

POLIMORFISMUL GENETIC AL INTERLEUKINEI 28B ÎN INFECȚIA CU VIRUSUL HEPATITIC C GENOTIPUL 1

MIRCEA DAN GRIGORESCU

Disciplina Genetică Medicală, UMF „Iuliu Hațieganu” Cluj-Napoca
Institutul Regional de Gastroenterologie și Hepatologie „Prof. Dr. O. Fodor”,
Cluj-Napoca

Rezumat

Descoperirea unor polimorfisme mononucleotidice (SNPs-uri) în vecinătatea genei IL 28B, care codifică interferonul $\lambda 3$, a fost strâns asociată cu clearance-ul spontan sau indus de tratament în infecția virală C. Aceasta a reprezentat un pas major spre abordarea personalizată a pacienților cu infecție virală C, cu tratamentul standard (PegIFN/Ribavirină).

În ciuda progreselor terapeutice înregistrate în prezent, care asociază un inhibitor de protează, reducând rolul evaluării polimorfismelor genetice ale IL 28B, acestea își păstrează rolul în anumite arii geografice, care se confruntă cu resurse financiare limitate. Identificarea polimorfismelor genetice ale IL 28B are încă un rol ca factor de predicție pentru răspunsul virusologic susținut (RVS) la pacienții aflați sub tratament standard dublu. De asemenea identificarea polimorfismelor IL 28B ar avea un rol în contextul triplei terapii, identificând pacienții care ar putea beneficia numai de dubla terapie sau pentru implementarea terapiei ghidate de răspuns.

Cuvinte cheie: infecția virală C, interleukina 28B, polimorfisme mononucleotidice, clearance-ul spontan sau indus de tratament.

IL 28B GENETIC POLYMORPHISM IN HEPATITIS C GENOTYPE 1 INFECTION

Abstract

The discovery of several nucleotide polymorphisms (SNPs) near the IL 28B gene, which encodes interferon $\lambda 3$, was strongly associated with spontaneous and treatment induced clearance of hepatitis C (HCV) virus infection. This was a major step toward a personalized approach in hepatitis C patients treated with standard of care (SOC: PegIFN/Ribavirin).

Despite the progress made in modern therapy that associates a protease inhibitor, diminishing the role of evaluation of IL28B SNPs, these preserve their role in some geographic areas with limited financial resources.

The identification of IL28B polymorphism may have a role as a predictive factor for sustained viral response (SVR) for patients receiving SOC. Also, IL28B polymorphism identification could have a role in the context of triple therapy, identifying patients that could benefit only from double therapy (SOC) or for the implementation of response-guided therapy in triple association.

Keywords: hepatitis C virus infection, interleukin 28B, single nucleotide polymorphisms, spontaneous and treatment-induced clearance.

Infecția cu virusul hepatitei C (VHC) continuă să reprezinte o preocupare majoră de sănătate publică, nu numai prin consecințele sale medicale, dar și prin prisma eforturilor financiare pe care le generează.

La nivel global infecția cu VHC interesează aproximativ 3% din populație, adică peste 170 milioane de persoane și anual se raportează 3-4 milioane de cazuri noi [1].

Evoluția naturală a infecției virale C cuprinde o largă paletă de modalități: clearance-ul spontan viral, limitat la cel mult 20-30% dintre infectați, infecția cronică, interesând 70-80% dintre pacienți, o parte fiind asimptomatici (aproximativ 30%), 40% având o evoluție lentă, cu forme moderate de boală, iar 30% evoluție progresivă spre ciroză, insuficiență hepatocelulară sau carcinom hepatocelular [2].

În ciuda remarcabilelor progrese înregistrate în tratamentul infecției VHC, de la interferonul standard (IFN) la cel pegilat (Peg IFN) asociat cu ribavirină (RBV), care reprezintă încă, pentru un număr mare de pacienți, standardul terapeutic (*standard of care: SOC*), răspunsul virologic susținut (RVS), echivalentul vindecării, a crescut de la 6% la 47-54%, diferențiat pentru genotipul 1: 42-52% și genotipurile 2,3: 76-84% [3].

Costul terapiei, efectele adverse potențiale, care reduc aderența la tratament au impulsat studiile care au ca scop identificarea factorilor predictivi ai răspunsului la tratament. Aceștia pot fi stratificați în patru categorii: factori dependenți de gazdă, de virus, de boala hepatică și de tratament.

Diferențele majore constatate între diferitele grupuri etnice și impredictibilitatea răspunsului la SOC au impulsat studiile dedicate identificării unor **factori genetici** care pot oferi un răspuns, deschizând astfel calea terapiei personalizate în infecția cronică virală C.

Progresele realizate în cadrul *Human Genome Project* și platformele tehnologice dezvoltate au făcut posibile studiile de asociere genomică la nivelul întregului genom uman (*Genome Wide Association Study - GWAS*). În cadrul acestuia se pot analiza sute de mii de variante genetice, cu scopul stabilirii unei asocieri dintre un anumit genotip și un fenotip definit [4].

Genomul uman conține peste 3,3 miliarde de perechi de baze și se apreciază că peste 10 milioane pot avea variații minore între diferiți indivizi, definite prin termenul de polimorfism mononucleotidic (*single nucleotide polymorphism: SNP*). Tehnicile GWAS identifică blocuri de SNPs (haplotipuri) sau regiuni genetice și nu gene, care se asociază cu anumite expresii fenotipice. Aceste polimorfisme pot avea ca efect modificarea expresiei genei, modificarea procesării produsului genei, a activității funcționale a produsului genei, cu influență asupra riscului de boală, eficienței terapeutice sau toxicității medicamentoase [5,6].

POLIMORFISMUL GENETIC AL INTERLEUKINEI 28B ÎN INFECȚIA VIRALĂ C GENOTIPUL 1

Pacienții cu infecții VHC genotip 1 fac parte din clasa pacienților „difil de tratat” având o rată scăzută a RVS. Problema este de mare actualitate în România, având în vedere faptul că un studiu multicentric național a evidențiat că genotipul 1b este aproape exclusiv la pacienții cu infecție cronică VHC [7].

În anul 2009 au apărut într-o succesiune rapidă mai multe publicații care au identificat un număr de SNPs localizate în vecinătatea genei IL 28B, asociate cu răspunsul la terapie în infecția cronică virală C. Polimorfismele IL 28B sunt SNPs-uri bialelice cu trei genotipuri posibile, două homozigote și unul heterozigot.

Cel mai convingător studiu derivă din investigațiile derulate în cadrul studiului IDEAL (8) și evidențiază șapte polimorfisme, dintre care rs12979860 reprezintă cel mai puternic factor predictiv pentru RVS (9) și clearance-ul spontan al infecției VHC acute (10). SNP rs12979860 este localizat pe brațul lung al cromozomului 19 (19q13), la 3 kb în amonte de gena IL 28B, care codifică interferonul lambda 3 (IFN $\lambda 3$) și prezintă o alelă majoră favorabilă C și o alelă nefavorabilă T.

Al doilea polimorfism rs8099917, asociat cu RVS, a fost descris în același an de Tanaka și colab. [11], Suppiah și colab. [12] și un an mai târziu de Rauch și colab. [13]. Polimorfismul rs8099917 este situat 7,5 kb în amonte față de codonul de start al IL 28B, în regiunea intergenomică IL 28A și IL 28B. În aceste studii alela favorabilă a fost alela T, iar cea nefavorabilă alela G, rezultând trei posibilități: homozigotismul T/T și G/G și heterozigotismul G/T.

Trebuie menționat faptul că platformele tehnologice pe care s-a lucrat în ultimele trei studii nu au inclus și determinarea polimorfismului rs12979860.

MECANISMUL PREZUMTIV DE ACȚIUNE AL POLIMORFISMELOR IL 28B

Genele IL 28A, IL28B și IL29, localizate pe cromozomul 19 codifică o familie de citokine, desemnate colectiv sub termenul de interferon λ .

Se individualizează astfel trei tipuri de IFN:

- tipul I, o superfamilie de citokine, codificate de genele situate pe cromozomul 9: IFN α , β , ψ și ϵ ;
- tipul II, care cuprinde interferonul γ , cu gena codantă pe cromozomul 12 și
- tipul III, cuprinzând IFN $\lambda 1$, codificat de gena IL 29, IFN $\lambda 2$, codificat de gena IL 28A și IFN $\lambda 3$, codificat de gena IL 28B, toate situate pe cromozomul 19 [15].

Din punct de vedere structural, interferonii λ aparțin mai curând superfamiliei de interleukină 10 (IL 10), dar din punct de vedere funcțional se comportă similar cu IFN de tip I [16]. Deși receptorul IFN λ este diferit de celelalte tipuri de IFN, mecanismul de acțiune intracelulară este similar cu cel al tipului I, respectiv calea JAK-STAT, determinând activarea expresiei genelor stimulate de

interferon (*interferon stimulated genes: ISG*) [17].

Interferonul λ are acțiune antivirală, inhibând replicarea VHC, atât prin stimularea expresiei ISG, cât și prin creșterea imunității celulare NK și citotoxicității celulare CD8+ antigen specifice [6].

Felul în care SNPs-urile IL 28B își exercită acțiunea antivirală rămâne discutabil. Studiile privind expresia IFN λ în celulele mononucleare periferice nu sunt concludente. Cele mai multe cercetări evidențiază faptul că în țesutul hepatic expresia ARN-ului mesager pentru IL 28B nu este diferită în funcție de genotipul IL 28B, dar se constată o expresie diferită a ISG.

S-a demonstrat că răspunsul terapeutic depinde de starea de activare a ISG. Supraexpresia ISG la start reprezintă un factor de răspuns slab la tratament [18]. Această constatare a stimulat studiul corelației dintre SNPs-urile IL 28B și expresia ISG, evidențiindu-se faptul că există o corelație între genotipurile favorabile (C/C, respectiv T/T) și cele nefavorabile (C/T, T/T, respectiv G/T, G/G) și starea preterapeutică a ISG [19].

Polimorfismul IL 28B ar putea influența funcția proteinei codate (respectiv IFN λ 3) sau legarea de receptor [20]. Rezultatul acestor modificări ar fi o expresie crescută a ISG la pacienții purtători ai alelelor nefavorabile și un răspuns antiviral scăzut, respectiv o expresie scăzută preterapeutică a ISG la pacienții cu genotip favorabil și un răspuns terapeutic bun [21]. Prezența unei viremii mai înalte preterapeutic la pacienții cu genotipul favorabil C/C ar fi în concordanță cu supoziția unei expresii scăzute a ISG [9].

IFN λ produce, de asemenea, o expresie mai susținută a ISG față de IFN α , iar administrarea în combinație are acțiune sinergică [21]. Genotipul IL 28B și expresia hepatică a ISG sunt considerate ca fiind cei mai puternici predictorii independenți ai răspunsului la tratament în infecția VHC [22].

IMPLICAȚIILE POLIMORFISMELOR IL 28B ÎN INFECȚIA VHC

Identificarea polimorfismelor IL 28B are implicații majore în infecția VHC.

Clearance-ul spontan viral în infecția acută VHC

În evoluția naturală a infecției VHC clearance-ul viral este o raritate, iar evoluția spre cronicizare este majoritară. Asocierea genotipului homozigot IL 28B C/C cu clearance-ul spontan al VHC a fost semnalată în investigații care au studiat atât polimorfismul IL 28B rs12979860 [10], cât și IL 28B rs 8099917 [13]. Purtătorii genotipului homozigot IL 28B C/C **au prezentat un clearance spontan** de trei ori mai mare față de genotipurile C/T sau T/T [23].

Analiza clinică a infecției acute VHC a relevat faptul că pacienții simptomatici și/sau icterici realizează mai frecvent clearance-ul viral față de cei asimptomatici. În analiza de corelație genotip-expresie clinică, genotipul

IL28 C/C a prezentat clearance viral spontan în peste 50% din cazuri, indiferent de contextul clinic de prezentare, genotipul T/T în mai puțin de 10% din cazuri indiferent de contextul clinic, iar cel C/T a avut comportament diferit: 50% clearance la pacienții icterici și doar 20% la anicterici. Astfel, icterul apare ca o condiție necesară pentru clearance-ul spontan la pacienții IL 28B non C/C [23]. Se presupune că pacienții cu icter au un răspuns imun mediat celular mai puternic față de cei anicterici și acesta ar favoriza clearance-ul imun al hepatocitelor infectate [24].

Constatările menționate au aplicații practice importante. Se propune ca pacienții cu infecție acută VHC să fie genotipați pentru polimorfismul IL 28B. În cazul genotipului favorabil C/C pentru polimorfismul IL 28B rs12979860 sau T/T pentru polimorfismul IL 28B rs8099917, pacienții viremici se pot menține sub observație pe o durată de 12-24 săptămâni pentru a se realiza clearance-ul spontan. Dacă pacienții prezintă genotipurile nefavorabile (C/T sau T/T, respectiv G/T sau G/G) conduita diferă în funcție de simptomatologie. Dacă pacientul este simptomatic și/sau icteric se continuă observația, dar nu mai mult de 12-24 săptămâni după expunere, iar dacă este asimptomatic se instituie tratamentul imediat, având în vedere șansele minime de clearance spontan [23,25].

Polimorfismul IL 28B și răspunsul la tratamentul PegIFN/RBV (SOC)

Eradicarea virală se exprimă prin RVS, adică menținerea negativării ARN-VHC la 24 săptămâni de la sfârșitul tratamentului și este echivalentă cu vindecarea [26].

Cercetările derivate din studiul IDEAL [8] au evidențiat că pacienții cu polimorfismul IL 28B rs12979860 au avut un RVS de două ori mai mare la caucazieni și hispanici și de trei ori mai mare la afro-americieni [9]. În analiză multivariată polimorfismul IL 28B C/C este cel mai puternic predictor al RVS pentru toate grupurile etnice, urmat de încărcătura virală la start (< 600.000 UI/ml) și stadiul fibrozei [9]. Diferențele de răspuns între grupurile etnice se datorează distribuției geografice neuniforme ale alelei favorabile C, în ordine descrescătoare: Asia de Est, Europa, Africa și respectiv afro-americieni [10]. Diferențele de frecvență ale alelei C între diferitele grupuri etnice ar explica 50% dintre diferențele ratelor de RVS constatate între caucazieni și afro-americieni, rămânând loc pentru identificarea altor factori genetici sau ai gazdei, care ar putea explica în totalitate aceste diferențe [9].

O analiză complexă a factorilor predictivi de răspuns la SOC în infecția cronică VHC stratifică factorii predictivi pentru răspunsul pozitiv în ordinea descrescătoare: genotipul IL 28B rs12979860 forma homozigotă C/C, genotipurile virale 2 și 3, viremie la start < 600.000 UI/ml, grupul etnic caucazian, rezistența la insulină normală, stadiul fibrozei nesemnificativ (METAVIR F0-1), sexul feminin și vârsta de achiziționare a infecției sub 40 de ani [5]. Astfel, determinarea genotipului IL 28B ar trebui integrată printre

variabilele răspunsului la dubla terapie PegIFN/RBV. La pacienții caucazieni, care au în medie 40% genotip C/C, acesta este un factor predictiv pentru RVS la 75% dintre cazuri.

Polimorfismul genetic IL 28B se corelează cu cinetica virală sub tratament. Pacienții cu polimorfismul favorabil C/C prezintă o scădere remarcabilă a viremiei încă din prima fază, reflectând efectul de blocare a producției de virioni de către Peg IFN și aceeași tendință, deși mai puțin exprimată în faza a doua (zilele 7-28), care indică clearance-ul hepatocitelor infectate, față de genotipurile C/T și T/T [27]. Pentru polimorfismul C/C toți parametrii de cinetică virală: răspunsul virusologic rapid (RVR: ARN-VHC negativ la 4 săptămâni), răspunsul virusologic precoce complet (EVR: ARN-VHC negativ la 12 săptămâni) și RVS sunt net superioare față de celelalte genotipuri [28].

Totuși, dacă polimorfismul IL 28B reprezintă cel mai puternic factor predictiv pentru RVS, RVR reprezintă cel mai puternic factor predictiv în cursul tratamentului. Pentru pacienții care obțin RVR, importanța polimorfismelor IL 28B se reduce, rata de RVS fiind înaltă, indiferent de genotip [29]. Cu toate acestea, pacienții care nu obțin RVR, dar aparțin genotipului favorabil IL 28B obțin o rată de RVS de două ori mai mare față de pacienții cu genotipurile nefavorabile. Această constatare pledează pentru introducerea acestei variante genetice în individualizarea tratamentului pentru pacienții care nu se încadrează în criteriile de cinetică virală în cursul tratamentului.

La pacienții cu genotip nefavorabil T/T și cu absența RVR se poate introduce o nouă regulă de stopare, șansa de RVS fiind minimă [30]. Pacienții cu genotip nefavorabil sunt considerați pacienți dificil de tratat, iar decizia terapeutică trebuie luată în contextul celorlalți factori de predicție la start, în principal stadiul fibrozei. În lipsa unor argumente predictive pentru inițierea terapiei se preferă alocarea acestor pacienți pentru tripla terapie, cu asocierea agenților antivirali direcți (*direct acting agents: DAA*).

Posibilitatea previzionării răspunsului terapeutic prin determinări genetice și monitorizarea cineticii virale reprezintă o treaptă importantă spre tratamentul personalizat. Pacienții cu profil genetic favorabil (IL 28B C/C) și RVR pot beneficia de reducerea duratei terapiei antivirale (SOC) de la 48 la 24 de săptămâni, în special dacă prezintă și o viremie joasă la start [28].

În prezent există teste comerciale care fac posibilă determinarea polimorfismului IL 28B rs12979860, fără a recurge la secvențare. Pentru facilitarea deciziei clinice s-a conceput un test complex HCV-GenoFibro-Test, care combină mai mulți factori predictivi: genotipul VHC, genotipul IL 28B, FibroTestul, ActiTestul și încărcătura virală cu valoare predictivă înaltă pentru rata de RVS [31].

Polimorfismele IL 28B în infecțiile cu genotipurile VHC non 1

Pentru infecția cu genotipul 4 se semnalează același

tip de asociere cu polimorfismele genetice menționate pentru genotipul 1 [6,21]. În infecțiile cu genotipurile 2 și 3, rezultatele sunt mai puțin concludente, având în vedere rata mare de RVS pentru acești pacienți. Mai mult, genotipul favorabil C/C în infecțiile cu genotipul VHC 2 și 3 este mai frecvent (66,7%), față de infecțiile cu VHC genotipul 1 (39,1%) [32]. S-a remarcat totuși o asociere a genotipului favorabil C/C cu RVR și EVR, dar se apreciază că pentru aceste genotipuri VHC, sensibile la IFN, efectul polimorfismelor IL 28B este mult mai redus față de genotipul 1 [33].

Coinfecțiile VHC-HIV

Pacienții cu coinfecții VHC genotipul 1 / HIV au un comportament similar cu infecția VHC genotip 1 izolată, în funcție de polimorfismele IL 28B. Cinetica virală ARN-VHC are comportament asemănător și rata de RVS [34] este evident mai bună la genotipul favorabil homozigot C/C (79%), față de cei cu genotip nefavorabil (38%),

Polimorfismele IL 28B și transplantul hepatic în infecția VHC

Hepatita recurentă posttransplant este aproape o certitudine, iar evoluția sa este agresivă, cu implicații asupra grefei, conducând la ciroză și reducerea supraviețuirii [35]. Studiile genetice sugerează testarea statusului polimorfismelor IL 28B pentru alocarea grefelor hepatice la pacienții cu infecție VHC. S-a evidențiat că rata de răspuns la terapia antivirală depinde de polimorfismul IL 28B, atât la primitor, cât și la donator. Cele mai bune rate de RVS se obțin în situația în care polimorfismul favorabil IL 28 B C/C este prezent atât la donator cât și la primitor, RVS este intermediar atunci când numai unul prezintă polimorfismul favorabil și rata RVS este neglijabilă dacă cei doi au polimorfisme nefavorabile [36].

Polimorfismele IL 28B și DAA în infecția VHC genotip 1

Adăugarea la SOC (PegIFN/RBV) a unui agent antiviral direct (DAA), reprezentat în momentul de față de un inhibitor de protează: boceprevir sau telaprevir a ridicat rata de răspuns la pacienții naivi genotip 1 VHC de la 44% la 63-75%, iar în cazul recăderilor de la 29% la 69-83% [37].

Analiza retrospectivă a raporturilor dintre polimorfismele IL 28B și răspunsul la tratament în tripla terapie indică rezultate diferite pentru pacienții naivi și cei care au experimentat un tratament anterior. Pentru pacienții naivi, evaluarea statusului genetic IL 28B are importanță pentru identificarea celor care au cea mai mare probabilitate de RVS cu terapia ghidată de răspuns, având posibilitatea scurtării duratei tratamentului în cazul genotipului favorabil, cu beneficii pentru pacient (reducerea reacțiilor adverse) și pentru sistem (scăderea costului tratamentului) [38].

Un avantaj potențial și deloc neglijabil pentru pacienții naivi VHC genotip 1, purtători ai genotipului

IL 28B C/C ar putea fi menținerea dublei terapii (SOC: PegIFN/RBV) la pacienții cu RVR, eliminând asocierea inhibitorilor de protează [38].

Pentru pacienții pretratați genotiparea IL 28B are valoare limitată, majoritatea acestora aparținând genotipurilor nefavorabile C/T sau T/T [37,39]. Decizia de tratament se va lua luând în considerare variabilele cunoscute care influențează rata de RVS.

Bibliografie

1. Alter MJ. Epidemiology of hepatitis C virus infection. *World J Gastroenterol*, 2007; 13:2436-2441.
2. Selvarajah S, Tobler LH, Simmons G, Busch MP. Host genetic basis for hepatitis C virus clearance: a role for blood collection centers. *Curr Opin Hematol*, 2010; 17:550-557.
3. Zeuzem S, Berg T, Moeller B, et al. Expert opinion on the treatment of patients with chronic hepatitis C. *J Viral Hepat*, 2009; 16:75-90.
4. Manolio TA. **Genomewide Association Studies and Assessment of the Risk of Disease**. *N Engl J Med*, 2010; 363:166-176.
5. Clark PJ, Thompson AJ, McHutchison JG. IL28B genomic-based treatment paradigms for patients with chronic hepatitis C infection: the future of personalized HCV therapies. *Am J Gastroenterol*, 2011; 106:38-45.
6. Clark PJ, Thompson AJ. Host genomics and HCV treatment response. *J Gastroenterol Hepatol*, 2012; 27:212-222.
7. Grigorescu M. HCV genotype 1 is almost exclusively present in Romanian patients with chronic hepatitis C. *J Gastrointest Liver Dis*, 2009; 18:45-50.
8. McHutchison JG, Lawitz EJ, Shiffman ML, et al. Peginterferon alfa-2b or alfa-2a with ribavirin for treatment of hepatitis C infection. *N Engl J Med*, 2009; 361:580-593.
9. Ge D, Fellay J, Thompson AJ, et al. Genetic variation in IL28B predicts hepatitis C treatment-induced viral clearance. *Nature*, 2009; 461:399-401.
10. Thomas DL, Thio CL, Martin MP, et al. Genetic variation in IL28B and spontaneous clearance of hepatitis C virus. *Nature*, 2009; 461:798-801.
11. Tanaka Y, Nishida N, Sugiyama M, et al. Genome-wide association of IL28B with response to pegylated interferon-alpha and ribavirin therapy for chronic hepatitis C. *Nat Genet*, 2009; 41:1105-1109.
12. Suppiah V, Moldovan M, Ahlenstiel, et al. IL28B is associated with response to chronic hepatitis C interferon-alpha and ribavirin therapy. *Nature Genetics*, 2009; 41:1100-1104.
13. Rauch A, Kutalik Z, Descombes P, et al. Genetic variation in IL28B is associated with chronic hepatitis C and treatment failure: a genome-wide association study. *Gastroenterology*, 2010; 138:1338-1345.
14. Ank N, Paludan SR. Type III IFNs: new layers of complexity in innate antiviral immunity. *Biofactors*, 2009; 35:82-87.
15. Pestka S, Krause CD, Walter MR. Interferons, interferon-like cytokines, and their receptors. *Immunol Rev*, 2004; 202:8-32.
16. Gad HH, Dellgren C, Hamming OJ, Vends S, Paludan SR, Hartmann R. Interferon-lambda is functionally an interferon but structurally related to the interleukin-10 family. *J Biol Chem*, 2009; 284:20869-20875.
17. Marcello T, Grakoui A, Barba-Spaeth G, et al. Interferons alpha and lambda inhibit hepatitis C virus replication with distinct signal transduction and gene regulation kinetics. *Gastroenterology*, 2006; 131:1887-1898.
18. Chen L, Borozan I, Feld J, et al. Hepatic gene expression discriminates responders and nonresponders in treatment of chronic hepatitis C viral infection. *Gastroenterology*, 2005; 128:1437-1444.
19. Honda M, Sakai A, Yamashita T, et al. Hepatic ISG expression is associated with genetic variation in interleukin 28B and the outcome of IFN therapy for chronic hepatitis C. *Gastroenterology*, 2010; 139:499-509.
20. Balagopal A, Thomas DL, Thio CL. IL28B and the control of hepatitis C virus infection. *Gastroenterology*, 2010; 139:1865-1876.
21. Rauch A, Rohrbach J, Bochud PY. The recent breakthroughs in the understanding of host genomics in hepatitis C. *Eur J Clin Invest*, 2010; 40:950-959.
22. Dill MT, Duong FH, Vogt JE, et al. Interferon-induced gene expression is a stronger predictor of treatment response than IL28B genotype in patients with hepatitis C. *Gastroenterology*, 2011; 140:1021-1031.
23. Tillmann HL, Thompson AJ, Patel K, et al. A polymorphism near IL28B is associated with spontaneous clearance of acute hepatitis C virus and jaundice. *Gastroenterology*, 2010; 139:1586-1592.
24. Urbani S, Amadei B, Fisicaro P, et al. Heterologous T cell immunity in severe hepatitis C virus infection. *J Exp Med*, 2005; 201:675-680.
25. Pearlman BL. **The IL-28 genotype: how it will affect the care of patients with hepatitis C virus infection**. *Curr Gastroenterol Rep*, 2011; 13:78-86.
26. George SL, Bacon BR, Brunt EM, Mihindukulasuriya KL, Hoffmann J, Di Bisceglie AM. Clinical, virologic, histologic, and biochemical outcomes after successful HCV therapy: a 5-year follow-up of 150 patients. *Hepatology*, 2009; 49:729-738.
27. Howell CD, Gorden A, Ryan KA, et al. Single nucleotide polymorphism upstream of interleukin 28B associated with phase 1 and phase 2 of early viral kinetics in patients infected with HCV genotype 1. *J Hepatol*, 2012; 56:557-563.
28. Thompson AJ, Muir AJ, Sulkowski MS, et al. Interleukin-28B polymorphism improves viral kinetics and is the strongest pretreatment predictor of sustained virologic response in genotype 1 hepatitis C virus. *Gastroenterology*, 2010; 139:120-129.
29. Mangia A, Thompson AJ, Santoro R, et al. Limited use of interleukin 28B in the setting of response-guided treatment with detailed on-treatment virological monitoring. *Hepatology*, 2011; 54:772-780.
30. Afdhal NH, McHutchison JG, Zeuzem S, et al. Hepatitis C pharmacogenetics: state of the art in 2010. *Journal Hepatology*, 2011; 53:336-345.
31. Costa JM, Telehin D, Munteanu M, et al. HCV-GenoFibrotest: a combination of viral, liver and genomic (IL28b, ITPA, UGT1A1) biomarkers for predicting treatment response in patients with chronic hepatitis C. *Clin Res Hepatol Gastroenterol*, 2011; 35:204-213.
32. Montes-Cano MA, García-Lozano JR, Abad-Molina C, et al. Interleukin-28B genetic variants and hepatitis virus infection by different viral genotypes. *Hepatology*, 2010; 52:33-37.
33. Sarrazin C, Susser S, Doehring A, et al. Importance of IL28B gene polymorphisms in hepatitis C virus genotype 2 and 3 infected patients. *J Hepatol*, 2011; 54:415-421.
34. Rallón NI, Naggie S, Benito JM, et al. Association of a single

nucleotide polymorphism near the interleukin-28B gene with response to hepatitis C therapy in HIV/hepatitis C virus-coinfected patients. *AIDS*, 2010; 24:23-29.

35. Yilmaz N, Shiffman ML, Stravitz RT, et al. **A prospective** evaluation of fibrosis progression in patients with recurrent hepatitis C virus following liver transplantation. *Liver Transpl*, 2007; 13:975-983.

36. Charlton MR, Thompson A, Veldt BJ, et al. Interleukin-28B polymorphisms are associated with histological recurrence and treatment response following liver transplantation in patients with

hepatitis C virus infection. *Hepatology*, 2011; 53:317-324.

37. Ghany MG, Nelson DR, Strader DB, Thomas DL, Seeff LB. An update on treatment of genotype 1 chronic hepatitis C virus infection: 2011 practice guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases. *Hepatology*, 2011; 54:1433-1444.

38. Jensen DM, Pol S. IL28B genetic polymorphism testing in the era of direct acting antivirals therapy for chronic hepatitis C: ten years too late? *Liver Int*, 2012; 32:74-78.

39. Kwo PY. Understanding optimal use and interpretation of assay in HCV. *CCO Hepatitis*, 2011.