

**The Republic of Iraq
Ministry of Higher Education
and Scientific Research
University of Mosul / College of Sciences
Department of Biology**



Serological Evaluation of Inflammatory Cytokines and their Correlation with Liver Function Markers in Patients with Chronic Hepatitis C.

Arwa Hamzah Abbas Alikh

Ph.D. Thesis

Biology /Microbiology

Supervised By

Prof. Dr. Hiyam Adil Al-Taee

2023 A.D

1444 A.H

Abstract

The current study consisted of 44 patients infected with chronic hepatitis C (CHC) aged between 16 to 57 years, and 40 apparently healthy individuals aged between 18 and 54 years.

Samples were collected from Azadi, Golan and Bedare hospitals in Dohuk, Aqrah and Zakho respectively, in addition to the dialysis and thalassemia units in Aqrah, over a period stretching from October 2020 until December 2021.

Patients who received medications for hepatitis C virus (HCV) infection, immunocompromised individuals and alcoholics were all excluded.

Tests for Hepatitis B surface Ag (HBsAg) and Human Immunodeficiency Virus (HIV) Ab IgM/Ag p24 combination were performed for the patient's group to exclude co-infection.

The healthy group individuals proved negative for HCV and HBV and have neither medical history of liver disease nor history of alcohol consumption.

Serum/plasma levels of the following parameters were assessed for both groups: Anti-HCV Antibodies, HCV Nucleic Acid Test (NAT), Interleukin-6, Interleukin-10, Interferon- γ , Alanine Transaminase (ALT), Aspartate Aminotransferase (AST), Alkaline Phosphatase (ALP), Total Bilirubin, and Albumin.

All the aforementioned tests were performed in duplicates in both groups.

Results were analyzed using SPSS, Version 26 (2018).

Estimation of inflammatory cytokines levels revealed the followings:

IL-6 mean serum level was significantly higher ($p < 0.0001$) in CHC patients as opposed to healthy controls. In addition, IL-10 mean serum level was also much higher ($p < 0.0001$) in CHC patients than in healthy controls. Moreover, IFN- γ mean serum level was significantly higher ($p < 0.0001$) in CHC patients as compared to healthy controls.

Liver function markers analysis revealed the following:

The mean serum levels of ALT and AST were significantly higher ($p < 0.0001$) in CHC patients than in healthy controls. However, regarding ALP, total bilirubin and albumin, no significant differences ($p = 0.2, 0.3$ and 0.7 , respectively) were found in the mean serum levels in CHC patients and controls.

Both, age and gender insignificantly correlated with interleukins (6 and 10) and IFN- γ in both study groups.

A correlation test was preformed between IL-6, IL-10 and IFN- γ and liver function parameters, and the results were as follows:

IL-6 significantly directly correlated with ALT and AST ($r = 0.727$ and 0.697 , respectively); inversely correlated with total bilirubin ($r = -0.631$); and insignificantly correlated with ALP and albumin ($r = 0.275$ and 0.172 , respectively) in CHC patients. All correlations of IL-6 with liver function markers in healthy controls were statistically insignificant.

Regarding IL-10, it significantly correlated with ALT and AST ($r = 0.580$ and 0.652 , respectively); inversely correlated with total bilirubin ($r = -0.642$); and did not correlate with ALP and albumin ($r = 0.078$ and 0.022 , respectively) in CHC patients. All correlations of IL-10 with liver function markers in healthy controls were statistically insignificant.

Concerning IFN- γ , it significantly correlated with AST ($r = 0.527$); inversely correlated with total bilirubin ($r = -0.342$); and did not correlate with ALT, ALP and albumin ($r = 0.175, 0.111$ and -0.002 , respectively) in CHC patients. In healthy controls, IFN- γ insignificantly correlated with all except for ALT with which it significantly inversely correlated ($r = -0.410$).

This study found statistically significant differences in IL-6, IL-10 and IFN- γ serum levels in CHC patients vs. controls. Also a number of significant correlations were reported between the above mentioned cytokines and hepatic biochemical markers.

الملخص

تألفت الدراسة الحالية من 44 مريضاً مصاباً بالتهاب الكبد C المزمن تتراوح أعمارهم بين 16 و 57 عامًا ، و 40 من الأشخاص الأصحاء الذين تتراوح أعمارهم بين 18 و 54 عامًا. تم جمع العينات من مستشفيات آزادي وگولان وبيداري في دھوك و عقرة و زاخو على التوالي ، بالإضافة إلى وحدات غسيل الكلى والثلاسيما في عقرة ، و على مدى فترة امتدت من أكتوبر 2020 حتى ديسمبر 2021. تم استبعاد جميع المرضى الذين تلقوا أدوية لعدوى التهاب الكبد الفيروسي ، والذين يعانون من ضعف المناعة والذين يستهلكون الكحول. تم إجراء اختبارات HBsAg و HIV Ab IgM/Ag p24 لمجموعة المرضى لاستبعاد العدوى المشتركة. ثبت أن أفراد المجموعة الأصحاء سلبيون بالنسبة لفيروس التهاب الكبد الوبائي وفيروس التهاب الكبد الوبائي وليس لديهم تاريخ طبي لأمراض الكبد ولا تاريخ من استهلاك الكحول. تم تقييم مستويات المصل / البلازما للمعطات التالية لكلا المجموعتين: HCV RNA Real Time-Polymerase Chain reaction ، Anti-Hepatitis C virus Ab ، Alanine transaminase ، Interferon- γ ، Interleukin-10 ، Interleukin-6 ، Aspartate Aminotransferase ، Akaline Phosphatase ، Total Bilirubin و Albumin. تم إجراء جميع الاختبارات المذكورة أعلاه على مرتين في كلا المجموعتين. تم تحليل النتائج باستخدام برنامج SPSS ، الإصدار 26 (2018). كشف تقدير مستويات السيتوكينات الالتهابية ما يلي: كان متوسط المستوى المصلي ل IL-6 أعلى بشكل ملحوظ ($p < 0.0001$) في المرضى المصابين بشكل مزمن بفايروس التهاب الكبد C مقارنة بالأشخاص الأصحاء (7.05 مقابل 1.11 بيكوغرام / مل ، على التوالي). بالإضافة إلى ذلك ، كان متوسط المستوى المصلي ل IL-10 أعلى بكثير ($p < 0.0001$) في المرضى مقارنة بالأشخاص الأصحاء (43.04 مقابل 1.77 بيكوغرام / مل ، على التوالي). علاوة على ذلك ، كان متوسط المستوى المصلي ل IFN- γ أعلى بشكل ملحوظ ($p < 0.0001$) في المرضى مقارنة بالأصحاء (7.93 مقابل 2.56 بيكوغرام / مل ، على التوالي). أظهر فحص مؤشرات وظائف الكبد ما يلي: كان متوسط المستويات المصلية ل ALT و AST أعلى بشكل ملحوظ ($p < 0.0001$) في المرضى مقارنة بالأصحاء (73.94 مقابل 21.82 U/L ؛ 62.32 مقابل 28.30 U/L ، على التوالي). فيما يتعلق بـ ALP ، و total bilirubin و albumin ، لم يتم العثور على فروق ذات دلالة إحصائية (0.2 ، 0.3 and 0.7 ، $p = 0.2$ ، على التوالي) بين متوسط مستوياتهم المصلية في المرضى

والأصحاء (74.90 مقابل 80.85 U/L ، 0.86 مقابل 0.78 mg/dl و 4.31 مقابل 4.26 g/dl ، على التوالي).

لم تجد الدراسة الحالية ارتباطاً ذات دلالة إحصائية مهمة بين العمر والجنس من جهة و بين IL-6, IL-10 and IFN- γ من جهة أخرى في مجموعتي المرضى والأصحاء. تم إجراء اختبار الارتباط بين مؤشرات IL-6 و IL-10 و IFN- γ ووظائف الكبد ، وكانت النتائج على النحو التالي:

ارتبط IL-6 ارتباطاً وثيقاً بـ ALT و AST ($r = 0.727$ and 0.697 ، على التوالي) ؛ يرتبط عكسياً بـ total bilirubin ($r = -0.631$) ؛ وارتبط ارتباطاً وثيقاً بـ ALP و total bilirubin ($r = 0.275$ and 0.172 ، على التوالي) في مجموعة المرضى. كانت جميع الارتباطات بين IL-6 وعلامات وظائف الكبد في مجموعة الأصحاء ذات دلالة إحصائية غير مهمة. فيما يتعلق بـ IL-10 ، فقد ارتبط ارتباطاً وثيقاً بـ ALT و AST ($r = 0.580$ and 0.652 ، على التوالي) ؛ ارتبط عكسياً بـ total bilirubin ($r = -0.642$) ؛ ولم يرتبط بـ ALP و albumin ($r = 0.078$ and 0.022 ، على التوالي) في مجموعة المرضى. كانت جميع الارتباطات بين IL-10 وعلامات وظائف الكبد في مجموعة الأصحاء ذات دلالة إحصائية غير مهمة. فيما يتعلق بـ IFN- γ ، فقد ارتبط ارتباطاً وثيقاً بـ AST ($r = 0.527$) ؛ ارتبط عكسياً بـ total bilirubin ($r = -0.342$) ؛ ولم يرتبط بـ ALT و ALP و albumin ($r = 0.175$, 0.111 and -0.002 ، على التوالي) في مجموعة المرضى. أما في مجموعة الأشخاص الأصحاء ، فلم يرتبط IFN- γ مع أي من معلمات وظائف الكبد باستثناء ALT الذي ارتبط به ارتباطاً عكسياً بشكل كبير ($r = -0.410$).

وجدت هذه الدراسة فروقات ذات دلالة إحصائية مهمة في المستويات المصلية لـ IL-6 , IL-10 و IFN- γ في مجموعة المرضى مقارنة بمجموعة الأصحاء . كما تم إيجاد عدد من الارتباطات المعنوية المهمة بين السيتوكينات المذكورة اعلاه وبين المؤشرات البيوكيميائية للكبد.



جامعة الموصل
كلية العلوم
قسم علوم الحياة

التقييم المصلي للساييتوكينات
الالتهابية وعلاقتها مع مؤشرات وظائف
الكبد في المصابين بالتهاب الكبد
المزمن نوع C.

طالبة الدكتوراه
أروى حمزة عباس عليخ

بإشراف
أ.د. هيام عادل الطائي