End of Treatment Response
EDHS	Egyptian Demographic Health Survey
E1 and E2	Envelope glycoproteins
F	Frameshift
FDA	Food and Drug Administration
HBV	Hepatitis B virus
HCV	Hepatitis C virus
HCC	Hepatocellular Carcinoma
HOMA-IR	Homeostatic Model Assessment- Insulin resistance
HVR-1	Hypervariable Region 1
IFN	Interferon
IFN/RBV	Interferon/Ribavirin
IHC	Immunohistochemistry
IRS-1 and 2	Insulin Receptor Substrate
IMPDH	Inosine monophosphate dehydrogenase
IRES	Internal Ribosomal Entry Site
MHC	Major Histocompatibility Index
MVA	Modified Vaccinia Ankara
mRNA	Messenger RNA
NALD	Non Alcoholic Liver Disease
NS	Non-structural
Peg IFN	Pegylated Interferon
pEVR	Partial early virological responder
PTP	Protein Tyrosine Phosphatase
RT-PCR	Real Time PCR
RVR	Rapid virological responder
SIR	Systemic Inflammatory Response
SOCS-3	Suppressor of cytokine signaling 3
SNP	Single nucleotide polymorphism
STAT-C	Specifically targeted antiviral therapy
SVR	Sustained Virological Responder
TMA	Transcription Mediated Amplification
TNF-α	Tumour necrosis factor α