

فك شفرة الآلية الجزيئية لمقاومة مرضي التهاب الكبد الفيروسي C لعقار النترفيرون

محمد هارون حامد

إشراف

أ.د. محمد اشتياق قادري

أ.د. صالح بن عبد العزيز الكريم

المستخلص

تحتوي العينة الجينية الايجابية للحمض النووي الربوزي لفيروس التهاب الكبد الوبائي (ج) حوالي ٩٦٠٠ نيوكلوفايد و يحددها ٥ و '٣ من المناطق الأونترانزلاتد (أوتر). أكثر من مائة وخمسين مليون شخص مصابون بشكل مزمن بفيروس التهاب الكبد الوبائي على الصعيد العالمي وأكثر من نصف مليون شخص يموتون بسبب مضاعفات فيروس التهاب الكبد الوبائي ج سنويا. ويتراوح انتشار فيروس التهاب الكبد الوبائي في المملكة العربية السعودية بين ١,٠-١,٩٪. وقد اقترحت الدراسة الحالية لتحديد الأنماط الجينية المتمثلة في عينات المرضى المصابين بفيروس التهاب الكبد الوبائي (ج) في المملكة العربية السعودية وكيفية تأثير الجهاز المناعي على الاستجابات بواسطة علاج الإنترفيرون. أسباب متعددة ترتبط بمقاومة المرض للعلاج على سبيل المثال، الجوانب الفيروسية، صفات المضيف (الجهاز المناعي) وكيف يمكن لهذه العوامل تمنع مسارات إشارة (IFN). تم دراسة المورثات الفيروسية عن طريق التسلسل النيوكلوفايدي بينما تم قياس المناعية- مودولاتورس (immuno-modulators) بواسطة نظام لومينكس (Luminex system) على أساس تكنولوجيا xMAP. بالنسبة لكل من عمليتي المضاعفة والتسلسل النيوكلوفايدي، تم استخدام برايمرات عامة محددة بالمنطقة ٥ أوتر (5UTR) من فيروس التهاب الكبد الوبائي. كانت الناتج ٢٤٧bp ، والتي تمثل حوالي تسعين في المئة من منطقة 5UTR من فيروس التهاب الكبد الوبائي. تم العثور على طفرة غير مرادفة في مواقع مختلفة من هذه المنطقة. فيلوجينيتيكالي، UTR٥ المنطقة المتعلقة هكف النمط الجيني ٤، الغالبة في المملكة العربية السعودية. وأظهرت السيتوكينات مختلفة استجابة أعلى في الاستجابة الفيروسية المستدامة (SVR) المرضى بالمقارنة مع المتغيرات مقاومة. فيلوجينيتيكالي، UTR٥ المنطقة المتعلقة بنمط الجيني ٤ المتعلق بفيروس التهاب الكبد الوبائي، وهو الغالب في المملكة العربية السعودية. وأظهرت السيتوكينات المختلفة استجابة أعلى من استجابة مرضى sustained virological response (SVR) بالمقارنة مع المقاومات الاخرى. شملت الكيموكاينيز مثل يوتاكسين، رانيس، MIG، MIP-b١، IP-١٠ وبعض عوامل النمو مثل FGF, CSF-G, VEGF, HGF, IL-٧. نشاط المصل ألت يرتبط أيضا بشكل إيجابي مع المتغيرات المقاومة. نوع TH1 / Th2 من السيتوكينات والانترليوكين على سبيل المثال، g-IFN, IL-b١, IL-١٣, IL-١٥, IL-١٢-R and IL-٢-IL, RA١-IL، وعبر عنها تفاضليا بين المتغيرات المقاومة مقارنة مع المستجيبين للعلاج. ويمكن استخدام هذه العوامل الملاحظة من الممكن أن تستخدم كعلامات تنبيه لفيروس التهاب الكبد ج يمكن أن يكون الفحص المحتمل للسكان غير المستجيبين للعلاج مفيدا في نجاح العلاج.

Abstract

Deciphering the molecular mechanism of interferon resistance in HCV infected patients

Muhammad Haroon Hamed

Supervisors: Prof. Dr. Muhammad Ishtiaq Qadri

Prof. Dr. Saleh Abdulaziz Al-karim

The positive stranded RNA genome of hepatitis C virus is of approximately 9600 nucleotide and is flanked by the 5' and 3' untranslated regions (UTR). Over one hundred and fifty million people are chronically infected with HCV globally and more than half million people die due to complications of hepatitis C virus per year. Prevalence of HCV in Saudi Arabia ranges from 1.0-1.9%. The current study was proposed to determine genotypes of representative samples of hepatitis C virus (HCV) infected patients in Saudi Arabia and how immune system affects the interferon therapy responses. Diverse reasons are linked with resistance to the therapy for instance, viral aspects, host traits (immune system) and how these factors inhibit the IFN signaling pathways. Viral factors were studied by sequencing while immuno-modulators were measured by luminex system based on xMAP technology. For both amplification and sequencing, specific universal primers targeting 5UTR region of HCV were used. The resulted fragment was 247 bp, which represented about ninety percent of 5UTR region of HCV. Non-synonymous mutation were found in different positions of this region. Phylogenetically, 5UTR region related to HCV genotype 4, predominant in Saudi Arabia. Different cytokines showed higher response in sustained virological response (SVR) patients as compared to resistant variants. The differentially expressed factors included chemokines like EOTAXIN, RANTES, MIG, MIP-1b, IP-10 some growth factors like FGF, G-CSF, VEGF, HGF, IL-7. Serum ALT activity also positively correlated with the resistant variants. Th1/Th2 type of cytokines and interleukins for instance, IFN-g, IL-1b, IL-13, IL-15, IL-1RA, IL-2R and IL-12 expressed differentially among resistant variants compared to responders. These observed factors could be used as prognostic markers for HCV. The possible screening of the non-responder population before the treatment could be helpful in the success of therapy.