الجمهورية اليمنية
جامعة صنعاء
نيابة الدراسات العليا والبحث العلمي

كلية العلوم
قسم العلوم الحياتية
شعبة الأحياء الدقيقة

Evaluation of Humoral Immune Response among Chronic Hepatitis C Patients in Ibb Governorate, Yemen

تقييم الاستجابة المناعية الخلطية بين مرضى التهاب الكبد الفيروسي المزمن النمط "ج" في محافظة اب – اليمن

الباحث: عمرو محمد صالح العودي

المشرف

د. بشيـــر احمد العفيري

أستاذ الميكروبيولوجي الطبي المشارك

شعبة الميكروبيولوجي - قسم العلوم الحياتية

كلية العلوم – جامعة صنعاء

1445هـ - 2024م

Abstract

Background: Hepatitis C Virus causes chronic infections and represents a global health burden, the host immune response to HCV infection is composed of both a non-specific (innate) immune response and a specific (adaptive) immune response, including humoral and cellular components, susceptibility to HCV infection has been related to immunological disorders of both cellular and humoral of innate and adaptive immunity.

Aims of the Study: The present study was designed to evaluate: (1) The humoral adaptive immune response Serum levels of Immunoglobulins (IgA, IgG, IgM). (2) The humoral innate immune response Serum levels of complements (C) components (C3, C4) levels among patients with chronic Hepatitis C infections. (3) Explore the correlation between serum immunoglobulins (IgA, IgG, IgM) and complements (C3, C4) levels with the clinical status (Virological & Biochemical markers) and antiviral treatment.

Materials and Methods: The current an observational (case-control) study was carried out during the period from November 2022 to December 2023. This study was designed to include three groups: **The First group**: included 50 chronic hepatitis C patients who did not receive HCV treatment designated as **(CHC-NTR), the second group**: included 50 patients with chronic hepatitis C who received anti-HCV treatment designated as **(CHC-TR) and the third group**: included 50 healthy individuals as a normal control designated as **(NC).** all patients were matched through gender and age, and a questionnaire was designed for (Sociodemographic data and medical history of the patients, such as name, age, sex, residency, marital status, duration of infection, and family history … etc), All information and samples were taken for each participant by ethically approved.

Approximately 10 ml of venous blood was collected from each participant, 5 ml of blood Serum was collected for the detection of viral markers (anti-HCV virus antibodies and hepatitis B surface antigen), as well as for the detection of immunological markers (IgM, IgG, IgA, C3 and C4). In addition, 3 ml of blood serum was collected for detection of liver function tests (alanine aminotransferase (ALT), albumin, and total bilirubin. Finally, 2 ml whole blood was collected in an EDTA tube for the detection of real-time chain reaction (RT-PCR) of HCV RNA.

Results: The results showed that the mean level of Log 10 RNA level was 6.0±1.57 IU/ml for CHC-NTR; this parameter was diminished within the treated group to an undetectable level.

The mean level of IgG (1834.6±442.4) and (1465.2±343.9), IgA (310.8±204.8) and (252.3±144.5) and complement component C3 (145.7±49.1) and (148.1±51.1) were significantly higher ($P<0.05$) among CHC-NTR and CHC-TR respectively than control. Despite no significant difference for IgM and complement component C4 ($P>0.05$), they exhibited a higher level among CHC patients than healthy controls.

The association between HCV infection status and the age group (31-40 years) (28%) and (50 years and up) (51%) was significant ($P<0.001$) whereas in age group 18-30 was (21%). HCV infection likelihood was increased among illiterates (56%). Qat chawing habit increased the odds to of HCV infection; Odd ratio (12.429).

Anti-HCV positivity was positively correlated with ages, Log 10 HCV RNA and bilirubin. Positive correlation was also reported with IgG, IgA and C3. Log 10 HCV RNA were positively correlated with ages ($r=0.229$), Anti-HCV($r=0.417$), IgG ($r=0.542$), IgA ($r=0.243$) and bilirubin ($r=0.451$) at ($P<0.05$). Positive correlation also was detected among IgG with age

(r=0.400), ALT(r=0.343), bilirubin (r=0.333), anti-HCV (r=0.421), Log10 HCV RNA, IgM (r=0.286), IgA(r=0.484) and C3 (r=0.163). Whereas IgA was correlated to age (r=0.498), bilirubin (r=0.172), anti-HCV(r=0.417) and Log10 HCV RNA(r=0.243). Albumin show negative correlation with many variables in this study.

Finally, C3 levels was correlated to anti-HCV antibody and C4 also, the immunological markers IgG, IgA and C3 were positively correlated with anti-HCV.

Conclusion: based on our results, the humoral markers of innate and adaptive immune responses in chronic HCV infection were elevated above the normal range. The humoral components; immunoglobulins (IgG and IgA) and complement components (C3 and C4) were increased in chronic HCV infected patients, treatment caused a slight decrease in their levels, despite the number of doses patients received. These variables were mostly correlated directly with each other, and log 10 RNA reflects their coordinated actions in active infection. Active infection showed high ALT and bilirubin. These humoral components increase with time, and most of them were positively correlated with the patient's age.

الملخص العربي

يسبب فيروس التهاب الكبد النمط (ج) (HCV) عدوى مزمنة ويمثل مشكلة صحيًة عالمية، وتتكون الاستجابة المناعية لعدوى فيروس التهاب الكبد النمط (ج) من استجابة مناعية غير متخصصة، تشمل هذه الاستجابة المناعية إنتاج الإنترفيرون (IFN) ونشاط الخلايا القاتلة الطبيعية (NK)، واستجابة مناعية خاصة بالفيروس، تشمل المكونات الخلطية والخلوية. ترتبط القابلية للإصابة بالاضطرابات المناعية. العديد من الدراسات اشارت الى حدوث اضطرابات في المناعة الخلوية والخلطية في الأشخاص المصابين بفيروس التهاب الكبد النمط (ج) المزمن.

لذلك، صممت هذه الدراسة لتقييم الاستجابة المناعية المكتسبة الخلطية من خلال الكشف عن مستويات الغلوبولين المناعي في الدم (IgA، gG ،IgM) لدى مرضى فيروس التهاب الكبد النمط (ج) المزمن والاستجابة المناعية الفطرية الخلطية من خلال الكشف عن مستويات بروتينات المتمم في المصل (C٣، C٤) بين المصابين بفيروس التهاب الكبد النمط (ج) المزمن. كذلك هذه الدراسة صممت لاستكشاف العلاقة بين مستويات الغلوبولين المناعي في الدم (IgM، IgG، IgM) والمكملات (C٣، C٤) مع الحالة السريرية (العلامات الفيروسية والكيموحيوية) والعلاج بالمضادات الفيروسية.

أجريت هذه الدراسة خلال الفترة من نوفمبر ٢٠٢٢ إلى ديسمبر ٢٠٢٣.تم تصميم هذه الدراسة لتشمل ثلاث مجموعات. ضمت المجموعة الأولى ٥٠ مريضاً مصاباً بفيروس التهاب الكبد النمط (ج) المزمن الغير معالجين بالمضادات الفيروسية. ضمت المجموعة الثانية ٥٠ مريضاً مصابين بعدوى فيروس التهاب الكبد النمط (ج) المزمن المعالجين بمضادات فيروس التهاب الكبد النمط (ج). اما المجموعة الثالثة ضمت ٥٠ فرداً من الأصحاء كمجموعة ضابطة.

تم تصميم استبيان واستخدامه لجمع البيانات الاجتماعية والديموغرافية والتاريخ الطبي للمرضى، مثل الاسم والعمر والجنس ومكان الإقامة والحالة الاجتماعية ومدة الإصابة والتاريخ العائلي.. إلخ.

تم جمع ١٠ مل من الدم من كل المشاركين. ٥ مل من الدم لتحضير المصل الذي تم استخدامه لإجراء فحوصات تشخيص الاصابة الفيروسية التي شملت الأجسام المضادة لفيروس التهاب الكبد النمط (ج) وكذلك للكشف عن المؤشرات المناعية (IgM, IgG, IgA, C3 and C4) و٣ مل لإجراء فحوصات وظائف الكبد (ALT)، الألبومين والبيليروبين الكلي. ٢ مل من الدم الكامل تم استخدامه لإجراء فحص البلمرة المتسلسل (RT-PCR) للمادة الوراثية (HCV-RNA).

أظهرت النتائج أن متوسط مستوى الاجسام المضادة فيروس التهاب الكبد النمط (ج) كان أعلى بكثير بين المصابين الغير معالجين (٢٣ ± ١٥,٩ وحدة دولية/لتر). وكان مستوى Log10 RNA (٦,٠ ± ١,٥٧) وحدة دولية / مل؛ وقد انخفضت قيمة Log10 RNA في المصابين المعالجين إلى مستوى لا يمكن اكتشافه.

كما اظهرت النتائج ان متوسط مستوى IgG (1834.6±442.4) و (1465.2±343.9) وIgA (310.8±204.8) و (252.3±144.5) وC٣ (145.7±49.1) و (148.1±51.1) والتي كانت عالية عند قيمة دلالة احصائية (P<0.05) لدى المصابين بفيروس التهاب الكبد النمط (ج) المزمن الغير معالجين والمعالجين على التوالي مقارنة بالمجموعة الضابطة. وعلى الرغم من عدم وجود اختلاف مهم في متوسط مستوى IgM وC٤، الا ان المرضى المصابين بفيروس التهاب الكبد النمط (ج) المزمن اظهروا قيم اعلى مقارنة بالمجموعة الضابطة.

كان هناك علاقة ذو دلالة احصائية وعند قيمة (P<٠,٠٠١) بين حالة الإصابة بفيروس التهاب الكبد النمط (ج) والفئة العمرية (٣١-٤٠ سنة) (28%) و(٥٠ سنة فأكثر) (51%) بينما كانت نسبة الاصابة (21%) لدى الفئة العمرية من ١٨ الى ٣٠ سنة وزاد احتمال الإصابة بفيروس التهاب الكبد الوبائي بانخفاض المستوى التعليمي (٥٦%) لدى الاميين كما ان مضغ القات تزيد من احتمالات الإصابة بفيروس التهاب الكبد النمط (ج) (OR 12.429).

كان هناك ارتباط إيجابي ذو دلالة احصائية بين متوسط الاجسام المضادة لفيروس التهاب الكبد النمط (ج) و IgG وIgA وC٣ مع الاعمار و Log 10 HCV RNA والبيليروبين.

Log 10 HCV RNA ارتبط بشكل إيجابي ذو دلالة احصائية عند قيمة (P<0.05) مع الأعمار(r=0.229)، مستوى الاجسام المضادة لفيروس التهاب الكبد النمط (ج) (r= 0.417)، وIgG (r=0.542) وIgA (r=0.243) والبيليروبين (r=0.451) .

كما تم ايجاد ارتباط إيجابي بين IgG مع العمر (r=0.400)، وALT (r=0.343) والبيليروبين (r=0.333) مستوى الاجسام المضادة لفيروس التهاب الكبد النمط (ج) (r=0.421)، وLog١٠ HCV RNA وIgM (r=0.286) وIgA (r=0.481) وC٣ (0.163).

في حين كان IgA مرتبطًا بشكل ايجابي بالعمر (r=0.498) والبيليروبين (r= 0.172) ومستوى الاجسام المضادة لفيروس التهاب الكبد النمط (ج) (r=0.417) وLog١٠ HCV RNA (r=0.243) كما اظهر الألبومين ارتباطا سلبيا مع العديد من المتغيرات في هذه الدراسة. أخيرًا،

اظهرت نتائج الدراسة ان هناك ارتباط ايجابي بين C٣ مستوى الاجسام المضادة لفيروس التهاب الكبد النمط (ج) وC4.

بناء على النتائج التي توصلنا إليها، كانت المؤشرات الخلطية للاستجابات المناعية الطبيعية والمكتسبة في عدوى فيروس التهاب الكبد النمط (ج) المزمن مرتفعة فوق المعدل الطبيعي. هناك زيادة في المؤشرات المناعية (IgG وIgA وC٣ وC4) في المرضى المصابين بفيروس التهاب الكبد النمط (ج) المزمن وانخفضت مستويات هذه المؤشرات انخفاضا طفيفا في الاشخاص المعالجين. كانت هذه المتغيرات مرتبطة في الغالب بشكل مباشر مع بعضها البعض، كما ان Log10 RNA ايضا يوضح زيادة المؤشرات المناعية في العدوى النشطة. أظهرت العدوى النشطة ارتفاع ALT والبيليروبين. وتزداد المؤشرات المناعية الخلطية مع مرور الوقت، ويرتبط معظمها بشكل إيجابي مع العمر.