

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

رسالة مقدمة الى

كلية الطب – جامعة الاسكندرية

ايفاء 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 فتحي 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. نسرین فتحي حنفى

استاذ مساعد الميكروبيولوجيا الطبية والمناعة

كلية الطب- جامعة الاسكندرية

و ذلك لخبرتها فى مجال البيولوجيا الجزيئية

لجنة الاشراف على الرسالة

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. نسرین فتحى حنفى

استاذ مساعد الميكروبيولوجيا الطبية والمناعة
كلية الطب- جامعة الاسكندرية

موافقون

.....

.....

.....

.....

.....

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

موافقون

.....

.....

.....

.....

لجنة المناقشة و الحكم على الرسالة

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

ACKNOWLEDGEMENT

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

<u>Table</u>	<u>Page</u>
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): Fluorescence 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

<u>Figure</u>	<u>Page</u>
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